



Universidad  
**Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA ACADÉMICO DE ODONTOLOGÍA**

**Tesis**

Actividad inhibitoria de la Stevia rebaudiana y el xilitol sobre las cepas de  
Streptococcus mutans in vitro, Lima – 2025

**Para optar el Título Profesional de**  
Cirujano Dentista

**Presentado por:**

**Autora:** Ecurra Torres, Kelly Samantha


**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7548-6354>

**Asesora:** Mg. Huayllas Paredes, Betzabe

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4525-1092>

**Lima – Perú**

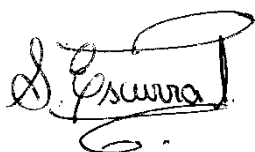
**2025**

 Universidad Norbert Wiener	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSIÓN: 01</b> REVISIÓN: 01	<b>FECHA: 18/11/2023</b>

Yo, Kelly Samantha Ecurra Torres, egresada de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “**ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA STEVIA REBAUDIANA Y EL XILITOL SOBRE LAS CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO, LIMA- 2025**”, Asesorado por la docente Mg. Esp. CD. Betzabe Huayllas Paredes, con N.º DNI 40649521 y código ORCID 0000-0003-4525-1092, tiene un índice de similitud de 12 (DOCE) % con código **ID: oid: 14912:502207714** verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el Turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



Firma de la autora  
 Nombres y apellidos de la egresada  
 Kelly Samantha Ecurra Torres  
 DNI: 71948121



Firma  
 Nombres y apellidos del Asesor  
 Mg. Esp. CD. Betzabe Huayllas Paredes  
 DNI: 40649521

Lima, 28 de octubre del 2025.

**MIEMBROS DEL JURADO**

**Presidente:** Dra. Llerena Meza De Pastor,  
Verónica Janice.

**Secretaria:** Mg. Cabero Manchego, Rosa  
Milagros.

**Vocal:** Mg. CD. Esp. Falcón Seminario  
Patricia.

**Dedicatoria**

Con mucho amor para toda mi familia  
quienes siempre me han acompañado desde  
mis inicios en esta hermosa carrera.

## **Agradecimiento**

Agradezco primero que todo a Dios por brindarme la oportunidad y las armas para salir adelante y a mi asesora el Mg. CD. Betzabe Huayllas Paredes por su paciencia, tiempo, disposición y buen humor para que se lleve a cabo este trabajo de investigación.

## **ÍNDICE GENERAL**

Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento .....	v
Índice general .....	v
Índice de tablas .....	viii
Índice de figuras .....	ix
Resumen .....	x
Abstract.....	xi

Introducción.....	xii
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....</b>	<b>1</b>
1.1 Planteamiento del problema .....	1
1.2 Formulación del problema.....	3
1.2.1 Problema general .....	3
1.2.2 Problema 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.....	6
1.4.3 Práctica .....	6
1.5 Limitaciones de la investigación .....	7
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
2.1 Antecedentes de la investigación.....	9
2.2 Bases teóricas .....	15
2.2.1 Actividad inhibitoria.....	15
2.2.2 <i>Stevia rebaudiana</i> .....	17
2.2.3 Xilitol.....	19
2.2.4 <i>Streptococcus mutans</i> .....	21
2.3 Formulación de hipótesis.....	24
2.3.1 Hipótesis general .....	24
2.3.2 Hipótesis específicas.....	25
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....</b>	<b>28</b>

3.1. Método de la investigación.....	28
3.2. Enfoque de la investigación.....	28
3.3. Tipo de investigación.....	28
3.4. Diseño de la investigación.....	29
3.5. Población, muestra y muestreo.....	29
3.6. Variables y operacionalización.....	33
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	35
3.7.1. Técnica.....	35
3.7.2 Descripción de instrumentos .....	38
3.7.3 Validación.....	39
3.7.4 Confiabilidad .....	39
3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos.....	40
3.9 Aspectos éticos .....	41
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1 Resultados.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.1 Análisis descriptivo de los resultados.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.2 Prueba de hipótesis .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.2 Discusión de resultados .....	51
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>59</b>
ANEXOS .....	66
Anexo 1: Matriz de consistencia .....	64
Anexo 2: Instrumentos.....	66

Anexo 3: Confiabilidad del instrumento .....	667
Anexo 4: Constancia de exoneración .....	669
Anexo 5: Constancia de recolección de datos .....	660
Anexo 6: Certificado de analisis.....	71
Anexo 7: Informe de ensayo.....	66
Anexo 8: Informe de tesis.....	66
Anexo 9:Reporte de Turnitin.....	66
Anexo 10: Evidencia fotografica.....	77

### Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Actividad inhibitoria de las concentraciones de las sustancias de prueba (n=10) frente a S. mutans a las 24 horas de estudio .....	43
--	----

**Tabla 2.** Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk (n=10) de las concentraciones de extracto de Stevia rebaudiana y xilitol frente a S. mutans las 24 horas de estudio **¡Error! Marcador no definido.**

**Tabla 3.** Prueba U de Mann Whitney para evaluar diferencias significativas de la capacidad inhibitoria las sustancias de prueba ..... 45

**Tabla 4.** Base de datos ..... 67

**Tabla 5.** Valores del coeficiente de correlación intraclase y su interpretación ..... 67

**Tabla 6.** Coeficiente de correlación intraclase..... 67

### Índice de figuras

**Figura 1.** Actividad inhibitoria de las concentraciones de las sustancias de prueba (n=10) frente a S. mutans a las 24 horas de estudio ..... 43

## **Resumen**

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025. Se empleó un diseño experimental in vitro de enfoque cuantitativo, utilizando 80 discos de

cartón absorbente distribuidos en grupos: *Stevia* (25%, 50%, 100%), xilitol (25%, 50%, 100%), clorhexidina al 0.12% (control positivo) y agua destilada (control negativo). Los discos, impregnados con las soluciones, se incubaron con cepas de *S. mutans* ATCC 25175, midiendo los halos de inhibición según la escala de Duraffourd (actividad significativa: halo  $\geq 8$  mm). Los resultados demostraron que ni *Stevia* ni xilitol alcanzaron el umbral inhibitorio. Los halos promedio fueron: *Stevia* 25% (5.49 mm), 50% (6.20 mm) y 100% (sin efecto adicional), xilitol 25% (5.49 mm) y 50% (6.01 mm). En contraste, la clorhexidina mostró un halo de 22.51 mm ( $p < 0.05$ ). Además, las comparaciones entre concentraciones de edulcorantes no revelaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), confirmando su ineficacia incluso al 50%. Se concluye que, bajo condiciones in vitro, *Stevia rebaudiana* y xilitol no inhiben el crecimiento de *S. mutans*, independientemente de su concentración (25%-100%). La clorhexidina mantuvo su superioridad, evidenciando que estos edulcorantes no son alternativas viables como agentes antibacterianos para prevenir caries.

**Palabras clave:** *Stevia rebaudiana*, xilitol, *Streptococcus mutans*, actividad antibacteriana, in vitro.

### Abstract

This study aimed to assess the inhibitory effects of *Stevia rebaudiana* and xylitol against *Streptococcus mutans* strains under in vitro conditions, Lima- 2025. A quantitative experimental design was implemented, utilizing 80 sterile filter paper discs

divided into six groups: *Stevia rebaudiana* (25%, 50%, 100%), xylitol (25%, 50%), 0.12% chlorhexidine (positive control), and distilled water (negative control). The discs, impregnated with test solutions, were incubated with *S. mutans* ATCC 25175 cultures, and inhibition zones were quantified using the Duraffourd criterion (significant inhibition:  $\geq 8$  mm). Results indicated that neither *Stevia* nor xylitol achieved clinically relevant inhibition. Mean inhibition zones measured 5.49 mm (25% *Stevia*), 6.20 mm (50% *Stevia*), and showed no enhanced effect at 100%. Xylitol yielded similar results: 5.49 mm (25%) and 6.01 mm (50%). In contrast, chlorhexidine demonstrated robust efficacy, producing a 22.51 mm inhibition zone ( $p < 0.05$ ). Comparative analysis between sweetener concentrations revealed no statistically significant differences ( $p > 0.05$ ), confirming their lack of inhibitory activity even at higher concentrations (50%). In conclusion, *Stevia rebaudiana* and xylitol exhibited no significant antibacterial effects against *S. mutans* in vitro across tested concentrations (25%–100%). Chlorhexidine maintained its superior efficacy, underscoring the inadequacy of these sweeteners as alternative antibacterial agents for caries prevention.

**Keywords:** *Stevia rebaudiana*, xylitol, *Streptococcus mutans*, antibacterial activity, in vitro.

## Introducción

Las enfermedades bucales constituyen un problema de salud pública de alta prevalencia, siendo la caries dental una de las patologías más frecuentes. Esta enfermedad es el resultado de la interacción de múltiples factores, dentro de los cuales la presencia y

proliferación de bacterias como *Streptococcus mutans* desempeña un papel fundamental en la desmineralización del esmalte dental. En este contexto, la búsqueda de agentes naturales con potencial antimicrobiano se ha intensificado, orientándose hacia alternativas que complementen o reemplacen el uso de compuestos sintéticos. Entre estos compuestos destacan la *Stevia rebaudiana* y el xilitol. Por lo que, evaluar comparativamente su actividad inhibitoria in vitro resulta relevante para fundamentar su aplicación en estrategias de prevención de caries, especialmente en poblaciones con limitado acceso a servicios de salud bucal.

El presente informe de tesis se organiza en cinco capítulos. El Capítulo I presenta el planteamiento del problema, la formulación de los objetivos, justificación. El Capítulo II desarrolla el marco teórico, el cual sustenta científicamente las variables del estudio y aborda los antecedentes relacionados con *S. mutans*, la *Stevia rebaudiana* y el xilitol. El Capítulo III presenta el enfoque metodológico, detallando el tipo de estudio, el diseño aplicado y el procedimiento estadístico utilizado para el análisis de datos. El Capítulo IV expone los resultados obtenidos, así como la discusión de los resultados en contraste con la literatura científica. Finalmente, el Capítulo V comprende las conclusiones y recomendaciones derivadas de los hallazgos.

Este estudio busca aportar evidencia científica sobre la efectividad de dos compuestos de origen natural frente a una bacteria clave en la etiología de la caries dental, contribuyendo así al desarrollo de nuevas alternativas para la prevención y promoción de la salud bucal.

## CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

### 1.1 Planteamiento del problema

Históricamente, la caries dental destaca como una de las patologías infecciosas con mayor incidencia a escala global, afectando aproximadamente a 2000 millones de individuos, de acuerdo a lo reportado por el informe más reciente sobre la carga mundial de morbilidad (1). En el Perú, es reconocida como una de las principales causales de morbilidad en diversas etapas de la vida, posicionándose como una problemática de salud pública de alta prioridad (2).

La etiología de esta condición es compleja y responde a múltiples factores interrelacionados, incluyendo características del huésped, hábitos dietéticos, niveles de higiene bucal y la interacción sostenida entre estos elementos a lo largo del tiempo (3). Sin embargo, entre los agentes causales más relevantes se encuentran los microorganismos bucales, otras patologías estomatológicas como la enfermedad periodontal y el cáncer oral están estrechamente relacionadas con la presencia de microorganismos bucales. Esta conexión se debe a la formación de diversas comunidades microbianas en la superficie del diente, conocidas como biopelícula de placa, por microorganismos bucales (4).

Durante la aparición y progresión de la caries dental, ocurren alteraciones notables en la estructura y composición microbiana de la biopelícula dental, de las cuales, *Streptococcus mutans*, es una bacteria clave en la formación de biopelículas patógenas que dan inicio al proceso cariogénico (5). El papel del *S. mutans* en la desmineralización dental es particularmente preocupante. Este microorganismo metaboliza carbohidratos, en especial la sacarosa, para producir ácidos que erosionan el

esmalte dental y generan polisacáridos extracelulares que fortalecen la adherencia de la biopelícula bacteriana en las superficies dentales (6).

Ante este panorama, se han buscado alternativas a los métodos convencionales de prevención, como los edulcorantes naturales, que no solo sustituyen al azúcar, sino que también poseen propiedades antimicrobianas (7). Los estudios sugieren que el consumo de sustitutos de azúcar no fermentables puede afectar el metabolismo de los microorganismos, con la consiguiente reducción de la acidez en la boca (8).

Dos de los más estudiados son el xilitol y la *Stevia rebaudiana*. El xilitol, un edulcorante no fermentable por bacterias, puede reducir la formación de biopelículas y la producción de ácidos, contribuyendo a la prevención de caries (9). Por otro lado, la *Stevia rebaudiana*, originaria de Sudamérica y ampliamente cultivada en Perú, se ha destacado por su capacidad bactericida y anticariogénica, inhibiendo la formación de polisacáridos extracelulares y reduciendo la adherencia bacteriana (10).

A pesar de las evidencias preliminares sobre los beneficios de estos compuestos, la mayoría se ha enfocado en modelos de biopelículas de una sola especie, omitiendo las interacciones entre diferentes cepas, que pueden influir en la eficacia anticariogénica de estas sustancias. Además, no se ha explorado suficientemente cómo la presencia de sacarosa en la dieta afecta el desempeño antimicrobiano de estos edulcorantes y la investigación sobre el efecto de sustitutos de azúcar no fermentables en el metabolismo de los microorganismos cariogénicos y los valores de pH resultantes es limitada, por lo que es necesario generar más estudios sobre estos compuestos (11).

Por ello, el presente estudio busca conocer la actividad inhibitoria de los edulcorantes naturales ya mencionados, la *Stevia rebaudiana* y el Xilitol frente al *Streptococcus mutans*.

## 1.2 Formulación del problema

### 1.2.1 Problema general

¿Cuál es la actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?

### 1.2.2 Problema específicos

- ¿Cuál es la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25%, 50% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Cuál es la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 25%, 50% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?

- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025?

### **1.3 Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Determinar la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25%, 50% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Determinar la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 25%, 50% y 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.
- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

## **1.4 Justificación de la investigación**

### **1.4.1 Teórica**

Esta investigación tuvo como propósito ampliar el conocimiento científico disponible sobre el tema, mediante la generación de datos experimentales que permitan evaluar la capacidad inhibitoria de *Stevia rebaudiana* y xilitol frente a cepas de

*Streptococcus mutans* en condiciones *in vitro*. Este enfoque no solo permite comprender mejor su acción antimicrobiana, sino que también contribuye a llenar un vacío importante en la literatura científica, especialmente en lo que respecta al uso de *Stevia rebaudiana*, que ha sido menos estudiada en comparación con el xilitol. Al generar información nueva y relevante, este trabajo amplía el entendimiento de los compuestos naturales como herramientas potenciales para la prevención de enfermedades bucales, lo que contribuye al fortalecimiento del marco teórico indispensable para el desarrollo de futuras investigaciones y posibles aplicaciones clínicas en el ámbito de la salud bucal.

#### **1.4.2 Metodológica**

Esta investigación se desarrolló bajo un enfoque experimental riguroso, empleando técnicas microbiológicas previamente validadas para garantizar la fiabilidad de los resultados, para evaluar la actividad inhibitoria de ambos compuestos sobre cepas específicas de *Streptococcus mutans*. La comparación directa entre *Stevia rebaudiana* y xilitol permitió obtener datos cuantitativos y reproducibles sobre su efectividad, contribuyendo a la estandarización de metodologías en investigaciones relacionadas con agentes antimicrobianos naturales y su potencial aplicación en odontología.

#### **1.4.3 Práctica**

La identificación de alternativas naturales y accesibles para el control de *Streptococcus mutans* puede ofrecer herramientas efectivas para prevenir y manejar esta enfermedad. Este estudio tiene implicancias prácticas directas, ya que los resultados pueden guiar el desarrollo de nuevos productos de higiene bucal basados en *Stevia rebaudiana* y xilitol, los cuales podrían integrarse en estrategias de prevención de caries. Además, al ser compuestos naturales, su uso podría minimizar los riesgos de efectos

adversos asociados a otros agentes antimicrobianos convencionales, promoviendo opciones más seguras y sostenibles para la salud bucal.

## **1.5 Delimitaciones de la investigación**

### **Temporal**

El estudio fue ejecutado durante el año 2025, comprendiendo desde la fase de planificación inicial hasta la elaboración de conclusiones. El periodo total fue de seis meses, distribuidos en etapas específicas que incluyeron la obtención de cepas bacterianas, la ejecución de pruebas *in vitro*, el procesamiento estadístico de los datos y la redacción del informe final.

### **Espacial**

El estudio se llevó a cabo en un laboratorio de microbiología ubicado en Lima, Perú, el cual contaba con las condiciones técnicas necesarias para el cultivo y análisis de *Streptococcus mutans*. Este entorno controlado permitió asegurar la precisión experimental y la reproducibilidad de los resultados, siendo idóneo para evaluar los efectos antimicrobianos del extracto de *Stevia rebaudiana* y del xilitol en un modelo *in vitro*.

### **Recursos**

La investigación se delimitó al uso de recursos disponibles tanto materiales como humanos. Se emplearon cepas de *Streptococcus mutans*, extracto de *Stevia rebaudiana*, xilitol, medios de cultivo, equipos especializados como autoclaves, incubadoras y espectrofotómetros, además de insumos complementarios como pipetas, placas de Petri y reactivos químicos. El equipo humano estuvo conformado por profesionales con

formación en microbiología y experiencia en análisis experimental, junto con el apoyo de personal técnico de laboratorio. El financiamiento fue cubierto mediante recursos propios.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

**Nied et al.** (12), en Brasil, durante el año 2023, se planteó como objetivo “*Analizar el efecto de la infusión de Stevia rebaudiana Bertoni sobre la composición microbiana y bioquímica de las biopelículas, así como su impacto en la desmineralización del esmalte dental*”. El diseño metodológico fue de tipo cruzado con la participación de once individuos que utilizaron un aparato intraoral palatino con cuatro placas de esmalte bovino durante tres fases de siete días cada una. A las placas se les aplicó solución de sacarosa al 20% ocho veces al día, y adicionalmente, se les administró infusión de cloruro de sodio (NaCl) al 0,9%, clorhexidina (CHX) al 0,12% o infusión de Stevia al 5% dos veces al día. Los resultados mostraron que el tratamiento con CHX presentó un porcentaje de pérdida de dureza superficial significativamente menor en comparación con NaCl ( $p < 0,05$ ), mientras que no se encontraron diferencias significativas entre Stevia y CHX, ni entre Stevia y NaCl. Asimismo, no se identificaron diferencias relevantes en los recuentos microbianos ni en la concentración de polisacáridos entre los tratamientos evaluados. Se concluyó que, en condiciones altamente cariogénicas con exposición frecuente a sacarosa y sin intervención mecánica, la infusión de Stevia no logró modificar la composición microbiana ni la concentración de polisacáridos extracelulares en las biopelículas formadas.

**Mamani** (13), en Perú, durante el año 2023, llevó a cabo un estudio en Lima con el propósito de analizar la eficacia de agentes antimicrobianos frente a cepas de *Streptococcus mutans* “*Evaluar in vitro el efecto antibacterial de Stevia rebaudiana, Camellia sinensis y Origanum vulgare frente a cepas de Streptococcus mutans*”. La metodología fue experimental in vitro, analítica y transversal, utilizando placas Petri con

medios de cultivo inoculados con *S. mutans*. Se aplicaron extractos de las tres plantas en concentraciones específicas, y se evaluó el crecimiento bacteriano mediante el método de difusión en agar. Se incluyeron controles positivos con clorhexidina al 0.12% y controles negativos con agua destilada. Los resultados demostraron que *Stevia rebaudiana* no presentó halos de inhibición (0 mm), mientras que *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* sí mostraron actividad antibacteriana significativa. El estudio concluyó que *Stevia rebaudiana* no fue efectiva frente a *S. mutans* en las condiciones evaluadas, lo que plantea la necesidad de explorar otras formas de extracción o combinaciones terapéuticas.

**Apaza et al.** (14), en 2022, en Uruguay, realizaron una investigación orientada a “*Evaluar, en condiciones de laboratorio, los efectos del xilitol sobre el crecimiento bacteriano de Streptococcus sanguinis (ATCC 10556)*”. Se elaboró un diseño metodológico cuasiexperimental in vitro, longitudinal, prospectivo, con una muestra de 105 repeticiones de cepas distribuidas en 15 placas Petri, las cuales se encontraban en seis grupos: cuatro grupos experimentales correspondientes a distintas concentraciones de xilitol (1M, 0,75M, 0,50M y 0,25M), un control negativo (agua destilada) y un control positivo (clorhexidina). Los resultados indicaron que las diferentes concentraciones de xilitol produjeron halos de inhibición que oscilaron entre 9,89 y 12,89 mm tras 24 horas, y entre 10,85 y 13,45 mm luego de 48 horas. Se concluyó que el xilitol, en distintas concentraciones, inhibe el crecimiento de *Streptococcus sanguinis* y que este efecto inhibitorio se incrementa con concentraciones más altas y mayor tiempo de exposición.

**Gamboa et al.** (15), en 2022, desarrollaron un estudio en Colombia con la finalidad de “*Explorar la actividad antimicrobiana de extractos obtenidos de hojas de Stevia rebaudiana Bertoni frente a una diversidad de microorganismos*”. La metodología fue experimental in vitro, la actividad antimicrobiana de estos tres extractos se evaluó mediante el método de difusión en pozos, utilizando una muestra de 30 aislamientos

clínicos de *S. mutans* y las cepas de referencia *S. mutans* ATCC 25175 y *S. mutans* ATCC 31989. Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para el extracto de hexano se ubicaron entre 15-30 mg/ml, mientras que para los extractos de acetato de etilo y cloroformo oscilaron entre 60-120 mg/ml. Los halos de inhibición observados en las CMI fueron variables, con diámetros que fluctuaron entre 10 y 11,3 mm. El estudio concluyó que el extracto de hexano presentó la mayor actividad antibacteriana, con CMI de 15 mg/ml en seis cepas y de 30 mg/ml en los 26 restantes. Además, se evidenció que la combinación del extracto de hexano con amoxicilina incrementó significativamente su actividad antimicrobiana en comparación con el uso individual del extracto.

**Díaz y Mendoza** (10), en el año 2021, desarrollaron otro estudio en Lima con el objetivo de “*Contrastar el efecto de la Stevia rebaudiana en concentraciones de 25 y 50 mcg sobre la proliferación de Streptococcus mutans*”. Esta investigación, de enfoque cuantitativo, experimental in vitro, evaluó dos tipos de edulcorantes, "Stevita" y "Stevia Vía". Se utilizaron 12 muestras para cada concentración y el grupo control incluyó clorhexidina al 2%. Los hallazgos indicaron que las muestras tratadas con "Stevia Vía" presentaron mayores halos de inhibición a concentraciones de 25 y 50 mcg, con medias de 11.6 y 12 mm, respectivamente, en comparación con "Stevita", que mostró menores niveles de inhibición bacteriana. Este efecto fue estadísticamente significativo con un valor  $p=0.01$ . Sin embargo, aunque "Stevia Vía" demostró un mayor efecto inhibitorio frente al desarrollo de *S. mutans*, se destacó que "Stevita" no redujo de manera sustancial el factor cariogénico de la bacteria en estudio. En conclusión, el efecto inhibitorio observado en las concentraciones de "Stevia Vía" podría posicionarlo como un potencial agente no cariogénico, mientras que "Stevita" mostró un impacto limitado sobre el crecimiento bacteriano.

**Quispe** (16), en el 2021 desarrolló una investigación en Trujillo con el objetivo de “*Contrastar el efecto antibacteriano entre una solución elaborada a partir de hojas de Stevia rebaudiana y una de clorhexidina al 0.12% frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175*”. Se utilizó una metodología experimental, transversal, prospectiva y analítica, en un tamaño poblacional de cepas incubadas en un medio de cultivo. Se prepararon soluciones con extracto de Stevia rebaudiana en concentraciones del 10%, 20% y 40%, además de la clorhexidina al 0.12%. La actividad antibacteriana se evaluó en términos de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml), y para cada concentración se realizaron 13 ensayos. Los resultados mostraron que la solución de clorhexidina al 0.12% mostró la mayor actividad antibacteriana, con un promedio de  $1.15E+05$  UFC/ml. Le siguieron el gel de Stevia rebaudiana al 40% con  $3.71E+05$  UFC/ml, al 20% con  $2.92E+06$  UFC/ml y al 10% con  $1.97E+07$  UFC/ml. Se concluyó que, la solución de clorhexidina al 0.12% mostró una mayor eficacia antibacteriana en contraste con las soluciones de hojas de Stevia rebaudiana, destacando su superioridad en la inhibición de la proliferación de Streptococcus mutans.

**Pairazamán y Ríos** (17), en el año 2020, en Trujillo, propusieron “*Analizar el efecto in vitro del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre dos factores clave de virulencia cariogénica de Streptococcus mutans ATCC 25175*”. El estudio fue experimental in vitro, analítico, evaluó diferentes concentraciones del extracto etanólico al 70° para determinar su influencia en el potencial acidogénico, midiendo los cambios de pH antes y después de la incubación, así como en el desarrollo de polisacáridos insolubles. Los resultados mostraron que todas las concentraciones evaluadas tuvieron un efecto de inhibición sobre los dos factores de virulencia. En cuanto al potencial acidogénico, la concentración de 1,07% fue menos efectiva que los resultados comparativos indicaron que las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % fueron más efectivas que las de 5 % y 10 %. En

particular, la concentración del 5 % mostró menor actividad inhibitoria que las de 50 % y 75 %, mientras que la del 10 % tuvo un impacto inferior al observado con la de 75 %. Se concluyó que el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* posee capacidad inhibitoria in vitro sobre el potencial acidogénico y la síntesis de polisacáridos extracelulares insolubles en *Streptococcus mutans*, evidenciando su potencial como agente en la prevención de la caries dental.

**Escobar et al.** (18), en 2020, en Estados Unidos, propusieron “*Evaluar los efectos de diversas concentraciones de Stevia rebaudiana Bertoni (0–400 mg/ml) sobre el crecimiento bacteriano, la formación de biopelículas, la viabilidad, la actividad metabólica y el pH de Streptococcus mutans UA159 durante un periodo de 72 horas*”. La metodología fue de experimental in vitro, analítico y prospectivo, con una solución madre consistió en caldo de soja tripsínica (TSB) suplementado con 1% de sacarosa (TSBS) y 4 g de *Stevia*. En cuanto a los resultados, se observó crecimiento bacteriano visible en todas las concentraciones de *Stevia*, pero se detectaron disminuciones estadísticamente significativas en el crecimiento total con las concentraciones de 25 ( $p = 0.0328$ ), 50 ( $p = 0.0012$ ), 100 ( $p < 0.0001$ ), 200 ( $p < 0.0001$ ) y 400 ( $p < 0.0001$ ) mg/ml de *Stevia* en comparación con el control sin *Stevia*. La formación de biopelículas también disminuyó significativamente con concentraciones superiores a 3.13 mg/ml, siendo la concentración mínima inhibitoria de biopelícula de 6.25 mg/ml. En cuanto a la viabilidad bacteriana, no se observó erradicación completa con ninguna de las diluciones de *Stevia*. Además, no se identificaron zonas de inhibición en el test de difusión en agar con las concentraciones más altas de *Stevia* (100, 200 y 400 mg/ml). En conclusión, debido a su capacidad para reducir la formación de biopelículas y la producción de ácido, la *Stevia* puede considerarse un edulcorante no cariogénico.

**Kianbakht et al.** (19), en 2020, en Irán, plantearon “*Evaluar los efectos antibacterianos del xilitol y del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre el biofilm oral*”. Se emplearon un total de 96 discos acrílicos divididos en dos grupos principales, los cuales se inocularon con *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, respectivamente. Cada grupo se subdividió en seis subgrupos: un control positivo y cinco subgrupos experimentales, en los que los discos fueron sumergidos en soluciones de xilitol al 1% o 3%, *S. rebaudiana* a concentraciones de 2 o 4 mg/mL, o una combinación de xilitol al 3% con *S. rebaudiana* a 4 mg/mL. En los resultados, el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas entre los subgrupos en los grupos de *S. mutans* ( $p = 0.03$ ) y *S. sobrinus* ( $p = 0.01$ ). En el grupo de *S. mutans*, el promedio logarítmico del recuento de colonias en el subgrupo control positivo fue de 6.75, mientras que este valor fue significativamente menor en los subgrupos con *S. rebaudiana* a 2 mg/mL (5.81) y 4 mg/mL (5.92), según la prueba post hoc de Dunnett ( $p = 0.01$  y  $p = 0.04$ , respectivamente). Los otros tres subgrupos no presentaron diferencias significativas. En el grupo de *S. sobrinus*, los cinco subgrupos experimentales mostraron recuentos de colonias significativamente más bajos en comparación con el grupo control positivo ( $p < 0.05$ ). En conclusión, el extracto de *Stevia rebaudiana* demostró ser más efectivo que el xilitol contra el biofilm dental, destacando su potencial como agente antibacteriano.

**Shinde y Winnier** (20), en 2020 llevaron a cabo un estudio en India, cuyo objetivo fue “*Evaluar la eficacia de chicles a base de stevia y xilitol en la reducción del recuento de Streptococcus mutans presente en la saliva*”. El estudio fue un ensayo clínico aleatorizado, triple ciego y con diseño cruzado, con veinte participantes. Antes de iniciar el ensayo, se recolectaron muestras de saliva no estimulada. Posteriormente, los participantes fueron divididos en dos grupos: uno recibió chicles de stevia y el otro, de

xilitol. Las muestras de saliva se recolectaron nuevamente a los 15 minutos y a la hora después de consumir los chicles, utilizando el medio selectivo TYCSB para determinar la cantidad de *S. mutans*. Los resultados mostraron una reducción significativa del recuento de *S. mutans* en ambos grupos desde el inicio hasta los 15 minutos, y desde los 15 minutos hasta la hora, tanto en el diseño inicial como en el cruzado. En el grupo de stevia, la reducción desde el inicio hasta la hora tuvo una significancia estadística de  $p > 0.009$ , mientras que en el grupo de xilitol fue  $p > 0.005$ . Aunque ambos chicles demostraron ser efectivos para reducir *S. mutans*, no se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos en los distintos intervalos de tiempo. En conclusión, los chicles que contienen stevia demostraron ser igualmente efectivos que aquellos con xilitol en la disminución del recuento de *Streptococcus mutans* en la saliva, lo que evidencia su potencial como una alternativa para la salud bucal.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Actividad inhibitoria**

Es la capacidad de una sustancia para reducir o detener el crecimiento de microorganismos. Este fenómeno es fundamental en el ámbito microbiológico, especialmente para el desarrollo de estrategias de control y prevención de infecciones bacterianas (21). La evaluación de la actividad inhibitoria es un área de interés creciente, tanto en el estudio de antimicrobianos convencionales como en la exploración de alternativas naturales o sintéticas (22).

El crecimiento bacteriano es un proceso que implica la reproducción, proliferación y formación de colonias en medios específicos. Este crecimiento puede ser modificado o controlado por agentes inhibitorios, que actúan

interfiriendo en mecanismos esenciales para la supervivencia del microorganismo, como la síntesis de proteínas, la integridad de la membrana celular, o la replicación del ADN. En este contexto, la identificación de agentes inhibitorios eficaces es esencial para combatir bacterias patógenas (23).

Existen diferentes metodologías para la evaluación de la actividad antimicrobiana de una sustancia. Entre los más empleados destacan los métodos que se basan en la difusión en agar, que permiten medir la capacidad de un agente para inhibir el desarrollo microbiano a través de la aparición de halos de inhibición alrededor de los puntos de aplicación (24).

El método de orificio sobre agar, implica la creación de cavidades circulares en la superficie de un medio de cultivo sólido utilizando un barrenador estéril. Estas cavidades se rellenan con la sustancia en estudio, y posteriormente se incuban las placas a una temperatura y tiempo adecuados, generalmente a 37°C durante 24 horas. La efectividad de la sustancia se determina midiendo el diámetro de las zonas de inhibición, que indican la ausencia de crecimiento bacteriano alrededor del orificio (25).

Por otra parte, el método de discos sensitivos utiliza discos de papel filtro estériles se impregnan con la sustancia a evaluar y luego se colocan sobre el medio de cultivo inoculado con la bacteria objetivo. Al igual que en el método de orificio, las placas se incuban y se mide el diámetro de los halos de inhibición como indicador de la eficacia antimicrobiana. Este método, estandarizado bajo la técnica de Kirby-Bauer, es ampliamente utilizado debido a su simplicidad y reproducibilidad (25).

Cabe resaltar que el resultado de la actividad inhibitoria puede variar dependiendo de factores como la concentración de la sustancia, el cual es parámetro clave para determinar la potencia del agente; asimismo, otro factor que destaca es el tipo de microorganismo, ya que la sensibilidad de las bacterias varía según su estructura celular, metabolismo y mecanismos de resistencia. Por ejemplo, los grampositivos suelen mostrar diferencias significativas en comparación con gramnegativos o levaduras. Adicionalmente, las condiciones experimentales, incluyendo parámetros como el pH, la temperatura de incubación y la composición del medio de cultivo pueden influir en los resultados (26).

La evaluación de la actividad inhibitoria incluye tanto análisis cualitativos como cuantitativos. Los diámetros de los halos de inhibición se consideran un indicador cualitativo de la capacidad antimicrobiana. Por otro lado, el cálculo de las concentraciones mínimas inhibitorias, permite una medición más precisa de la concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano, lo que proporciona información crucial para la comparación entre diferentes agentes (24).

### **2.2.2 *Stevia rebaudiana***

La *Stevia rebaudiana* es una planta originaria de América del Sur, específicamente de Brasil y Paraguay, donde crece en las montañas de Amambay. Esta región, situada entre el sur de Brasil y el norte de Paraguay, es habitada por los indígenas guaraníes, quienes desde tiempos remotos utilizaban la *Stevia* como endulzante natural y planta medicinal, denominándola "hierba dulce" (27). En 1899, el botánico suizo Moisés Santiago Bertoni describió por primera vez las propiedades edulcorantes de la planta, registrándola científicamente como

*Eupatorium rebaudianum*. Posteriormente, en 1905, renombró la planta como *Stevia rebaudiana Bertoni*, en honor a su descubridor. Esta especie pertenece a la familia de las Asteráceas. En 1931, químicos franceses lograron aislar los componentes responsables del sabor dulce característico de la especie (28).

Esta planta, destaca por su adaptabilidad, ya que puede cultivarse en diversos climas, desde templados hasta cálidos. Actualmente, el cultivo a gran escala de esta especie se realiza en regiones de Asia, Centroamérica y Sudamérica (29). La planta puede alcanzar alturas de hasta 90 cm, con hojas pequeñas que miden entre 3 y 5 cm de largo y entre 1 y 1,5 cm de ancho. Sus flores, de color blanco, están dispuestas en racimos y pueden ser de tipo terminal o axilar. Las hojas, de forma lanceolada u oblanceolada, emergen directamente del tallo. Dentro del género *Stevia*, que cuenta con aproximadamente 154 especies, la *Stevia rebaudiana Bertoni* es una de las pocas que produce glucósidos de esteviol (30).

La *Stevia* contiene más de 30 glucósidos de esteviol, compuestos principalmente por un carbohidrato y un componente no carbohidrato. Entre los glucósidos más relevantes se encuentran el esteviósido, el esteviol, el esteviolbiosido y los rebaudiósidos (A, B, C, D, E, F), así como el dulcósido A. De estos, el esteviósido y el rebaudiósido A son los más abundantes y funcionales. El esteviósido, aislado por primera vez en 1931, es un glucósido diterpénico compuesto por tres moléculas de glucosa y una fracción de glucona denominada esteviol. Su contenido en las hojas varía entre un 4 % y un 13 % del total de glucósidos. Por su parte, el rebaudiósido A, cuya concentración oscila entre un 2,3 % y un 3,8 %, es de 180 a 400 veces más dulce que el azúcar (31).

Además, la composición bioquímica de la planta varía según la región geográfica donde crezca. Las hojas contienen compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, así como ácidos grasos esenciales (palmítico, oleico, linoleico y linolénico). También destacan vitaminas como la C y B2, ácido fólico, y minerales como zinc, hierro, calcio, potasio y sodio. El contenido de agua en las hojas oscila entre el 80 % y el 85 %, y estas también contienen proteínas, fibra, aminoácidos y lípidos, además de  $\beta$ -caroteno, magnesio, fósforo y cobalto, entre otros elementos (32).

La *Stevia rebaudiana* posee múltiples beneficios que la posicionan como un importante recurso natural. Entre sus propiedades más destacadas se encuentra su capacidad para actuar como un sustituto de la sacarosa, reduciendo el riesgo de caries dental. Asimismo, se le han atribuido propiedades farmacológicas, incluyendo actividades antibacterianas, antioxidantes, antiparasitarias, antivirales, antiinflamatorias y antiproliferativas (33).

Finalmente, investigaciones han señalado que los glucósidos presentes en la *Stevia* contribuyen a la regulación del colesterol, siendo potencialmente útiles en el tratamiento de afecciones como la aterosclerosis. Estas características hacen de la *Stevia rebaudiana* un recurso con amplias aplicaciones tanto en la industria de los alimentos, como en la farmacéutica (34).

### **2.2.3 Xilitol**

El xilitol, conocido también como "azúcar de abedul", deriva su nombre del término griego *xylon*, que significa "madera", y del sufijo *-ol*, que hace referencia a su estructura molecular como polialcohol. Su descubrimiento se remonta al siglo

XIX en Alemania, específicamente en la década de 1890, cuando el químico Emil Fischer, mientras estudiaba virutas de haya, identificó este compuesto novedoso al que denominó xilitol. Publicó su hallazgo en 1891, y en 1902 recibió el Premio Nobel de Química por su extensa contribución al conocimiento químico. Sin embargo, durante las primeras décadas tras su descubrimiento, el xilitol no despertó mayor interés. Fue el Dr. Oscar Touster, en Nashville, Tennessee (EE.UU.), quien, al evidenciar su presencia en el metabolismo humano, impulsó nuevas líneas de investigación sobre sus funciones y beneficios (35).

El xilitol es un polialcohol de cinco átomos de carbono presente en frutas y verduras como fresas, ciruelas, arándanos, frambuesas, maíz y abedul, siendo este último su principal fuente de extracción. Su sabor es similar al de la sacarosa; sin embargo, al disolverse en la saliva, genera una sensación de frescura debido a sus propiedades endotérmicas, que absorben calor de manera similar al mentol. Este compuesto destaca por sus propiedades organolépticas, como su olor, sabor, aroma y color, sin comprometer su dulzura. Además, tiene un contenido calórico significativamente inferior al del azúcar convencional (2.4 Kcal/g frente a 4.0 Kcal/g), y su metabolismo independiente de la insulina lo convierte en una opción segura para personas diabéticas (36).

El xilitol puede obtenerse de forma natural en pequeñas concentraciones en frutas y verduras, así como en el metabolismo humano. Sin embargo, su producción a escala industrial se lleva a cabo principalmente mediante hidrogenación catalítica, un proceso que utiliza catalizadores metálicos, como el níquel Raney, para purificar xilosa, obteniendo como producto final el xilitol. Otra técnica moderna es la biotecnológica, que emplea levaduras genéticamente modificadas, como *Saccharomyces cerevisiae* o *Candida sp*, en procesos de

fermentación con xilosa como sustrato. Este método se considera una alternativa sostenible. Asimismo, el maíz y la corteza de abedul son fuentes relevantes de obtención, siendo esta última la más económica y, por ende, preferida por los fabricantes (37).

En el campo odontológico, el xilitol se emplea como edulcorante natural para mejorar la salud bucal, siendo efectivo en la prevención de caries al reducir el desarrollo de placa dental y la adherencia de bacterias. Inhibe la desmineralización del esmalte al disminuir la producción de ácido láctico, destacando su acción contra *Streptococcus mutans*. Se encuentra en diversas presentaciones, como gomas de mascar, pastillas, tabletas masticables, dentífricos y enjuagues bucales. Estudios han demostrado que el consumo de 4 a 10 gramos diarios, dividido en 3 a 7 tomas, es efectivo para prevenir la caries. Además, el uso regular de xilitol reduce la transferencia de *Streptococcus mutans* de madres a hijos, mitigando una fuente significativa de colonización bacteriana en niños (38).

#### **2.2.4 *Streptococcus mutans***

*Streptococcus mutans* es una bacteria Gram-positiva y es un patógeno comensal que se encuentra en la cavidad oral humana, considerado como el principal agente etiológico asociado con la patogénesis de la caries dental. Es la especie pionera en la formación de placa y los polisacáridos encontrados en la matriz del biofilm son reconocidos como los factores de virulencia esenciales asociados con la caries (39).

En 1924, Clarke logró aislar un microorganismo proveniente de lesiones cariosas y lo denominó *Streptococcus mutans*, ya que creyó que las células ovaladas que observaba eran variantes mutantes de otros estreptococos. Fue recién hacia finales de la década de 1950 cuando *Streptococcus mutans* comenzó a captar mayor interés por parte de la comunidad científica. Para mediados de los años 60, diversos estudios realizados en entornos clínicos y en modelos animales lo identificaron como un microorganismo determinante en la etiología de la caries dental. Su hábitat natural corresponde a la cavidad oral humana, específicamente a la placa dental, una biopelícula formada por múltiples especies bacterianas que se adhieren a las superficies dentarias (40).

Se reconoce ampliamente que el potencial de *S. mutans* para causar caries se debe a tres características principales. Uno de los principales mecanismos que explican la virulencia de *Streptococcus mutans* es su capacidad para sintetizar elevados volúmenes de glucanos extracelulares a partir de la sacarosa. Esta propiedad favorece su adhesión estable a las superficies dentarias y contribuye activamente a la conformación de la matriz polimérica extracelular dentro de la biopelícula. En segundo lugar, su habilidad para procesar una amplia variedad de carbohidratos y convertirlos en ácidos orgánicos, una característica conocida como acidogenicidad. Finalmente, su capacidad para adaptarse y sobrevivir en condiciones adversas, especialmente en ambientes con un pH bajo, atributo denominado aciduricidad (41).

Si bien el *Streptococcus mutans* no actúa como único agente en la etiopatogenia de la caries dental, múltiples estudios realizados en distintos laboratorios han evidenciado con claridad su capacidad para alterar el microambiente oral. Esta bacteria genera un entorno caracterizado por una elevada

concentración de polisacáridos extracelulares (EPS) y una marcada disminución del pH, condiciones que favorecen la desmineralización del esmalte y la progresión de las lesiones cariosas. Esto crea un ambiente ideal para el crecimiento de otras especies que también son acidogénicas y acidúricas (41).

Las cepas de *S. mutans* se dividen en cuatro grupos serológicos (c, e, f y k) según la estructura del polisacárido ramnosa-glucosa presente en su superficie celular. Aproximadamente el 75 % de las cepas aisladas de la placa dental corresponden al serotipo c, alrededor del 20 % al serotipo e, mientras que el 5 % restante pertenece a los serotipos f o k (42). Si bien durante las últimas cuatro décadas se han empleado métodos bioquímicos y genéticos para estudiar la biología de *S. mutans*, la secuenciación completa del genoma de la cepa UA159 en 2001 marcó un hito significativo. Este avance transformó profundamente la investigación y, en la actualidad, *S. mutans* se considera uno de los patógenos grampositivos más exhaustivamente estudiados (43).

*S. mutans*, como bacteria productora de ácido láctico, obtiene energía exclusivamente a través de la glucólisis. Una de sus características más notables es su capacidad para procesar una amplia gama de carbohidratos. Este microorganismo ha desarrollado diversas rutas metabólicas para descomponer la sacarosa y generar ácido (44), además de contar con varias enzimas glicosiltransferasas (Gtfs) que transforman la sacarosa en glucano, un polímero extracelular adhesivo. Este glucano facilita la formación de biopelículas al permitir que las células de *S. mutans* se adhieran tanto a las superficies dentales como a otros microorganismos presentes en la cavidad oral (45).

*Streptococcus mutans* se localiza predominantemente en las biopelículas que se desarrollan sobre las superficies dentarias, conocidas como placa dental. Este microorganismo posee múltiples adhesinas de alta afinidad, lo que le permite adherirse y colonizar dichas superficies incluso en ausencia de sacarosa.

Una de estas adhesinas, compleja en su estructura y multifuncional, facilita la adherencia bacteriana a la película salival que recubre los dientes mediante su interacción con las glicoproteínas receptoras del huésped (41).

Su capacidad para adaptarse rápidamente a variaciones en el microambiente de la placa dental constituye un elemento clave que refuerza su rol como agente etiológico principal en el desarrollo de la caries dental. Los carbohidratos fermentables ingeridos por el huésped sirven como sustrato para *S. mutans* y otras bacterias productoras de ácido láctico, lo que genera ácidos como productos finales que se acumulan dentro de la biopelícula. Para sobrevivir en condiciones de pH bajo, *S. mutans* activa una respuesta de tolerancia ácida, un mecanismo de adaptación tanto transcripcional como fisiológico. Este proceso incluye la activación de rutas que ayudan a regular el pH en el citoplasma y ajustes en la composición de los ácidos grasos de la membrana, lo que protege la maquinaria celular frente al daño causado por el ácido y favorece la supervivencia bacteriana bajo estrés (46).

## **2.3 Formulación de hipótesis**

### **2.3.1 Hipótesis general**

**Ha:** Existe actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho:** No existen actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

### 2.3.2 Hipótesis específicas

**Hi<sup>1</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>1</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>2</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>2</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>3</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>3</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>4</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>4</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>5</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>5</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>6</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>6</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Hi<sup>7</sup>:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho<sup>7</sup>:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Método de la investigación**

El desarrollo del proyecto se basó en el método hipotético-deductivo, permitiendo formular y contrastar hipótesis sustentadas en fundamentos teóricos previos, para luego someterlas a comprobación mediante la observación y experimentación. Este método es ampliamente aplicado en las ciencias naturales y experimentales, ya que permite establecer relaciones causales entre variables y contrastar supuestos (47).

### **3.2. Enfoque de la investigación**

Se adoptó un enfoque cuantitativo, orientado a la recopilación y procesamiento de datos numéricos con el fin de describir, interpretar y predecir fenómenos mediante técnicas estadísticas. Este tipo de investigación busca la objetividad, utilizando mediciones precisas y replicables que permiten validar hipótesis y garantizar resultados reproducibles (48).

En concordancia con este enfoque, se aplicaron métodos numéricos para evaluar la actividad inhibitoria de los compuestos naturales Stevia rebaudiana y xilitol sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, mediante pruebas *in vitro*. Los resultados fueron analizados a partir de mediciones específicas, como los diámetros de las zonas de inhibición, obtenidas en condiciones controladas de laboratorio (48).

### **3.3. Tipo de investigación**

La investigación se enmarcó dentro del tipo básico, cuyo propósito principal fue generar conocimiento teórico sobre un fenómeno biológico específico, sin una aplicación

inmediata. Este tipo de estudio no tiene un propósito inmediato de aplicación práctica, sino que busca contribuir al entendimiento científico de las propiedades antimicrobianas de los compuestos analizados, sentando las bases para futuras investigaciones aplicadas en el ámbito clínico o industrial (49).

### **3.4. Diseño de la investigación**

Se implementó un diseño experimental puro, caracterizado por la manipulación directa de las variables independientes y la evaluación de sus efectos sobre las variables dependientes en un entorno controlado. En este caso, las pruebas se realizaron bajo condiciones *in vitro*, lo que permitió mantener un alto nivel de control sobre los factores experimentales (50).

Además, el estudio fue prospectivo, ya que se realizó en un periodo futuro, con datos recolectados específicamente para este trabajo de investigación, y, es longitudinal porque se evaluó el efecto de los compuestos a lo largo del tiempo, permitiendo observar cambios en las variables dependientes (49).

Finalmente, se clasifica como comparativo porque se contrastó la actividad inhibitoria de *Stevia rebaudiana* y xilitol, así como la comparación con los grupos controles, con el propósito de identificar diferencias significativas en sus efectos antimicrobianos (50).

### **3.5. Población, muestra y muestreo**

#### **Población**

La población se definió como el conjunto total de individuos, objetos o eventos que comparten atributos relevantes para el estudio y sobre los cuales se pretende realizar inferencias válidas (51). En este caso, estuvo constituida por el conjunto de discos de cartón absorbente tratados con diferentes concentraciones de *Stevia rebaudiana* y xilitol, evaluados en su capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* mediante técnicas in vitro. En términos prácticos, esta población estuvo constituida por discos impregnados en soluciones acuosas de *Stevia rebaudiana* al 25% y 50%, así como de xilitol al 25% y 50%, que fueron colocados sobre medios de cultivo adecuados.

#### **Criterios de inclusión**

- Discos de cartón absorbente impregnados de forma uniforme con las concentraciones establecidas de *Stevia rebaudiana* (25%, 50% y 100%) y xilitol (25%, 50% y 100%).
- Discos utilizados en placas Petri que hayan sido adecuadamente inoculadas con cultivos puros de *Streptococcus mutans*.
- Discos evaluados en placas Petri que no presenten contaminación por otros microorganismos tras la incubación.
- Discos manipulados bajo condiciones óptimas de esterilidad y procedimientos de laboratorio microbiológico.

#### **Criterios de exclusión**

- Discos de cartón absorbente con impregnación defectuosa, irregular o que no cumplan con las concentraciones requeridas.
- Discos utilizados en placas Petri contaminadas con microorganismos distintos a *Streptococcus mutans*.

- Discos manipulados de forma incorrecta que comprometan la validez del experimento (caídas, roturas o contaminación).
- Discos evaluados en placas Petri donde no se observe un crecimiento adecuado de *Streptococcus mutans*.

### **Muestra**

La muestra correspondió a un subconjunto representativo de dicha población, seleccionado para llevar a cabo observaciones y mediciones que permitan extrapolar conclusiones al universo total (52).

En este estudio estuvo constituida por un total de 80 discos de cartón absorbente. Estos se dividieron en 10 discos para cada grupo experimental distribuidos de la siguiente manera:

- 10 discos impregnados con *Stevia rebaudiana* al 25%.
- 10 discos impregnados con *Stevia rebaudiana* al 50%.
- 10 discos impregnados con *Stevia rebaudiana* al 100%.
- 10 discos impregnados con xilitol al 25%.
- 10 discos impregnados con xilitol al 50%.
- 10 discos impregnados con xilitol al 100%.

Además, se incluirán grupos control:

- Como control positivo, se utilizaron 10 discos impregnados con clorhexidina al 0.12 %, reconocida por su acción antimicrobiana.
- Para el control negativo, se emplearon 10 discos tratados únicamente con agua destilada, sin agentes activos.

En total, se emplearon 80 discos para la evaluación; cada grupo se sometió a las mismas condiciones de incubación y se evaluará la zona de inhibición en las placas de cultivo con siembra adecuada de *Streptococcus mutans*.

### **Muestreo**

El procedimiento de muestreo fue de tipo no probabilístico, seleccionado por conveniencia o criterio intencional, en función de la accesibilidad y pertinencia de los elementos incluidos. Este enfoque implica seleccionar los discos de cartón absorbente y las concentraciones de los compuestos según los criterios definidos previamente, con base en su accesibilidad y la viabilidad de llevar a cabo las pruebas bajo condiciones de laboratorio controladas. Este tipo de muestreo permite garantizar que los discos sean representativos de los tratamientos y controles establecidos para cumplir con los objetivos del estudio (52).

El proceso de selección incluyó una manipulación cuidadosa de los discos y su impregnación con las soluciones correspondientes para minimizar errores y garantizar la validez de los resultados obtenidos.

### 3.6. Variables y operacionalización

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa
<b>Actividad antibacteriana</b>	Es la capacidad de una sustancia o compuesto para inhibir el crecimiento o eliminar bacterias, impidiendo su proliferación o alterando su estructura y función.	Se mide mediante la formación de halos de inhibición en placas de agar inoculadas con <i>Streptococcus mutans</i> . Los discos impregnados con las sustancias a evaluar ( <i>Stevia rebaudiana</i> y xilitol) se colocan en las placas de Petri, y se incuban a 37 °C durante 24 horas.	Diámetros de halos de Inhibición	Razón	Nula (-): diámetro menor a 8 mm. Sensibilidad límite (+): diámetro entre 8 y 14 mm. Sensibilidad media (++) : diámetro entre 14 y 20 mm. Alta sensibilidad (+++) : diámetro mayor a 20 mm.
<b><i>Stevia rebaudiana</i></b>	Es una planta conocida por sus hojas que contienen compuestos denominados glucósidos de esteviol, que son responsables de su sabor dulce. Posee potencial antimicrobiano debido a sus propiedades fitoquímicas que podrían influir en la inhibición de ciertos patógenos bacterianos.	Se utiliza en forma de extracto etanólico a dos concentraciones: 25%, 50% y 100%. El extracto es impregnado en discos de cartón absorbente, que luego se colocan sobre el agar inoculado con <i>Streptococcus mutans</i> en las placas de Petri.	Extracto etanólico	Nominal	Concentración 25% Concentración 50% Concentración 100%

---

<b>Xilitol</b>	Es un alcohol de azúcar utilizado principalmente como edulcorante en la industria alimentaria y farmacéutica. Además, ha sido objeto de investigación debido a sus propiedades antimicrobianas.	Es utilizado en forma de solución acuosa a concentraciones de 25%, 50% y 100%. Al igual que con <i>Stevia rebaudiana</i> , el xilitol es impregnado en discos de cartón absorbente, que se colocan en las placas de Petri previamente inoculadas con <i>Streptococcus mutans</i> .	Solución acuosa	Nominal	Concentración 25% Concentración 50% Concentración 100%
----------------	---	--	-----------------	---------	--

---

### **3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1. Técnica**

Se aplicó la técnica de observación científica, que consiste en examinar de forma detallada, sistemática y controlada un fenómeno específico; en este caso, el comportamiento de las sustancias en condiciones *in vitro*. Este método permitió registrar, medir y analizar los datos obtenidos de forma rigurosa, para posteriormente discutir los resultados en comparación con la literatura científica existente y formular conclusiones fundamentadas (53).

La observación fue de tipo directa de laboratorio, ya que el investigador tuvo contacto directo con el fenómeno a estudiar y las actividades se llevarán a cabo en un entorno controlado dentro de un laboratorio microbiológico.

#### **Materiales y equipos**

El desarrollo del estudio experimental requirió los siguientes materiales: cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), agar sangre de cordero (Mueller Hinton), cajas de Petri, agua destilada estéril, regla de Vernier, micropipetas, discos de cartón absorbentes, hisopos estériles, pinzas metálicas estériles y los edulcorantes naturales *Stevia rebaudiana* y xilitol. Los equipos empleados incluyeron un baño maría, incubadora, autoclave, centrífuga y balanza analítica.

#### **Procedimientos**

#### **Obtención de los edulcorantes**

La *Stevia rebaudiana* fue adquirida del laboratorio Scientific Quality SAC, garantizando la pureza del producto. El xilitol, en forma de polvo, será obtenido de la empresa HYLEN CO., LTD (China) y distribuido en Perú por Alternativa Química.

### **Controles**

Para establecer un marco de referencia en la evaluación del efecto antimicrobiano, se utilizaron dos grupos de control:

- **Control positivo:** Clorhexidina al 0,12 %, reconocida por su actividad antimicrobiana.
- **Control negativo:** Agua destilada estéril, que no posee actividad antimicrobiana.

### **Preparación del agar**

El agar sangre de cordero se preparó siguiendo procedimientos estandarizados. El agar base fue esterilizado en autoclave a 15 libras de presión durante 30 minutos. Posteriormente, se enfrió a 37 °C y se adicionó 25 ml de sangre de cordero desfibrinada por cada 100 ml de agar base, mezclando suavemente. Este agar fue vertido en 40 cajas de Petri, que se incubaron a 37 °C durante 24 horas para verificar la ausencia de contaminación.

### **Activación y preparación de la cepa bacteriana**

La cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue activada en baño maría a 37 °C durante 1 hora. Posteriormente, se mezcló con 1 ml de suero fisiológico (NaCl al 0,9 %) y agitada adecuadamente. Con hisopos estériles, se inoculó las placas de agar sangre utilizando la técnica de estriado, distribuyendo uniformemente el inóculo. Las placas

fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas para permitir el crecimiento de unidades formadoras de colonias (UFC).

### **Impregnación de los discos y distribución en las cajas de Petri**

Los discos de cartón absorbente fueron impregnados uniformemente con *Stevia rebaudiana* al 25%,50% y 100%, así como con xilitol en las mismas concentraciones, utilizando una micropipeta para aplicar 10 µl por disco. Se colocó 10 discos por caja de Petri, distribuidos en 30 cajas para *Stevia rebaudiana* (10 cajas con discos al 25 %, 10 al 50 % y 10 al 100%) y 30 cajas para xilitol (10 cajas con discos al 25 %, 10 al 50 % y 10 al 100%). Todas las cajas de Petri fueron rotuladas adecuadamente y colocadas en una incubadora a 37 °C durante 24 horas.

### **Pruebas de efecto antimicrobiano**

El efecto antimicrobiano fue evaluado mediante la técnica de Kirby-Bauer (24), que consistió en depositar los discos impregnados sobre el agar inoculado con *Streptococcus mutans*. La sustancia de los discos se difundió en el agar, creando un gradiente de concentración.

Transcurridas 24 horas de incubación, se identificaron zonas de inhibición (halos) alrededor de los discos, lo que evidenció la actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados. La medición de los halos se realizó con un calibrador Vernier, registrando los diámetros en milímetros para cada uno de los tratamientos y controles.

### **Tasación del efecto antimicrobiano**

La tasación del efecto inhibitorio se realizó tanto cuantitativamente, midiendo el diámetro de los halos, como cualitativamente, siguiendo la escala de Duraffourd, que permitió clasificar la sensibilidad antimicrobiana según el diámetro de los halos (54):

- Nula (-), para diámetros menores a 8 mm.
- Sensibilidad límite (+), para diámetros entre 8 y 14 mm.
- Sensibilidad media (++), para diámetros entre 14 y 20 mm.
- Alta sensibilidad (+++), para diámetros mayores a 20 mm.

### 3.7.2 Descripción de instrumentos

Para la recolección de datos se utilizó una ficha diseñada específicamente para registrar de manera precisa y ordenada los resultados del efecto antimicrobiano de los edulcorantes naturales *Stevia rebaudiana* y xilitol frente a *Streptococcus mutans*. Esta ficha contendrá información dividida en tres apartados fundamentales: los datos generales, las mediciones de los halos de inhibición y las observaciones adicionales.

En los datos generales se registró la identificación de la placa de agar mediante un número de código, la concentración de la sustancia evaluada, que puede ser *Stevia rebaudiana* o xilitol al 25 % 50% o 100%, y el tipo de control utilizado, se incluyeron controles experimentales, tanto positivos (clorhexidina al 0.12 %) como negativos (agua destilada estéril), para garantizar la validez del procedimiento. En la sección de medición se anotarán los diámetros de los halos de inhibición, medidos con un calibrador Vernier en milímetros, y se realizó una clasificación cualitativa de la sensibilidad antimicrobiana de acuerdo con la escala de Duraffourd, que define sensibilidad nula, límite, media o alta según el tamaño del halo observado.

### **3.7.3 Validación**

La ficha fue validada a través de un juicio de expertos con el objetivo de garantizar que sea clara, relevante y adecuada para la recolección de los datos necesarios. Tres especialistas conformaron el comité evaluador: un microbiólogo con experiencia en pruebas de sensibilidad antimicrobiana, un químico especializado en análisis de compuestos bioactivos y un estadístico encargado de verificar que los datos obtenidos sean útiles para el análisis cuantitativo. Durante la evaluación, los expertos revisaron aspectos como la pertinencia de la información recolectada, la claridad en la redacción de los ítems y la facilidad de uso del instrumento en el contexto experimental. Las recomendaciones emitidas por los expertos se implementaron para ajustar y mejorar la ficha antes de su aplicación definitiva.

### **3.7.4 Confiabilidad**

La confiabilidad del instrumento fue verificada mediante una prueba piloto que involucró 10 placas de agar, distribuidas entre tratamientos con Stevia rebaudiana y xilitol en concentraciones de 25 %, 50 % y 100 %, además de los respectivos controles. Dos evaluadores independientes midieron los halos de inhibición con el mismo calibrador Vernier, registrando los datos en fichas idénticas. Se calculó el coeficiente de correlación intraclase (CCI) para determinar la concordancia entre mediciones, considerando un CCI  $> 0.80$  como indicador de alta confiabilidad. Además, se verificó la consistencia en la aplicación de la escala de Duraffourd al comparar las clasificaciones cualitativas entre evaluadores, y se planificaron ajustes en caso de discrepancias.

Para Stevia rebaudiana, los CCI fueron 0.925, 0.940 y 0.932 para las concentraciones de 25%, 50% y 100%, respectivamente, los resultados mostraron una

concordancia casi perfecta, con significancia estadística ( $p = 0.000$ ). En el caso del xilitol, se obtuvieron coeficientes de correlación intraclass (CCI) de 0.918, 0.935 y 0.928 para las tres concentraciones, lo que también evidenció alta consistencia y significancia ( $p = 0.000$ ). Estos hallazgos confirman que las mediciones de los halos de inhibición fueron confiables y reproducibles en todas las concentraciones evaluadas, bajo las condiciones controladas del laboratorio.

### **3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos**

Todos los datos recopilados fueron organizados y almacenados en una base de datos estructurada, la cual incluyó variables como las concentraciones de los tratamientos (*Stevia rebaudiana* al 25%, 50% y 100%; xilitol al 25%, 50% y 100%, y clorhexidina al 0,12%), así como los diámetros de los halos de inhibición obtenidos durante las pruebas de actividad antimicrobiana. Posteriormente, estos datos fueron transferidos a SPSS versión 26, que es el software que se utilizará para realizar los análisis estadísticos correspondientes.

El análisis inició con un análisis descriptivo que permitió conocer las características generales de los datos, tales como las medias, las desviaciones estándar y las frecuencias de los diferentes tipos de inhibición observados. Esto proporcionó una primera visión de los resultados obtenidos para cada tratamiento, mostrando el comportamiento general de las sustancias evaluadas. Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk con el propósito de determinar si los datos obtenidos se ajustaban a una distribución normal, requisito fundamental para el análisis estadístico correspondiente. Esta evaluación es crucial porque determinará qué tipo de pruebas estadísticas se pueden aplicar en los siguientes pasos.

Además de la comparación entre los grupos de tratamientos, se realizó un análisis de las diferencias entre concentraciones para cada sustancia. Por ejemplo, se comparó la actividad inhibitoria de *Stevia rebaudiana* al 50% con la de xilitol al 50%, y lo mismo se hará para las concentraciones al 100% de ambos tratamientos.

### **3.9 Aspectos éticos**

La investigación fue desarrollada en estricto cumplimiento de las normativas éticas vigentes en el ámbito científico, garantizando la integridad del proceso y el respeto por los principios bioéticos, especialmente aquellas que regulan los estudios *in vitro* con microorganismos. Se tomó en cuenta tanto las normativas nacionales como las internacionales sobre el manejo y uso de microorganismos en el laboratorio, garantizando que todas las prácticas sean responsables y se ajusten a los estándares más altos de seguridad y ética.

Asimismo, se siguió estrictamente las normativas de bioseguridad y control de infecciones en el laboratorio microbiológico, implementando los protocolos establecidos para prevenir cualquier riesgo tanto para los investigadores como para el entorno. Esto incluyó el uso adecuado de equipos de protección personal, la correcta disposición de materiales contaminados y la implementación de medidas que asegurarán un ambiente controlado y seguro durante todo el proceso experimental.

Para la ejecución del estudio, se obtuvo los permisos necesarios del laboratorio privado Scientific Quality, se aseguró el cumplimiento de los requisitos legales y éticos necesarios para llevar a cabo la experimentación de forma adecuada, protegiendo los derechos de los participantes y la validez del estudio. Este permiso fue esencial, ya que

confirmó que el laboratorio cumple con los estándares de calidad y seguridad exigidos para la manipulación de los materiales biológicos involucrados.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 4.1 Resultados

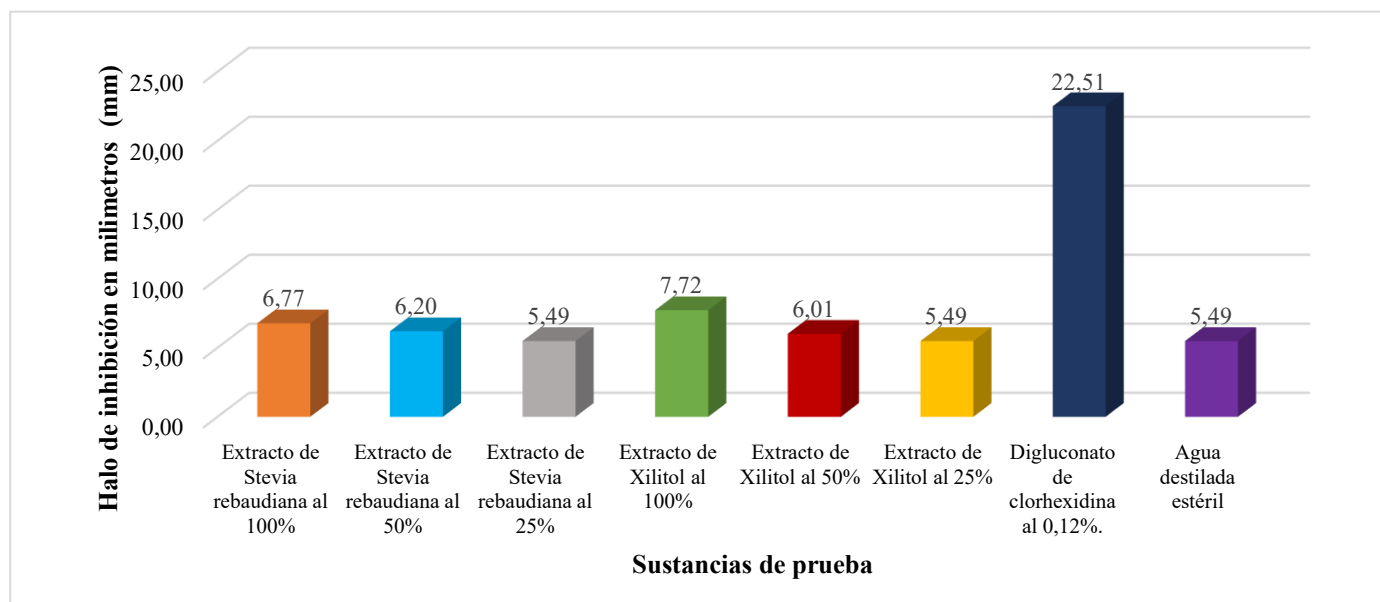
#### 4.1.1 Análisis descriptivo de los resultados

**Tabla 1.** Actividad inhibitoria de las concentraciones de las sustancias de prueba (n=10) frente a *S. mutans* a las 24 horas de estudio

Sustancia de prueba	mm	X Duraffourd*	DE	Min	Máx.
Extracto de Stevia rebaudiana al 100%	6,77	(-)	0,70	5,72	7,81
Extracto de Stevia rebaudiana al 50%	6,20	(-)	0,35	5,70	6,87
Extracto de Stevia rebaudiana al 25%	5,49	(-)	0,00	5,49	5,49
Xilitol al 100%	7,72	(-)	1,26	5,73	9,21
Xilitol al 50%	6,01	(-)	0,36	5,49	6,37
Xilitol al 25%	5,49	(-)	0,00	5,49	5,49
Digluconato de clorhexidir al 0,12%	22,51	(+++)	1,11	20,96	24,31
Agua destilada estéril	5,49	(-)	0,00	5,49	5,49

(\*) Escala de sensibilidad de Duraffourd: Nula (-): 0 a 8 mm; Sensible (+): 8 - 14 mm; Muy sensible (++) : 14 - 20 mm.; Sumamente sensible (+++): 20 mm a más. X: Media, DE: Desviación estándar, Min: Valor mínimo, Máx: Valor máximo. No detectable: <5,5mm

**Figura 1.** Actividad inhibitoria de las concentraciones de las sustancias de prueba (n=10) frente a *S. mutans* a las 24 horas de estudio.



Tal como se muestra en la tabla N°1 y figura N°1, los extractos de *Stevia rebaudiana* en concentraciones de 100 %, 50 % y 25 % generaron halos de inhibición promedio de  $6.77 \pm 0.70$  mm,  $6.20 \pm 0.35$  mm y  $5.49 \pm 0.00$  mm, respectivamente, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 tras 24 horas de incubación. De manera similar, el xilitol en las mismas concentraciones presentó halos promedio de  $7.72 \pm 1.26$  mm,  $6.01 \pm 0.36$  mm y  $5.49 \pm 0.00$  mm. En contraste, el control positivo con digluconato de clorhexidina al 0.12 % mostró un halo de inhibición de  $22.51 \pm 1.11$  mm en el mismo intervalo. Según la escala de Duraffourd, *S. mutans* fue clasificado como no sensible (actividad nula: –) frente a los tratamientos naturales evaluados, a los extractos de *Stevia rebaudiana* y al xilitol a las concentraciones de 100% 50% y 25%. El agua destilada estéril tampoco presentó actividad inhibitoria ( $5,49 \pm 0,00$  mm), por lo cual, para Duraffourd esto es actividad nula. Sin embargo, *S. mutans* fue sumamente sensible (+++) para el digluconato de clorhexidina al 0,12%.

#### 4.1.2 Prueba de hipótesis

##### Test de normalidad

**Tabla 2.** Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk (n=10) de las concentraciones de extracto de *Stevia rebaudiana* y xilitol frente a *S. mutans* las 24 horas de estudio

Sustancia de prueba	Valor p 24 horas
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 100%	0,780
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50%	0,583
Xilitol al 100%	0,203
Xilitol al 50%	0,039
Digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,438

Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )

De acuerdo con los datos presentados en la **tabla 2**, se determinó que los halos de inhibición obtenidos a las 24 horas frente a *S. mutans* ATCC 25175 mostraron una distribución normal para los tratamientos con clorhexidina al 0.12 %, *Stevia rebaudiana* al 100 % y 50 %, así como xilitol al 100 % ( $p > 0.05$ ). No obstante, el xilitol al 50 % no cumplió con este criterio. Dado que se observaron grupos con y sin distribución normal, se recomendó aplicar pruebas estadísticas no paramétricas, tales como U de Mann-Whitney y Wilcoxon, para el análisis comparativo de los resultados.

### **Análisis de muestras independientes**

Se aplicó esta prueba con el objetivo de determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las distintas concentraciones de *Stevia rebaudiana*, xilitol y el digluconato de clorhexidina, en relación con su efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus mutans*.

**Tabla 2.** Prueba U de Mann Whitney para evaluar diferencias significativas de la capacidad inhibitoria las sustancias de prueba

<b>Sustancia de prueba</b>	<b>Valor p 24 horas</b>
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 100% vs. digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,000
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% vs. digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,000
Solución de Xilitol 100% vs. digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,000
Solución de Xilitol 50% vs. digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,000
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% Vs. Solución de Xilitol 50%	0,405
Extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 100% Vs. Solución de Xilitol 100%	0,070

Nivel de significancia estadística:  $\alpha = 0,05$

Según la tabla N°3, se puede observar que existen altas diferencias significativas entre las concentraciones de extracto de *Stevia rebaudiana* y el digluconato de

clorhexidina al 0,12% ( $p < 0,05$ ). Además, hubo diferencias significativas entre las concentraciones de la solución acuosa de xilitol con el control positivo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, a las 24 horas ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la *Stevia rebaudiana* al 100% con la solución acuosa de Xilitol al 100% ( $p < 0,05$ ), la *Stevia rebaudiana* al 50% con la solución acuosa de Xilitol al 50% ( $p < 0,05$ ) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Según la tabla N°1, no fue detectada actividad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans* en el extracto de *Stevia rebaudiana* al 25%, la solución acuosa de xilitol al 25% y el agua destilada estéril, por lo cual, su análisis estadístico no fue incluido en esta tabla.

### **Planteamiento de hipótesis**

#### **Hipótesis general**

**Ha:** Existe actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho:** No existe actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

Según la tabla N°1, se pudo observar que se detectó indicios de actividad inhibitoria en *Stevia rebaudiana* al 100% y el xilitol al 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Sin embargo, si se compara los resultados de la tabla N°1 con la escala de sensibilidad de Duraffourd, se puede indicar que ambas sustancias, solución de xilitol y extracto de *Stevia rebaudiana*, presentaron actividad nula frente a la bacteria en estudio por presentar resultados promedio para cada sustancia evaluada menor a 8mm de diámetro de halo de inhibición. Por lo tanto, se aceptó la hipótesis nula general de la

investigación ( $H_0$ ), la cual indica que no existe actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y el xilitol sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

### **Hipótesis específicas**

#### **Hipótesis específica 1**

**Hi1:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

**Ho1:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

Según tabla N°1, se pudo observar que no se detectó actividad inhibitoria tanto para la *Stevia rebaudiana* al 25% como para la solución de Xilitol 25%. En consecuencia, se confirmó la hipótesis nula específica uno ( $H_{01}$ ), que establece la ausencia de diferencias significativas en la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

#### **Hipótesis específica 2**

**Hi2:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

**Ho2:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que no existen diferencias significativas en la actividad inhibitoria para el extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la solución acuosa de Xilitol al 50% ( $p=0,405$ ). En consecuencia, se confirmó la hipótesis nula específica uno ( $H_02$ ), que establece la ausencia de diferencias significativas en la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

### **Hipótesis específica 3**

**Hi3:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

**Ho3:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que no existen diferencias significativas en la actividad inhibitoria para el extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de Xilitol al 100% ( $p=0,070$ ). También se validó la hipótesis nula específica tres ( $H_03$ ), que sostiene que no existen diferencias relevantes en la capacidad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

### **Hipótesis específica 4**

**Hi4:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

**Ho4:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que existió grandes diferencias significativas en la actividad inhibitoria para el extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la clorhexidina al 0.12% ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, se aceptó la hipótesis alternativa específica cuatro ( $H_{14}$ ), lo que sugiere que existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 50% y la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

#### **Hipótesis específica 5**

**Hi5:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

**Ho5:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* in vitro, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que existió grandes diferencias significativas en la actividad inhibitoria para el extracto de *Stevia rebaudiana* al 100% y la clorhexidina al 0.12% ( $p < 0,05$ ). Asimismo, se respaldó la hipótesis alternativa específica cinco ( $H_{15}$ ), evidenciando que existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto de *Stevia*

*rebaudiana* al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* *in vitro*, Lima- 2025.

### **Hipótesis específica 6**

**Hi6:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* *in vitro*, Lima- 2025.

**Ho6:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* *in vitro*, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que existió grandes diferencias significativas en la actividad inhibitoria para la solución acuosa de xilitol al 50% y la clorhexidina al 0.12% ( $p < 0,05$ ). Se confirmó la hipótesis alternativa específica seis (H<sub>16</sub>), que indica que existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

### **Hipótesis específica 7**

**Hi7:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* *in vitro*, Lima- 2025.

**Ho7:** No existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans* *in vitro*, Lima- 2025.

Según tabla N°3, se pudo observar que existió grandes diferencias significativas en la actividad inhibitoria para la solución acuosa de xilitol al 100% y la clorhexidina al 0.12% ( $p < 0,05$ ). Finalmente, se aceptó la hipótesis alternativa específica siete ( $H_{17}$ ), la cual señala que existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans in vitro*, Lima- 2025.

#### 4.2 Discusión de resultados

Los resultados obtenidos mostraron que ninguno de los extractos etanólicos de *Stevia rebaudiana* (25 %, 50 % ni 100 %) ni las soluciones de xilitol en las mismas concentraciones generaron halos de inhibición iguales o superiores a 8 mm (valores entre 5,49 y 7,72 mm), lo cual, según la escala de Duraffourd, corresponde a una actividad antimicrobiana nula frente a *Streptococcus mutans*. Esta ausencia de efecto coincide con los hallazgos de **Nied et al.** (12) en 2023 en Brasil, donde la infusión de Stevia al 5 % no modificó la composición de biopelículas ni la desmineralización del esmalte, y con los de **Quispe** (16) en 2021 en Perú, que reportaron clara superioridad de la clorhexidina sobre soluciones de Stevia al 10–40 %. En conjunto, estos estudios sugieren que, bajo condiciones in vitro similares, los edulcorantes naturales requieren concentración, pureza o formulaciones distintas para alcanzar un efecto antibacteriano comparable al de los agentes de referencia.

En el caso específico del extracto de Stevia rebaudiana al 25 %, se obtuvo un halo de inhibición de 5,49 mm, lo que indica una ausencia de actividad antimicrobiana. Este resultado coincide con lo informado por **Mamani** (13), quien en 2023 evaluó el efecto antibacterial de *Stevia rebaudiana* frente a *Streptococcus mutans* y observó ausencia total de halos de inhibición (0 mm). El estudio concluyó que Stevia no fue efectiva en las

condiciones evaluadas, lo que sugiere que factores como el tipo de extracción, la concentración de principios activos o el origen vegetal podrían influir en su eficacia. Esta concordancia refuerza la necesidad de explorar otras formas de preparación o combinaciones terapéuticas que potencien su actividad.

Respecto a la concentración del 50 % de Stevia, tampoco se evidenció actividad inhibitoria significativa (6,20 mm). En contraste, **Díaz y Mendoza** (10), en 2021, en Lima, empleando concentraciones de 25 y 50 mcg de “Stevia Vía”, observaron halos de 11,6 y 12 mm respectivamente, lo que sugiere un efecto más marcado con su extracto estandarizado. La divergencia podría deberse a que los microgramos usados por Díaz y Mendoza corresponden a compuestos aislados con mayor pureza, mientras que nuestro extracto etanólico al 50 % podría contener menos principios activos por volumen.

Por su parte, la solución acuosa de xilitol al 25 % mostró un halo de 5,49 mm, clasificado como inactivo. Este resultado se encuentra por debajo de lo reportado en otros estudios, lo que podría explicarse por diferencias en la calidad del xilitol (grado farmacéutico vs comercial), el método de preparación o el protocolo de impregnación de discos, que en nuestro caso quizá no garantizó una concentración efectiva en el medio.

En cuanto a la concentración de xilitol al 50 %, se registró un halo de 6,01 mm, aún dentro del rango considerado como sin efecto según Duraffour. **Apaza et al.** (14), en 2022, trabajando con *Streptococcus sanguinis*, observaron halos entre 9,89 y 12,89 mm para concentraciones desde 0,25 M ( $\approx 4,5\%$ ) hasta 1 M. Aunque se trata de una especie bacteriana distinta, esto sugiere que el xilitol podría requerir concentraciones en molaridad más altas o tiempos de exposición mayores para exhibir efecto en *S. mutans*.

La comparación entre Stevia y xilitol, ambos al 25 %, no arrojó diferencias significativas, ya que en ambos casos los halos fueron inferiores al umbral de actividad.

Este resultado guarda similitud con lo observado por **Shinde y Winnier** (20) en 2020, donde los chicles de Stevia y xilitol redujeron *S. mutans* en saliva sin diferencia estadística entre ellos, sugiriendo que a bajas concentraciones ambos edulcorantes ejercen un efecto mínimo y equiparable.

Al contrastar Stevia y xilitol al 50 %, tampoco se identificaron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,405$ ). Este hallazgo coincide parcialmente con **Pairazamán y Ríos** (17), en 2020, quienes hallaron efecto inhibitorio variable del extracto etanólico de Stevia (al 25, 50, 75 %) sobre factores de virulencia de *S. mutans*, aunque sin compararlo directamente con xilitol. La similitud de nuestros halos podría explicarse porque, a concentraciones medias, ambos compuestos presentan solubilidad y difusión limitadas en agar.

En comparación con la clorhexidina al 0,12 %, el extracto de Stevia al 50 % mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), confirmando su inferioridad como agente antimicrobiano. Hallazgos similares fueron descritos por **Quispe** (16) y **Nied et al.** (12) en 2023, quienes, al comparar infusión de Stevia al 5 % y clorhexidina, observaron que sólo la clorhexidina preservaba la dureza del esmalte y no hallaron equivalencia con Stevia. Ello puede explicarse por la mayor afinidad y acción enzimática de la clorhexidina sobre la membrana bacteriana.

Asimismo, la comparación entre xilitol al 50 % y clorhexidina 0,12 % también reveló diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Este resultado es coherente con lo reportado por **Quispe** (16) y **Apaza et al.** (14), quienes muestran que, aun a concentraciones elevadas, el xilitol no alcanza la eficacia de la clorhexidina en la inhibición de *Streptococcus spp.* La explicación radica en los distintos mecanismos de acción: la clorhexidina desestabiliza la membrana bacteriana, mientras que el xilitol

interfiere principalmente en el metabolismo de polisacáridos, un efecto más lento y menos contundente in vitro.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

- Los hallazgos obtenidos en este estudio *in vitro* permitieron concluir que ninguno de los extractos etanólicos de *Stevia rebaudiana*, en las concentraciones evaluadas, logró superar la eficacia antimicrobiana del digluconato de clorhexidina al 0.12 %, aunque sí mostraron actividad inhibitoria moderada frente a *Streptococcus mutans* (en concentraciones de 25 %, 50 % y 100 %) ni las soluciones acuosas de xilitol (en las mismas proporciones) alcanzaron el umbral de inhibición bacteriana establecido por la escala de Duraffourd (halo  $\geq 8$  mm). Por tanto, ambos edulcorantes naturales carecieron de actividad antimicrobiana significativa frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. En contraste, el digluconato de clorhexidina al 0,12 % confirmó su eficacia con un halo promedio de 22,51 mm.
- La Stevia en concentración del 25 % generó un halo de 5,49 mm, clasificado como inactivo, lo cual indica que dicha concentración no ejerce un efecto antibacteriano evaluable sobre la cepa analizada.
- A una concentración del 50 %, el extracto de Stevia produjo un halo promedio de 6,20 mm, también considerado como actividad nula, lo que evidencia la ineficacia de esta concentración intermedia frente a *S. mutans* en condiciones *in vitro*.
- La solución de xilitol al 25 % arrojó un halo de 5,49 mm, lo que confirma la ausencia de efecto inhibitorio de esta concentración frente a la cepa bacteriana evaluada.
- De igual forma, el xilitol al 50 % presentó un halo de 6,01 mm, sin alcanzar niveles de actividad antibacteriana relevantes bajo las condiciones del experimento.

- Al comparar los efectos de Stevia y xilitol al 25 %, ambos compuestos demostraron una capacidad de inhibición nula y equivalente, sin diferencias apreciables en su comportamiento antimicrobiano a esa concentración.
- La evaluación conjunta de Stevia y xilitol al 50 % mostró halos de inhibición similares (6,20 mm y 6,01 mm respectivamente), lo que confirma que, a concentraciones intermedias, ninguno de los dos compuestos ejerce una acción antibacteriana significativa.
- En la comparación entre Stevia al 25 % y clorhexidina al 0,12 %, la notable diferencia en los halos —actividad nula frente a un promedio de 22,51 mm— resalta de manera contundente la superioridad de la clorhexidina como agente antimicrobiano contra *S. mutans*.
- De igual manera, la comparación entre Stevia al 50 % y clorhexidina evidenció diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), lo cual refuerza el limitado efecto de la Stevia frente a la eficacia comprobada de la clorhexidina.
- Al contrastar los efectos del xilitol al 25 % con los de la clorhexidina, se observó una diferencia superior a 17 mm en el diámetro de inhibición, lo que pone en evidencia la limitada capacidad antimicrobiana del xilitol frente al estándar antiséptico.
- Finalmente, la evaluación del xilitol al 50 % frente a la clorhexidina al 0,12 % también reveló diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), lo que confirma que el aumento en la concentración del xilitol no es suficiente para igualar la potente acción bactericida de la clorhexidina en condiciones *in vitro*.

## 5.2 Recomendaciones

- Se recomienda considerar otras formas de extracción y purificación de Stevia que permitan obtener compuestos activos más concentrados y estandarizados, lo que podría mejorar la reproducibilidad de los resultados.
- Se sugiere complementar los ensayos *in vitro* con modelos de biofilm que representen mejor las condiciones reales de la cavidad oral, donde *Streptococcus mutans* interactúa con otras bacterias en una matriz compleja.
- Sería relevante ampliar el número de cepas utilizadas, incluyendo aislamientos clínicos con distinta resistencia antibiótica, para observar si los resultados se mantienen constantes frente a la variabilidad genética del microorganismo.
- Se aconseja incluir análisis químicos del extracto para identificar los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana, lo cual permitiría optimizar su uso en formulaciones odontológicas.
- La evaluación microbiológica podría complementarse con pruebas de citotoxicidad en células epiteliales orales para garantizar que las concentraciones empleadas sean seguras para el uso humano.
- Los futuros estudios podrían incorporar diseños doble ciego y comparativos con placebo en ensayos clínicos controlados, especialmente si se pretende aplicar los hallazgos a productos comerciales.
- A nivel metodológico, sería conveniente usar otros métodos además del de Kirby-Bauer, como la dilución en caldo para determinar concentraciones mínimas inhibitorias, lo que facilitaría comparar resultados con otros estudios.

- Se recomienda que los profesionales odontólogos consideren alternativas naturales como Stevia y xilitol dentro de un enfoque preventivo, especialmente en pacientes pediátricos o aquellos con restricciones al uso de clorhexidina.
- La inclusión de variables como el pH del medio, la viscosidad de las soluciones y su capacidad de difusión puede enriquecer la interpretación de los halos de inhibición observados.
- En la práctica clínica, es recomendable reforzar la educación del paciente sobre el uso de edulcorantes no cariogénicos como parte de una estrategia integral para reducir la incidencia de caries.
- Sería pertinente explorar combinaciones de Stevia y xilitol con otros compuestos naturales o agentes antimicrobianos, con el objetivo de evaluar posibles efectos sinérgicos que potencien su acción.
- La estandarización del tamaño de los discos y la carga bacteriana puede mejorar la comparabilidad entre ensayos, por lo que se sugiere seguir protocolos internacionales validados.
- Finalmente, se alienta a los investigadores a realizar estudios longitudinales sobre el efecto del consumo regular de productos con Stevia o xilitol en la microbiota oral, la frecuencia de caries y otros indicadores clínicos en población general.

## REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud [OMS]. Informe sobre la situación mundial de la salud bucodental: hacia la cobertura sanitaria universal para la salud bucodental de aquí a 2030: resumen ejecutivo. Organización Mundial de la Salud; 2022. 20 p.
2. Lazo G. Problemática Actual En Salud Bucal En El Perú. *Scientiarvm*. 2017;3(2):55–8.
3. Meyer F, Schulze E, Amaechi BT, Limeback H, Enax J. Caries Etiology and Preventive Measures. *Eur J Dent*. 2024;18(3):766–76.
4. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, et al. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet*. 2019;394(10194):249–60.
5. Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdanian A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdanian M, et al. Oral microbial biofilms: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(11):2005–19.
6. Gao Z, Chen X, Wang C, Song J, Xu J, Liu X, et al. New strategies and mechanisms for targeting *Streptococcus mutans* biofilm formation to prevent dental caries: A review. *Microbiol Res*. 2024;278(127526):1–13.
7. Zhu J, Liu J, Li Z, Xi R, Li Y, Peng X, et al. The Effects of Nonnutritive Sweeteners on the Cariogenic Potential of Oral Microbiome. *Biomed Res Int*.

- 2021;2021(9967035):1–10.
8. Moelich N, Potgieter N, Botha FS, Wesley-Smith J, Van Wyk C. The search for a healthy sugar substitute in aid to lower the incidence of Early Childhood Caries: a comparison of sucrose, xylitol, erythritol and stevia. *South African Dent J.* 2022;77(8):465–71.
  9. Ganter J, Hellwig E, Doerken S, Al-Ahmad A. In vitro evaluation of the cariogenic potential of rebaudioside A compared to sucrose and xylitol. *Clin Oral Investig.* el 27 de enero de 2020;24(1):113–22.
  10. Mendoza T, Mendoza R. del *Streptococcus mutans* Effect of *Stevia rebaudiana* on the growth of *Streptococcus mutans*. *Kiru.* 2021;18(3):147–52.
  11. Dagli N, Haque M, Kumar S. Bibliometric Analysis of Clinical Trials on the Effect of Sugar Alcohol Consumption on Oral Health: Trends, Insights, and Future Directions (1967-2024). *Cureus.* 2024;16(5):e60248.
  12. Nied M, Arthur R, de Freitas E, Henz S. Efeito da infusão de *Stevia rebaudiana* Bertoni na desmineralização do esmalte e na formação do biofilme dental: um estudo in situ. *Rev Da Fac Odontol Porto Alegre.* 2023;63(2):12–23.
  13. Mamani Turpo LD. Efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*: estudio in vitro, Lima - 2023 [Internet]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2023 [citado 2025 Sep 19]. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/server/api/core/bitstreams/ddb9879b-9a02-492b-919b-892ffc7e07ca/content>
  14. Apaza R, Asillo S, Padilla T, Mamani V, Catacora P, Apaza F. Efectos del xilitol

- en el crecimiento bacteriano frente a *Streptococcus sanguinis*: Estudio in vitro. *Odontoestomatología*. 2022;24(40):1–9.
15. Gamboa F, Beltrán L, Plazas L, Lamby C, Gómez O, Bustillo J. Antibacterial activity of extracts from *Stevia rebaudiana* leaves against clinical biotypes of *S. mutans*. *Pharmacologyonline*. 2022;1:53–63.
  16. Quispe G. Comparación del efecto antibacteriano del gel de hojas de stevia rebaudiana (stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175-distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019. Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2021.
  17. Pairazamán J, Ríos T. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre los factores de virulencia cariogénicos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Agroindustrial Sci*. 2020;10(1):95–102.
  18. Escobar E, Piedrahita M, Gregory RL. Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Clin Oral Investig*. 2020;24(9):3237–42.
  19. Kianbakht C, Ansari G, Tabatabaei F, Biria M. Comparison of Antimicrobial Effects of *Stevia Rebaudiana* Extract and Xylitol on Dental Biofilm: An In Vitro Study. *J Dent Sch*. 2020;37(4):123–30.
  20. Shinde M, Winnier J. Comparative evaluation of *Stevia* and Xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* count-A pilot study. *J Clin Exp Dent*. 2020;12(6):568–73.
  21. Sánchez E, Castillo S, García P. Actividad antimicrobiana. En: *Investigación en plantas de importancia médica*. Omnia science; 2016. p. 77–100.

22. Lagha R, Abdallah F Ben, AL-Sarhan BO, Al-Sodany Y. Antibacterial and Biofilm Inhibitory Activity of Medicinal Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* Isolated from UTI Patients. *Molecules*. 2019;24(6):1161.
23. Yuan G, Guan Y, Yi H, Lai S, Sun Y, Cao S. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–15.
24. Rojas J, García A, López A. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas*. 2005;4(2):28–32.
25. Perez A, Rojas J, Rodriguez J, Doncel A, Arrieta I, Arrieta J, et al. Evaluacion De Metodos Para Medir La Actividad Inhibitoria De Extractos Vegetales Nativos Del Departamento De Sucre Sobre Bacterias Y Levadura Patogenas. *Rev Colomb cienc Anim*. 2011;3(1):90–101.
26. Li J, Xie S, Ahmed S, Wang F, Gu Y, Zhang C, et al. Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Front Pharmacol*. 2017;8(364):1–11.
27. Carrera-Lanestosa A, Moguel-Ordóñez Y, Segura-Campos M. *Stevia rebaudiana* Bertoni: A Natural Alternative for Treating Diseases Associated with Metabolic Syndrome. *J Med Food*. octubre de 2017;20(10):933–43.
28. Peteliuk V, Rybchuk L, Bayliak M, Storey K, Lushchak O. Natural sweetener *stevia rebaudiana*: Functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI J*. 2021;20:1412–30.
29. Ilias N, Hamzah H, Ismail I, Mohidin T, Idris M, Ajat M. An insight on the future therapeutic application potential of *Stevia rebaudiana* Bertoni for atherosclerosis

- and cardiovascular diseases. *Biomed Pharmacother.* 2021;143(112207):1–12.
30. García-Hernández S, Pino J, Riera-González G. Producción científica acerca de *Stevia rebaudiana* Bertoni: Una revisión bibliométrica. *Cienc y Tecnol Aliment.* 2022;32(1):82–91.
  31. Borgo J, Laurella L, Martini F, Catalán C, Sülsen V. *Stevia* genus: Phytochemistry and biological activities update. *Molecules.* 2021;26(9):2733.
  32. Paredes A, Claudia M, Sierra N. La *Stevia rebaudiana* como coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental: una revisión de literatura. *Acta Odontológica Colomb Julio-Diciembre.* 2016;6(2):45–60.
  33. Ahmad J, Khan I, Blundell R, Azzopardi J, Mahomoodally M. *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends Food Sci Technol.* 2020;100:177–89.
  34. Grembecka M. Sugar alcohols—their role in the modern world of sweeteners: a review. *Eur Food Res Technol.* 2015;241(1):1–14.
  35. Calorie Control Council. Xylitol [Internet]. Polioles. 2022. Disponible en: <https://datosobrelospolioles.com/xylitol/>
  36. Umai D, Kayalvizhi R, Kumar V, Jacob S. Xylitol: Bioproduction and Applications-A Review. *Front Sustain.* 2022;3(826190):1–16.
  37. Subroto E, Hayati F. Chemical and Biotechnological Methods for the Production of Xylitol: A Review. *Int J Emerg Trends Eng Res.* 2020;8(6):2508–12.
  38. Lee Y, Kim J, Choi M. Effect of xylitol on dental caries prevention : a literature review. *J Korean Soc Dent Hyg.* 2019;19(4):2288–94.

39. Forssten S, Björklund M, Ouwehand A. Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models. *Nutrients*. el 2 de marzo de 2010;2(3):290–8.
40. Lemos JA, Quivey RG, Koo H, Abranches J. Streptococcus mutans: A new Gram-positive paradigm? *Microbiol (United Kingdom)*. 2013;159(3):436–45.
41. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The biology of streptococcus mutans. *Microbiol Spectr*. 2019;7(1):1–18.
42. Nakano K, Ooshima T. Serotype classification of Streptococcus mutans and its detection outside the oral cavity. *Futur Med*. 2009;4(7):891–902.
43. Ajdić D, McShan WM, McLaughlin RE, Savić G, Chang J, Carson MB, et al. Genome sequence of Streptococcus mutans UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proc Natl Acad Sci*. el 29 de octubre de 2002;99(22):14434–9.
44. Zeng L, Burne RA. Comprehensive mutational analysis of sucrose-metabolizing pathways in Streptococcus mutans reveals novel roles for the sucrose phosphotransferase system permease. *J Bacteriol*. 2013;195(4):833–43.
45. Bowen WH, Koo H. Biology of Streptococcus mutans-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. *Caries Res*. 2011;45(1):69–86.
46. Baker JL, Faustoferra RC, Quivey RG. Acid-adaptive mechanisms of Streptococcus mutans –the more we know, the more we don't. *Mol Oral Microbiol*. el 21 de abril de 2017;32(2):107–17.
47. Hernández-Sampieri R, Mendoza C. Metodología de la investigación: Las rutas Cuantitativa Cualitativa y Mixta. *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. México; 2018.

48. Ñaupas H, Valdivia M, Palacios J, Romero H. Metodología de la investigación. Cualitativa - Cuantitativa. Redacción de la tesis. 5ta ed. Bogota, Colombia: Ediciones de la U; 2018.
49. Muñoz C. Metodología de la investigación. México D.F.: Oxford University Press México, S.A. de C.V.; 2016.
50. Niño V. Metodología de la investigación: diseño y ejecución. Ediciones de la U, editor. Bogotá; 2011.
51. Kothari C. Research Methodology: Methods and Techniques. 2a ed. New Age International Publishers; 2004. 418 p.
52. Stratton S. Population Research: Convenience Sampling Strategies. Prehosp Disaster Med. 2021;36(4):373–4.
53. Etikan, I., and Babatope O. A basic approach in sampling methodology and sample size calculation. MedLife Clin. 2019;1:1006.
54. Duraffourd C, Lapraz J, Hervicourt L. Cuadernos de fitoterapia clínica. Masson; 1987.

**ANEXOS**

### Anexo 1: Matriz de consistencia

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	DEL OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DISEÑO METODOLÓGICO
<p><b>Problema general:</b> ¿Cuál es la actividad inhibitoria de la <i>Stevia rebaudiana</i> y el xilitol sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025?</p>	<p><b>Objetivo general:</b> Evaluar la actividad inhibitoria de la <i>Stevia rebaudiana</i> y el xilitol sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p>	<p><b>Hipótesis general:</b> <b>Ha:</b> Existe actividad inhibitoria de la <i>Stevia rebaudiana</i> y el xilitol sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p>	<p><b>Variable 1</b> Actividad inhibitoria</p>	<p><b>Método:</b> Hipotético – deductivo</p>
<p><b>Problemas específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ¿Cuál es la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025?</li> <li>- ¿Cuál es la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025?</li> <li>- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025?</li> <li>- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025?</li> </ul>	<p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Determinar la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25%, 50 y 100% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</li> <li>- Determinar la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 25%, 50 y 100% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</li> <li>- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</li> <li>- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</li> <li>- Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al</li> </ul>	<p><b>Hipótesis específicas:</b></p> <p><b>Hi1:</b> Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 25% y la solución acuosa de xilitol al 25% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p> <p><b>Hi2:</b> Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% y la solución acuosa de xilitol al 50% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p> <p><b>Hi3:</b> Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p> <p><b>Hi4:</b> Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p> <p><b>Hi5:</b> Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans in vitro</i>, Lima- 2025.</p>	<p><b>Variable 2</b> <i>Stevia rebaudiana</i></p> <p><b>Variable 3</b> Xilitol</p>	<p><b>Enfoque:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Tipo:</b> Básico</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental in vitro.</p>

- 
- ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de Stevia rebaudiana al 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025?
  - ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de Stevia rebaudiana al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025?
  - ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de Stevia rebaudiana al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025?
  - ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025?
  - ¿Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025?
- 100% y la solución acuosa de xilitol al 100% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
  - Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de Stevia rebaudiana al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
  - Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria del extracto etanólico de Stevia rebaudiana al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
  - Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
  - Identificar las diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
- Hi6:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025.
- Hi7:** Existen diferencias entre la actividad inhibitoria de la solución acuosa de xilitol al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de Streptococcus mutans in vitro, Lima- 2025
-

## Anexo 2: Instrumentos

### “FICHA DE RECOLECCION DE DATOS”

#### Datos generales:

<b>Código de placa:</b> _____	
<b>Sustancia evaluada:</b>	<b>Concentración:</b>
<input type="checkbox"/> <i>Stevia rebaudiana</i>	<input type="checkbox"/> 25 %
<input type="checkbox"/> Xilitol	<input type="checkbox"/> 50 % <input type="checkbox"/> 100 %
<b>Tipo de control:</b>	
<input type="checkbox"/> Positivo (Clorhexidina 0,12 %)	<input type="checkbox"/> Negativo (Agua destilada estéril)

#### Mediciones de los Halos de Inhibición

<b>Diámetro del halo (mm):</b> _____	
<b>Clasificación según escala de Duraffourd:</b>	
<input type="checkbox"/> Nula (-)	<input type="checkbox"/> Sensibilidad límite (+)
<input type="checkbox"/> Sensibilidad media (++)	<input type="checkbox"/> Sensibilidad alta (+++)

### Anexo 3: Confiabilidad del instrumento

**Tabla 3.** Base de datos

N°	Stevia 25%	Stevia 50%	Stevia 100%	Xilitol 25%	Xilitol 50%	Xilitol 100%
1	5.48	6.15	7.01	5.45	6.00	6.98
2	5.50	6.30	7.10	5.40	6.05	7.05
3	5.55	6.22	7.05	5.43	6.10	6.90
4	5.52	6.18	7.15	5.50	6.12	7.00
5	5.47	6.10	7.00	5.46	6.08	7.02
6	5.53	6.20	7.08	5.44	6.07	6.95
7	5.49	6.25	7.12	5.47	6.11	6.99
8	5.51	6.17	7.09	5.48	6.06	7.01
9	5.46	6.23	7.07	5.42	6.04	7.03
10	5.54	6.19	7.11	5.49	6.09	6.96

**Tabla 4.** Valores del coeficiente de correlación intraclase y su interpretación

Coefficiente de correlación intraclase	Interpretación
1,00 o mayor	Acuerdo perfecto
0,81 - 0,99	Casi perfecto
0,61 - 0,80	Sustancial
0,41 - 0,60	Moderado
0,21 - 0,40	Ligero
0,01 - 0,20	Casi insignificante
0,00 o menor	Acuerdo nulo

**Tabla 5.** Coeficiente de correlación intraclase

Sustancia y concentración	Coefficiente de correlación intraclase	95% Intervalo de confianza	Prueba F (valor real)	gl1	gl2	Significancia (p)
Stevia 25%	0.925	0.800 - 0.975	15.234	9	9	0.000
Stevia 50%	0.940	0.825 - 0.980	17.897	9	9	0.000
Stevia 100%	0.932	0.810 - 0.978	16.540	9	9	0.000
Xilitol 25%	0.918	0.790 - 0.973	14.600	9	9	0.000
Xilitol 50%	0.935	0.820 - 0.979	17.100	9	9	0.000
Xilitol 100%	0.928	0.805 - 0.976	15.800	9	9	0.000

La Tabla 6 muestra los coeficientes de correlación intraclass (CCI) y su nivel de significancia para las distintas concentraciones de Stevia y Xilitol evaluadas, lo que permite valorar la consistencia o el grado de concordancia entre las mediciones realizadas en el laboratorio.

El extracto etanólico de Stevia rebaudiana a las concentraciones de 25%, 50% y 100% presentó coeficientes de correlación intraclass de 0.925, 0.940 y 0.932 respectivamente, indicando una concordancia casi perfecta en todas las mediciones, con alta significancia estadística ( $p = 0.000$ ).

De igual forma, las soluciones acuosas de Xilitol a las mismas concentraciones mostraron coeficientes de correlación intraclass de 0.918, 0.935 y 0.928, reflejando también una concordancia casi perfecta y una alta significancia estadística ( $p = 0.000$ ).

Estos resultados evidencian que las mediciones de los halos de inhibición para ambas sustancias, en sus diferentes concentraciones, fueron consistentes y confiables bajo las condiciones experimentales de laboratorio.

## Anexo 4: Constancia de exoneración



Universidad  
Norbert Wiener

### COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA E INTEGRIDAD CIENTÍFICA

#### CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN

Lima, 14 de febrero de 2025

Investigador(a)

**Kelly Samantha Ecurra Torres.**

**Exp. N°: 0260-2025**

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética e Integridad Científica de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEIC-UPNW) acuerda la **Exoneración de revisión** del siguiente protocolo de estudio:

- Protocolo titulado: **“ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA STEVIA REBAUDIANA Y EL XILITOL SOBRE LAS CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO, LIMA- 2025.” Versión 01 con fecha 12/02/2025.**

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Kelly Samantha Ecurra Torres..

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,

Raúl Antonio Rojas Ortega  
Presidente  
Comité Institucional de Ética e Integridad Científica  
UPNW



## Anexo 5: Constancia de recolección de datos



### CONSTANCIA

Dra. Brenda Vergara Pinto  
Directora de Escuela Profesional Odontología  
UNIVERSIDAD NORBERT WIENER  
Presente.

Estimado Doctora:

Es grato dirigirme a usted para comunicarle que la señorita Kelly Samantha Escurra Torres, con DNI 71948121, bachiller en Odontología, realizó las pruebas microbiológicas del estudio experimental *in vitro* titulado: "ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA *Stevia rebaudiana* Y EL XILITOL SOBRE LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* IN VITRO. LIMA- 2025". Dicho estudio correspondió a su tesis para obtener el título de Cirujano dentista.

Toda la experimentación y recolección de datos fue realizada entre los días al 24 de marzo al 04 de abril del del 2025 y fue supervisado en su totalidad por mi persona, cumpliendo con todos los protocolos de bioética, bioseguridad y control de infecciones requeridos.




Sin otro particular.

Atentamente

Lima, 07 de abril del 2025



  
Mbgo. Oniel Elias Juarez Vilcapuma  
Jefe de Laboratorio  
C.B.P. 14090

## Anexo 6: Certificado de análisis



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

**SPECIFICATIONS:**

**Product Name:** Streptococcus mutans  
**Catalog Number:** 0266  
**Lot Number:** 266-38\*\*  
**Reference Number:** ATCC® 25175™\*  
**Passage from Reference:** 3  
**Expiration Date:** 2025/11/30

**RELEASE INFORMATION:**

**Quality Control Technologist:** Kavitha Gobalan  
**Release Date:** 2024/01/16

**Performance**

**Macroscopic Features:**

Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.

**Medium:**

SBAP

**Microscopic Features:**

Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains

**Method:**

Gram Stain (1)

**ID System:** MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

**Other Features/ Challenges: Results**

(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative

Amanda Kuperus  
Director of Quality Control  
AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



REFERENCE MATERIAL PRODUCER  
CERT #2655.02

**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a highconfidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2024-01-11T14:59:47.194 GLJ  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A9 (+++) (A)	266-38	Streptococcus mutans	2.32

Comments:

n/a

## Anexo 7: Informe de ensayo



### INFORME DE ENSAYO N° SQ250506.01

SOLICITUD DE ENSAYO : SQE 250321.01  
 SOLICITANTE : Kelly Samantha Escurra Torres  
 DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE : No indica  
 PROCEDENCIA DE LA MUESTRA : Proporcionado por el laboratorio Scientific Quality S.A.C.  
 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : M01: Extracto de Stevia rebaudiana al 100%  
 M02: Extracto de Stevia rebaudiana al 50%  
 M03: Extracto de Stevia rebaudiana al 25%  
 M04: Extracto de Xilitol al 100%  
 M05: Extracto de Xilitol al 50%  
 M06: Extracto de Xilitol al 25%  
 M07: Diguconato de clohexidina al 0,12%. Marca "Oralgene". Lote: 22J257  
 M08: Agua destilada estéril  
 CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA : M1, M2, M3: Un (01) frasco ámbar de 10mL c/u.  
 M4, M5, M6: Un (01) frasco ámbar de 10mL c/u.  
 M7: Un (01) frasco blanco de 500mL  
 M8: Un (01) frasco de 100mL  
 LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO : No aplica  
 FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN : 21 de marzo del 2025/ 09:30h  
 CONDICIONES A LA RECEPCIÓN : Temperatura de refrigeración  
 FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS : 24 de marzo del 2025  
 FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS : 04 de abril del 2025  
 FECHAS DE EMISIÓN : 06 de mayo del 2025

#### RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

N° Replica de halo de inhibición	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Mueller Hinton							
	M01	M02	M03	M04	M05	M06	M07	M08
1	6,30	5,72	5,49	5,73	6,18	5,49	22,62	5,49
2	6,25	6,12	5,49	8,16	5,61	5,49	21,91	5,49
3	6,06	5,70	5,49	8,08	5,93	5,49	23,93	5,49
4	6,77	6,20	5,49	8,71	5,49	5,49	24,31	5,49
5	5,72	6,55	5,49	9,21	6,37	5,49	23,66	5,49
6	7,81	6,07	5,49	5,90	6,32	5,49	20,96	5,49
7	7,14	6,15	5,49	7,52	5,49	5,49	22,37	5,49
8	7,54	6,43	5,49	8,47	6,12	5,49	22,02	5,49
9	7,45	6,18	5,49	8,93	6,28	5,49	21,72	5,49
10	6,68	6,87	5,49	6,51	6,35	5,49	21,59	5,49



Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensajada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. la adhesión o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regirá por las disposiciones penales y civiles en la materia.

## INFORME DE ENSAYO N° SQ250506.01




MÉTODOS DE ENSAYO	
ENSAYOS	REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	SQ-100. TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR EN PLACAS PETRI <sup>(1)</sup>

**OBSERVACIONES:**

Tamaño de pocillo antibiograma: 5,49mm

- (1) Basado en artículo de Escalante M. (2016). Sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovi* frente al aceite esencial de Cocos nucifera. REBIOL. 36(1): 38 – 44. Enero – Junio.




  
**Mblgo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma**  
 Jefe de Laboratorio  
 C.B.P.14090

**Scientific  
Quality**  
We generate trust

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C, la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regirá por las disposiciones penales y civiles en la materia.

## Anexo 8: Informe de Tesis

 Universidad Norbert Wiener	<b>INFORME DEL ASESOR</b>		
	cÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-014	VERSIÓN: 02 REVISIÓN: 02	FECHA: 13/05/2020

Lima, 28 de julio del 2025

Dra. Esp. Brenda Vergara Pinto

Directora de la EAP de Odontología Universidad Privada Norbert Wiener  
Presente. -

De mi especial consideración:

Es grato expresarle un cordial saludo y como asesor de tesis titulada: **“ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA STEVIA REBAUDIANA Y EL XILITOL SOBRE LAS CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS IN VITRO, LIMA- 2025”** desarrollado por la egresada Kelly Samantha Ecurra Torres; para la obtención del Título Profesional de Cirujano dentista; ha sido concluida satisfactoriamente.

Al respecto informo que se lograron los siguientes objetivos:

- Orientar la investigación para lograr los objetivos de la misma.
- Revisar el informe final en sus resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones.
- Aprobar la tesis para su sustentación.


Atentamente,



Firma del asesor

Mg. Esp. CD. Betzabe Huavllas Paredes

## Anexo 9: Reporte de turnitin

 Página 2 de 69 - Descripción general de integridad Identificador de la entrega: trncoid::14912-502207714

### 12% Similitud general




El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

#### Filtrado desde el informe

- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

---

#### Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

---


#### Marcas de integridad

**N.º de alertas de integridad para revisión**

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

 Página 2 de 69 - Descripción general de integridad Identificador de la entrega: trncoid::14912-502207714

## Anexo 10: Evidencia fotográfica

### 1. EQUIPOS E INSTRUMENTOS

#### REGLA VERNIER DIGITAL CALIBRADA



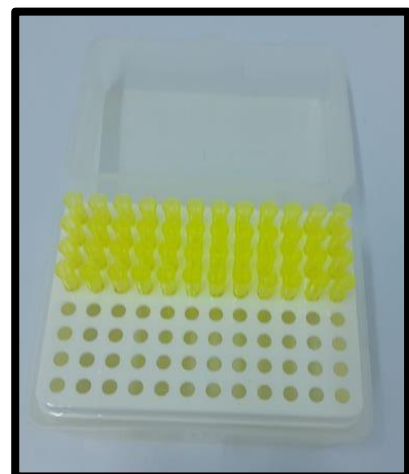
#### MICROPIPETA



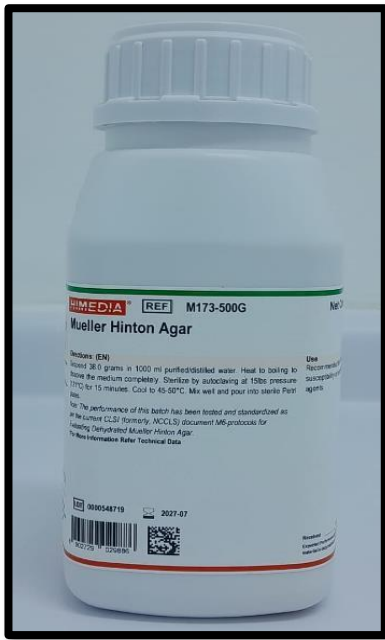
#### CONTADOR DE COLONIAS MICROPIPETA



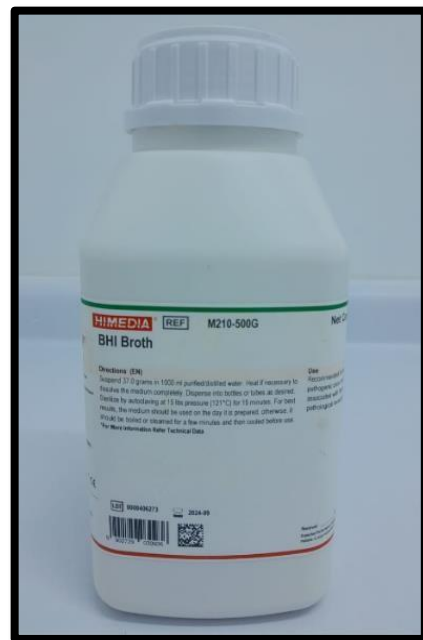
#### CAJA CON TIPS PARA



## 2. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS



Agar Mueller Hinton



Caldo Brain Heart Infusion (BHII)



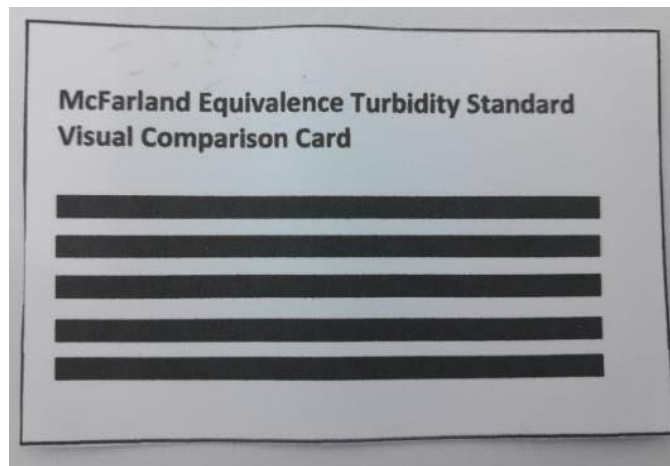
Estándar de turbidez de 0,5 de Mc Farland

1. **CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA**

**CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 EN CALDO BHI**



**Tarjeta de comparación visual para el estándar de turbidez McFarland**



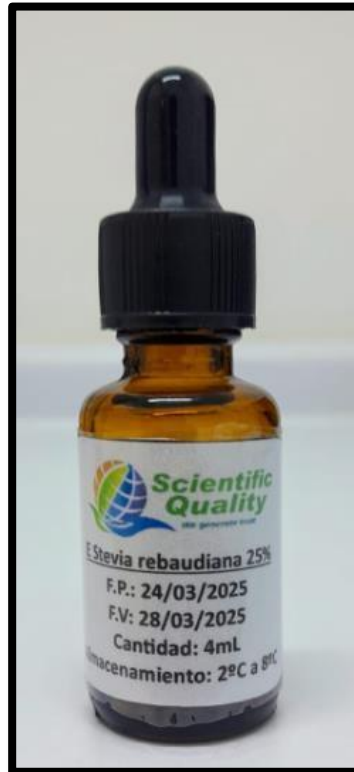
Extracto de *Stevia Rebaudiana* al 100 %



Extracto de *Stevia Rebaudiana* al 50 %



Extracto de *Stevia Rebaudiana* al 25 %



Solucion acuosa de xilitol (1000mg/ml) 100%



Solucion acuosa de xilitol (500mg/ml) 50%



Solucion acuosa de xilitol (250mg/ml) 25%



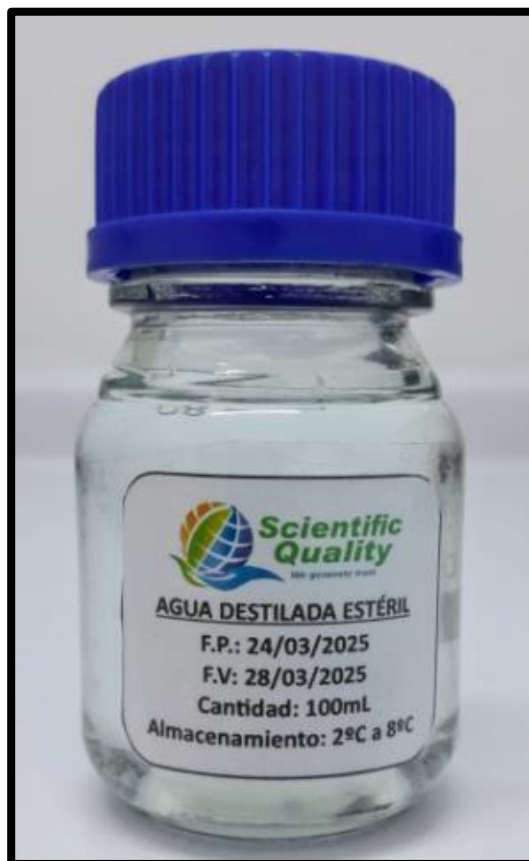
Concentraciones de Xilitol y extracto de *Stevia rebaudiana*



Digluconato de clorhexidina al 0,12%. Marca "Oralgene"



Agua destilada estéril





## XILITOL EN POLVO

### 2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO *DE Stevia rebaudiana*

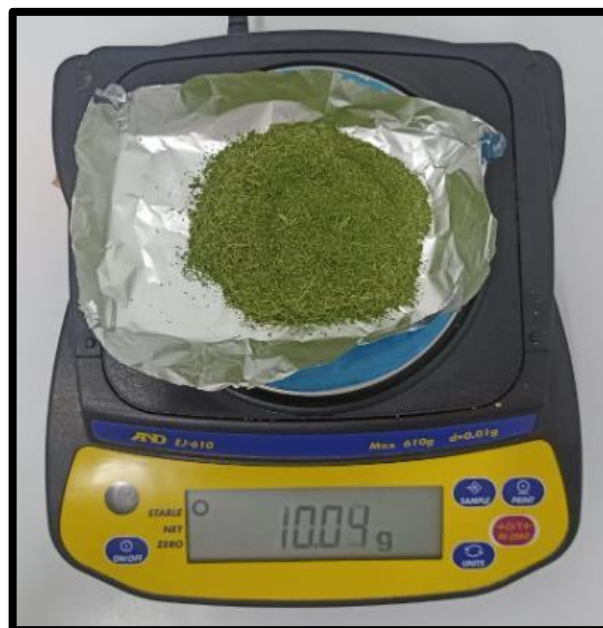


Hojas deshidratadas de *Stevia rebaudiana*

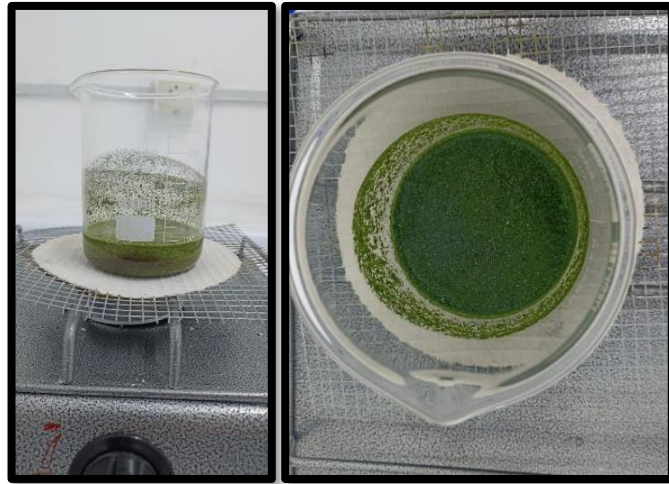
Molienda de hojas de *Stevia rebaudiana*



Pesaje de *Stevia rebaudiana* molida



Se le agrega 90mL de agua destilada y se calienta hasta su 50°C por unos 30 minutos en una coccinilla.



Posteriormente, se cierne extracto de *Stevia rebaudiana* con papel filtro y, luego, se almacena en un frasco ámbar cerrado.





Luego, se preparó las diluciones del extracto de *Stevia rebaudiana* con agua destilada



PREPARACIÓN DE XILITOL AL 100%(1000mg/mL)

## ESTERILIZACIÓN DE FRASCOS ÁMBAR CON LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE XILITOL



### 3. PREPARACIÓN DEL AGAR MUELLER HINTON

Pesaje del Mueller Hinton en balanza digital



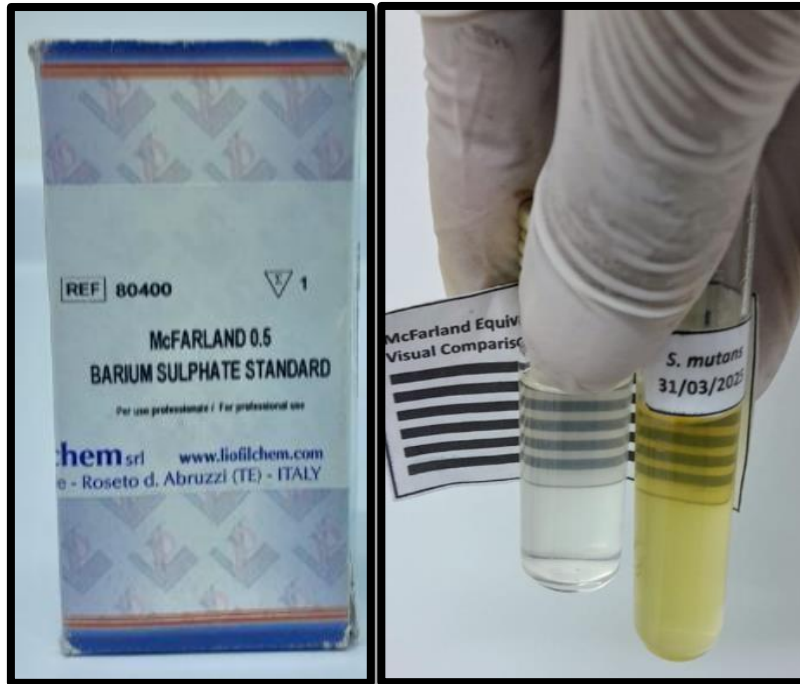
Luego el frasco de agar Mueller Hinton se esteriliza por autoclave y se estabiliza la temperatura en el baño termostático antes de su traslado en placas Petri.



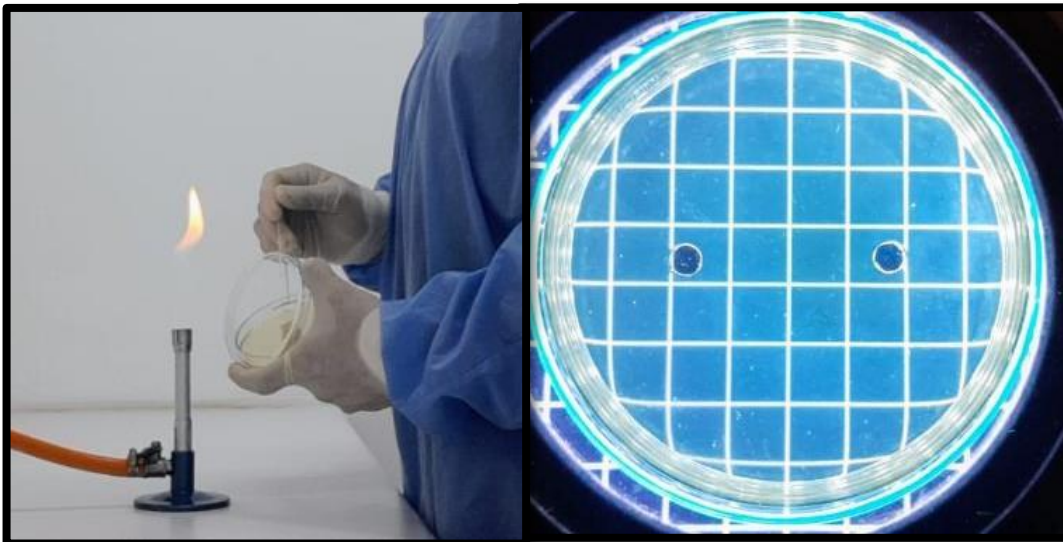
**4. Traslado de agar Mueller Hinton en placas Petri estériles con mechero de bunsen encendido**



5. Preparación suspensión al 0,5 McFarland, a partir de cultivo en agar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Comparación con el estándar comercial Sulfato de Bario 0,5 de Mc Farland.



6. Realización de pocillos antibiograma en agar Mueller Hinton (AMH)



Placa AMH en contador de colonias

7. **Inoculación con hisopo estéril de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las placas de agar Mueller Hinton.**



8. **Procedimiento de inoculación de 30µL de las sustancias de prueba, en esterilidad, frente al mechero de Bunsen con micropipeta**

**Inoculación a los pocillos antibiograma en agar Mueller Hinton con Aceite esencial de *Stevia Rebaudiana* al 100%**



**Inoculación a los pocillos antibiograma en agar Mueller Hinton con Digluconato de Clorhexidina al 0,12%**



9. Colocación de las placas Petri con agar Mueller Hinton conteniendo las sustancias de prueba inoculadas con *Streptococcus mutans* en Jarra de anaerobiosis



Proceso de Combustión (vela estéril) para generar condiciones anaeróbicas al sellar la jarra de anaerobiosis



10. Incubadora Microbiológica con el material de ensayo

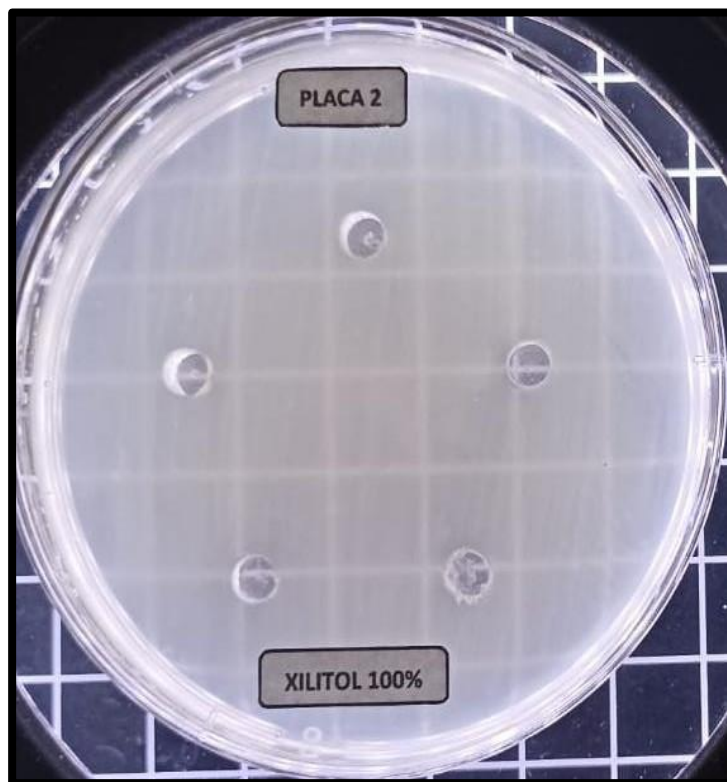
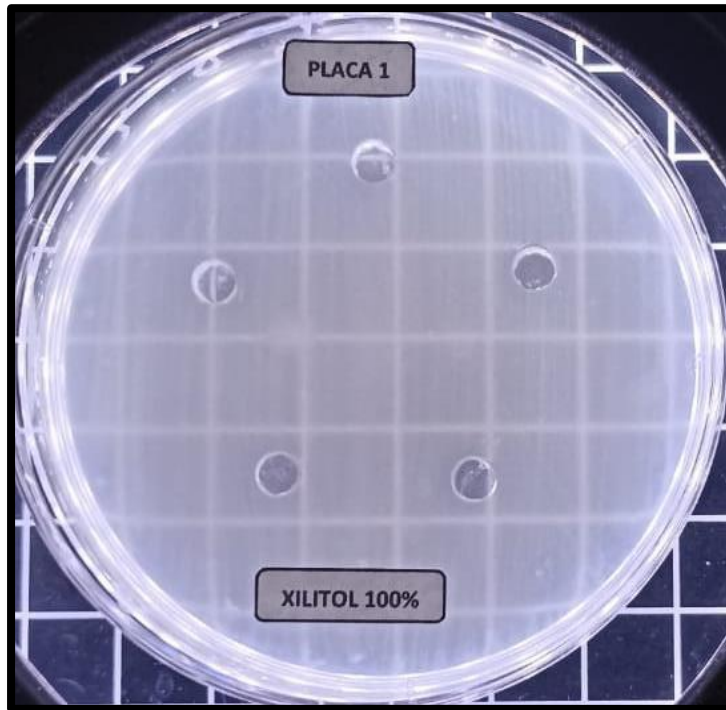


## 11. RESULTADOS

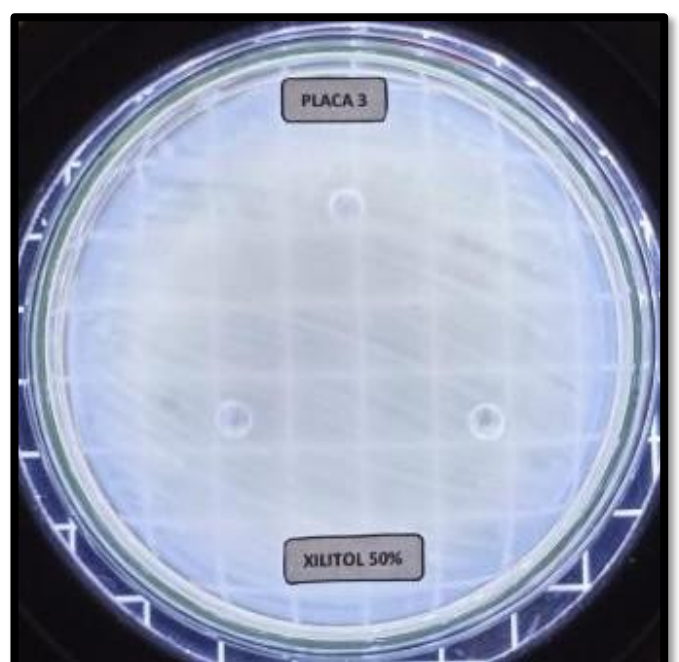
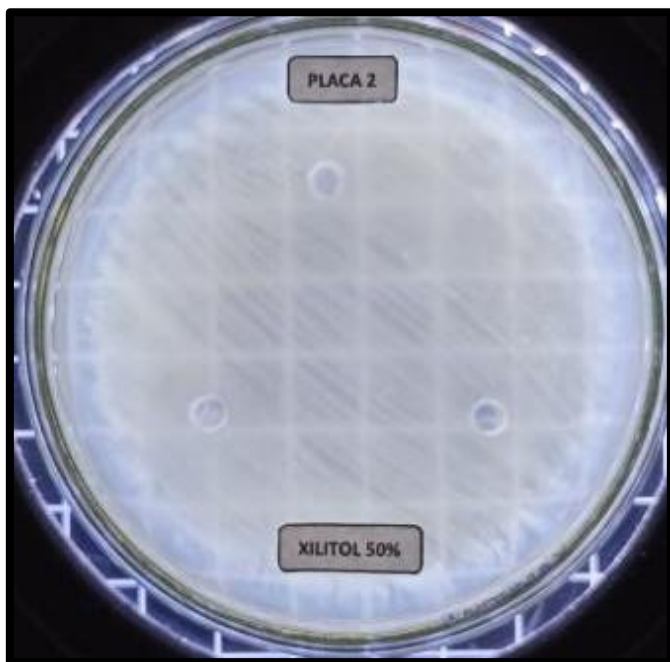
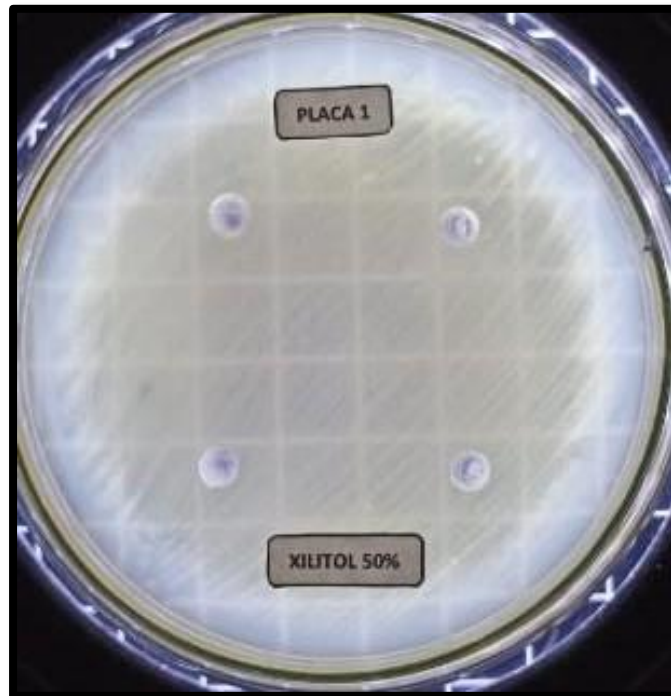
Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan del equipo, luego se miden con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias microbiológico de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las concentraciones de los extractos de *Stevia rebaudiana* y Xilitol frente a *Streptococcus mutans*



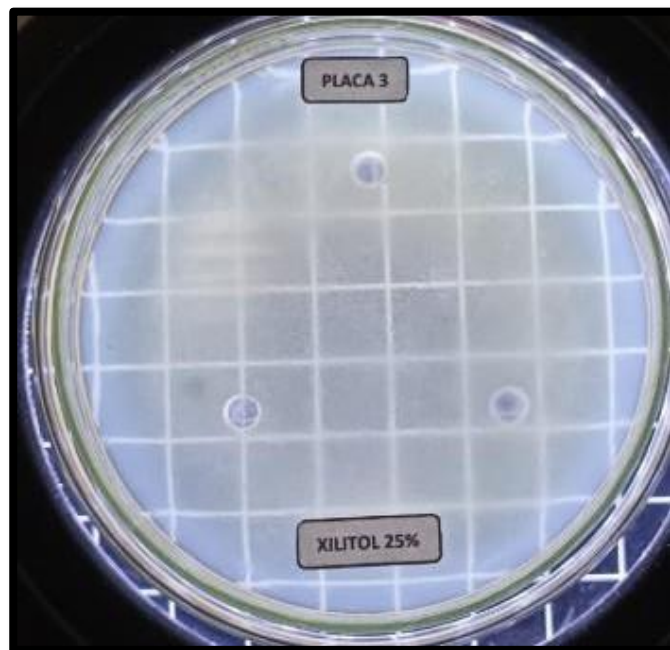
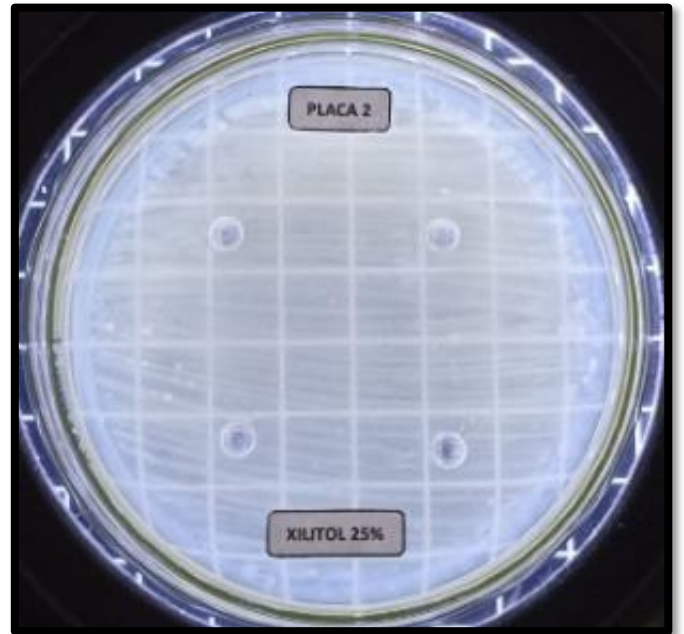
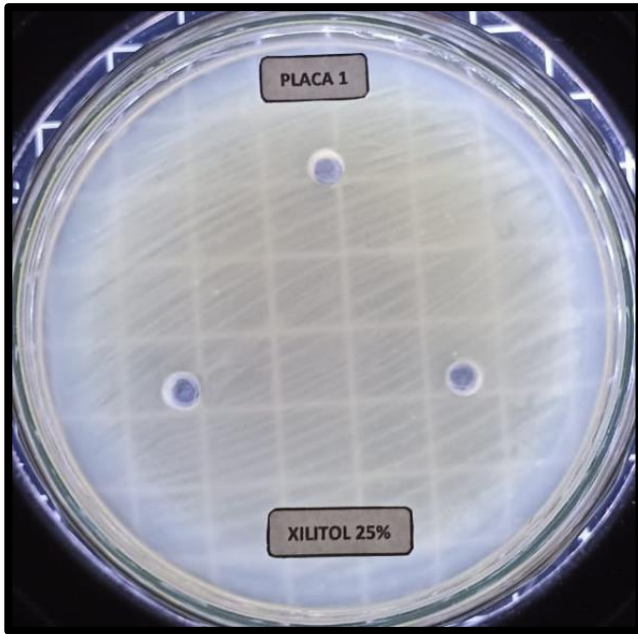
**Fotos de placa Petri con Xilitol al 100% en agar Mueller Hinton frente a  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de  
estudio**

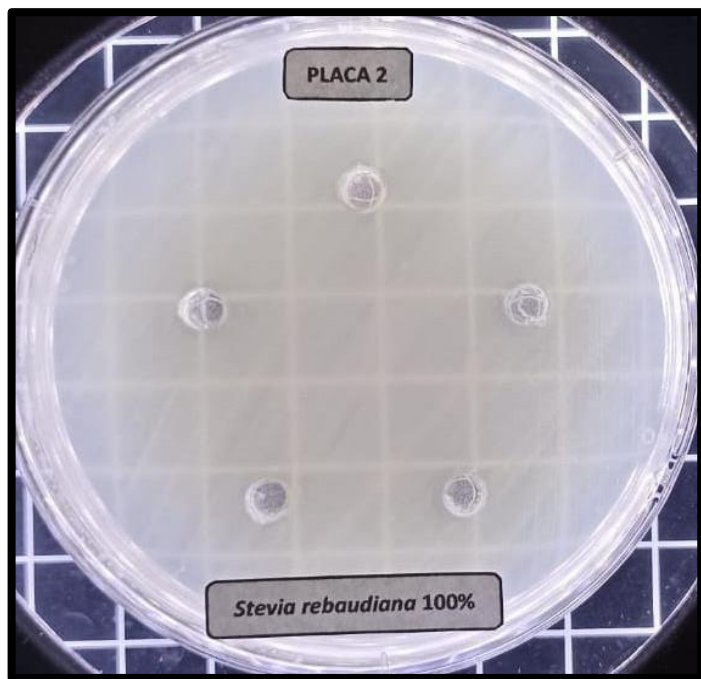
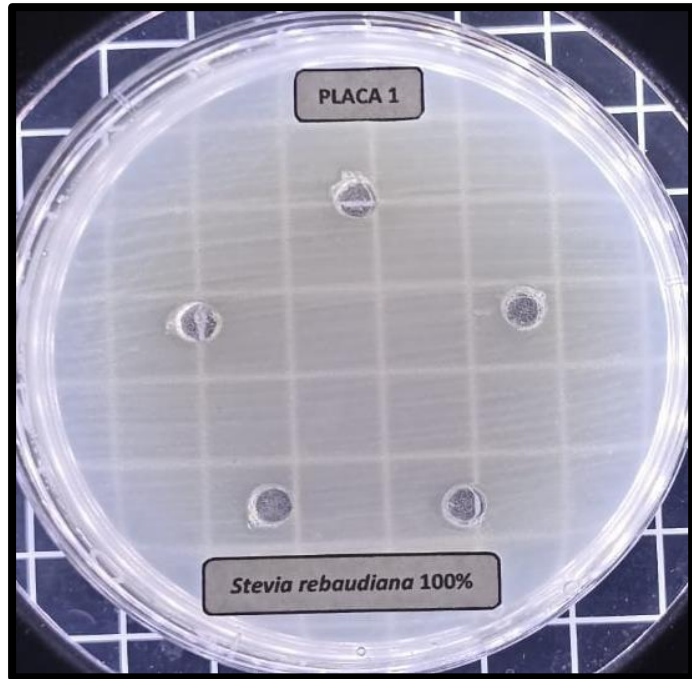


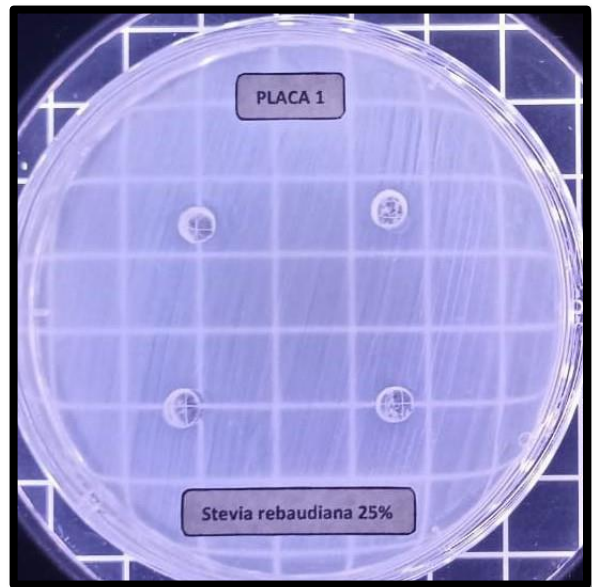
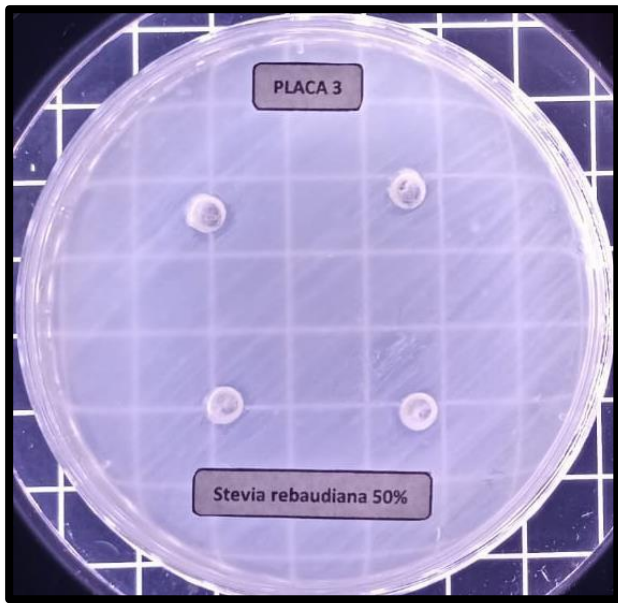
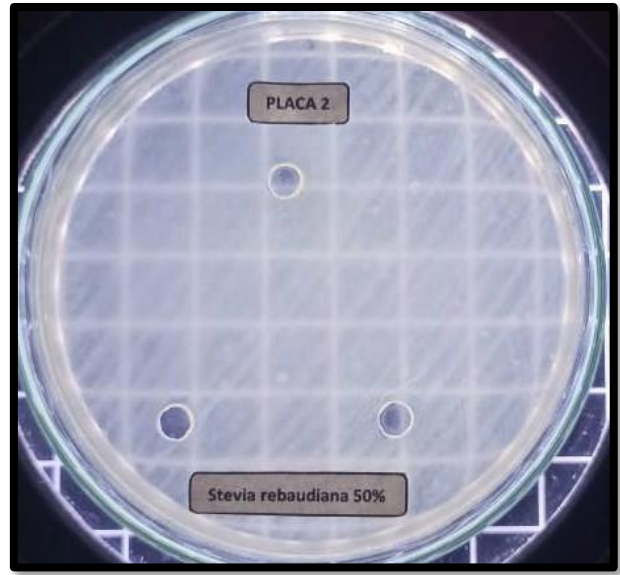
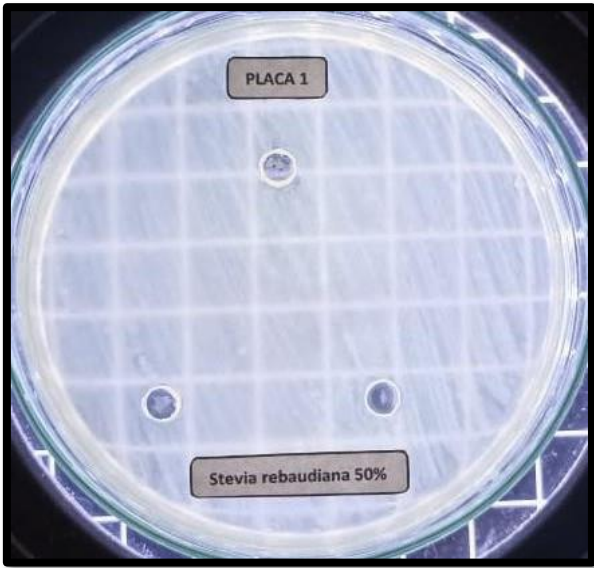
**Fotos de placa Petri con Xilitol al 50% en agar Mueller Hinton frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de estudio**

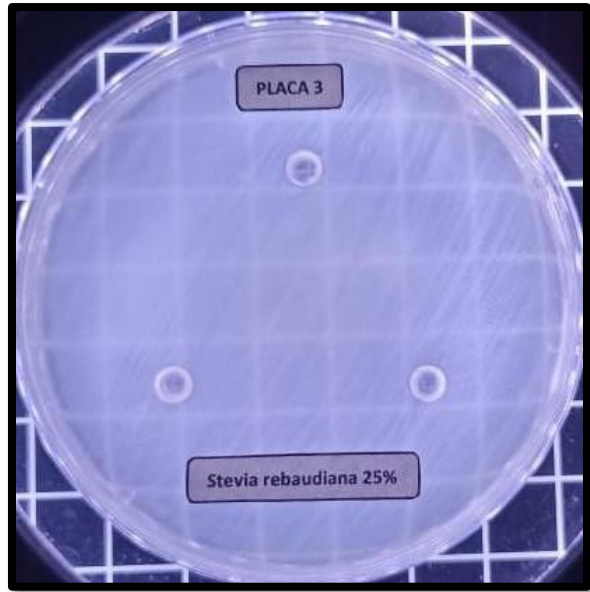
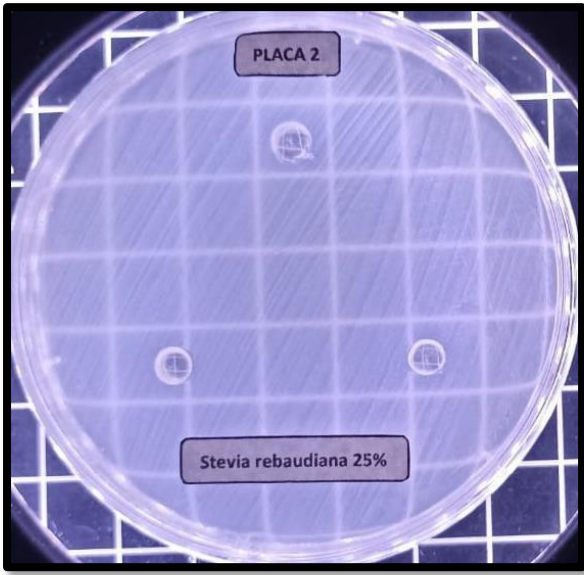


**Fotos de placa Petri con Xilitol al 25% en agar Mueller Hinton frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de estudio**



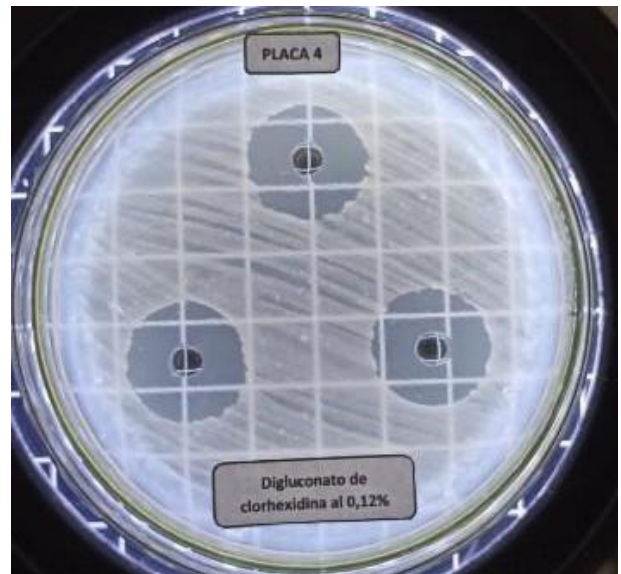
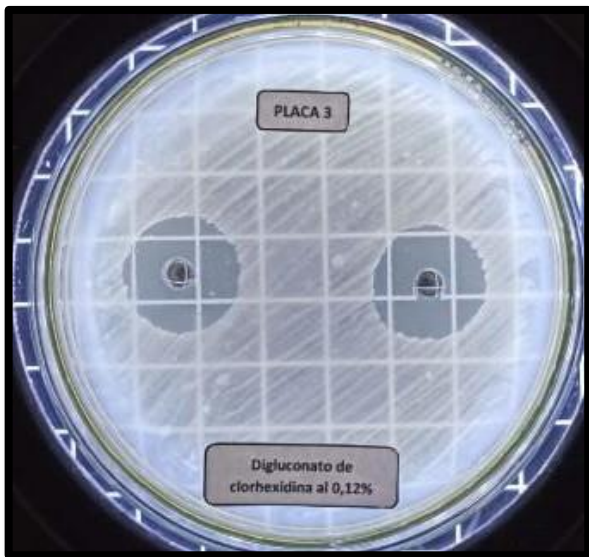
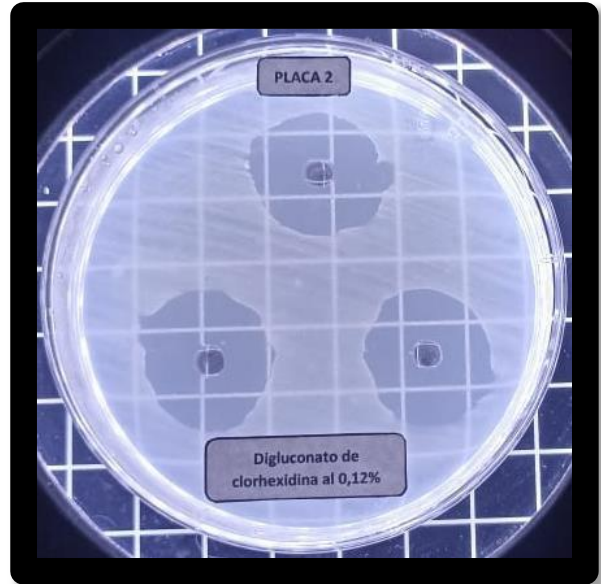
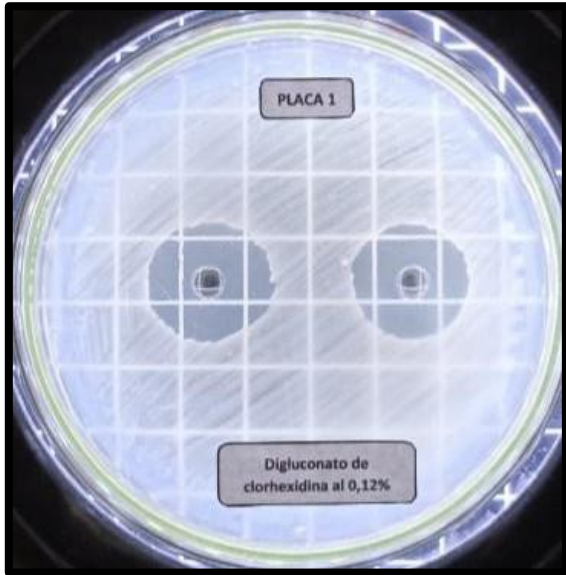






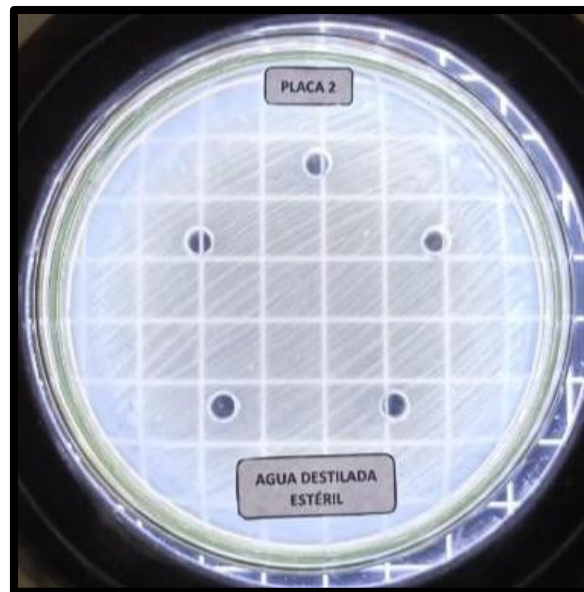
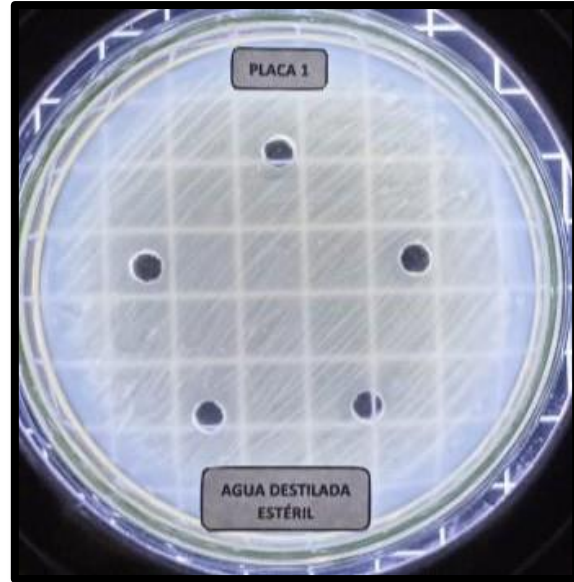
**Fotos de placa Petri con Digluconato de clorhexidina ala 0,12% en agar Mueller Hinton  
frente a**

***Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de estudio**



**Fotos de placa Petri con agua destilada estéril en agar Mueller Hinton frente a**  
***Streptococcus mutans***

**ATCC 25175 a las 24 horas de estudio**



## 12. ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS BIOLÓGICOS DEL ENSAYO.

Las placas Petri y otros residuos biológicos se colocaron en bolsas rojas y se esterizaron por autoclave según procedimiento.



### Introduciendo Bolsa roja de residuos






# 12% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

## Filtrado desde el informe

- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Fuentes principales

- 10%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 7%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## Fuentes principales

- 10% Fuentes de Internet
- 1% Publicaciones
- 7% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	hdl.handle.net	3%
2	Internet	repositorio.uwiener.edu.pe	2%
3	Internet	revistas.uandina.edu.pe	1%
4	Trabajos entregados	Universidad Católica de Santa María on 2025-05-28	<1%
5	Trabajos entregados	Universidad Católica de Santa María on 2025-06-09	<1%
6	Internet	www.researchgate.net	<1%
7	Trabajos entregados	Universidad Católica de Santa María on 2024-04-26	<1%
8	Trabajos entregados	Universidad Catolica De Cuenca on 2017-02-06	<1%
9	Internet	repositorio.unal.edu.co	<1%
10	Trabajos entregados	Universidad Inca Garcilaso de la Vega on 2025-09-03	<1%
11	Internet	www.clubensayos.com	<1%