



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIA MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS
Y DE LA SALUD

**EFFECTO DEL CONSUMO DE BEBIDAS GASIFICADAS SOBRE EL pH BUCAL Y LA
PROLIFERACIÓN BACTERIANA EN ADOLESCENTES.**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:

Guadalupe Carolina Barajas Torres

Tutores

Dr. Juan Garduño Espinosa

Dra. América Liliana Miranda Lora

Dr. Miguel Klünder Klünder
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud

Ciudad de México, noviembre de 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

MIEMBROS DEL JURADO

Dr. Juan Garduño Espinosa
Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dra. María Luisa Peralta Pedrero
Universidad Nacional Autónoma de México

Dr. Niels Agustin Hansen Wachter Rodarte
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dr. Roberto Carlos Castrejón Pérez
Instituto Nacional de Geriátría

Dr. Fernando Flores Hernández
Universidad Nacional Autónoma de México

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, quienes me ha acompañado en el trayecto de la vida.

A la Dra. América Miranda quien su compromiso y valiosas opiniones hicieron posible este proyecto.

Al Dr. Juan Garduño de quien siempre hay mucho que aprender.

Al Dr. Miguel Klünder por su ejemplo en la investigación.

A la Dra. Briseida López, Químico Israel Parra y todo el personal del Laboratorio Central por su disposición siempre presente.

Al amable jurado por sus acertadas opiniones.

Agradecimientos especiales a: Química Isabel Franco, Químico Gerardo Escalona y Técnico Dulce Arista, por su facilidad innata para compartir el conocimiento.

Contenido

1.	RESUMEN	1
2.	MARCO TEÓRICO.....	2
2.1.	Caries dental.....	2
2.1.1	Etapas de la caries	2
2.1.2	Biopelícula dental acidificante/ <i>Streptococcus mutans</i>	3
2.1.3	pH bucal	3
2.1.4	pH crítico	4
Figura. 1	pH crítico	4
2.1.5	Saliva en la regulación pH	5
2.1.6	Buffer salival.....	5
Tabla 1.	Sistema buffer salival.....	5
2.2	Edulcorantes no calóricos	6
2.2.1	Acesulfame K	6
2.2.2	Aspartame.....	7
3.	ANTECEDENTES	7
Tabla 2.	Tabla de Evidencias	7
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
5.	JUSTIFICACIÓN.....	9
6.	OBJETIVOS	10
6.1	OBJETIVO GENERAL	10
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
7.	HIPÓTESIS	10
Gráfica 1.	Estudio piloto no publicado realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2015 por Miranda y col.	11
8.	METODOLOGÍA	11
8.1	Tipo de estudio	11
8.2	Lugar y tiempo de estudio.....	11
8.3	Criterios de inclusión.....	11
8.4	Criterios de exclusión.....	12
8.5	Criterios de eliminación.....	12
8.6	Características de la maniobra de intervención.....	12
Tabla 3.	Contenido de los refrescos	13
8.7	Definición de las variables	13
8.8	Procedimientos	14
Tabla 4.	Aleatorización de los participantes.....	15

9.	MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA	18
10.	PLAN DE ANÁLISIS.....	19
11.	CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD.....	19
12.	RESULTADOS.....	19
	Tabla 5. Características generales de los participantes.....	20
	Resultados del pH salival.....	20
	Gráfica 2. Modificación del pH salival	21
	Gráfica 3. Modificación del pH de la biopelícula dental.....	22
	Resultados de la proliferación bacteriana	22
	Tabla 6. Proliferación bacteriana intragrupo	22
	Gráfica 4. Proliferación bacteriana intergrupo.....	23
13.	DISCUSIÓN.....	24
14.	CONCLUSIONES	25
15.	FORTALEZAS Y LIMITACIONES	26
16.	BIBLIOGRAFÍA.....	27
17.	ANEXOS.....	30
	ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	30
	ANEXO 2. CARTA DE ASENTIMIENTO.....	32
	ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS	33
	ANEXO 4. ACEPTACIÓN POR EL COMITE DE INVESTIGACIÓN.....	35

1. RESUMEN

Título. Efecto del consumo de bebidas gasificadas sobre el pH bucal y la proliferación bacteriana en adolescentes.

Antecedentes. El consumo de refrescos se asocia con el desarrollo de caries, ya sea por las modificaciones en el pH salival o por su contenido en sustratos que favorecen el crecimiento bacteriano (azúcares). Existen opciones en el mercado en los que se sustituye la sacarosa por edulcorantes no calóricos; sin embargo, no existe información suficiente sobre sus efectos in vivo en la estructura dental.

Objetivo. Evaluar los cambios en el pH bucal y la proliferación bacteriana de la biopelícula dental en respuesta a la ingesta de dos tipos de bebidas de cola en adolescentes.

Material y Método. Se realizó un ensayo clínico aleatorizado cruzado en el que se incluyeron 22 adolescentes voluntarios sanos. La intervención consistió en la ingesta de 355 mL de dos tipos diferentes de refrescos de cola: 1. endulzado con sacarosa; 2. endulzado con aspartame/acesulfame K. Adicionalmente se incluyeron dos controles negativos: agua natural y agua mineral. El periodo de lavado entre las intervenciones fue de 1 semana. En cada uno de los días se tomaron muestras de saliva y de biopelícula dental a los 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos posteriores a la ingesta de cada una de las bebidas para la determinación de pH. La toma de muestras de biopelícula para su cultivo fue tomada de forma basal y a los 120 minutos.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis descriptivo con promedios y desviación estándar para las variables con distribución normal y medianas y rangos intercuartílicos (RIC) para aquellas con libre distribución. La comparación de las variables de acuerdo a cada uno de los refrescos ingeridos, en los diferentes tiempos para las muestras de saliva y biopelícula dental se realizó mediante análisis de Friedman con ajuste de múltiples comparaciones mediante corrección de Dunne. Se obtuvo la proliferación de la biopelícula dental de forma basal y dos horas posteriores a la ingesta de cada uno de los refrescos para su análisis mediante Wilcoxon, la comparación intergrupo se realizó mediante Kruskal Wallis. Se utilizó el programa estadístico SPSS v. 20. Se consideró significancia estadística con una $p \leq 0.05$

Resultados. La mayor diferencia en el pH salival se presentó en el minuto 5, ocurriendo entre el refresco adicionado con sacarosa, con una mediana de 6.98 (RIC 6.60-7.00) y el agua mineral con una mediana de 7.22 (RIC 7.02-7.36), $p \leq 0.05$. El pH de la biopelícula dental no presentó diferencias estadísticamente significativas posterior a la ingesta de cada una de las bebidas ($p=0.13$). Para la proliferación bacteriana el mayor incremento se presentó posterior a la ingesta de la bebida con sacarosa (265×10^3 UFC, RIC $25 \times 10^3 - 50 \times 10^3$), seguido de la bebida con aspartame/acesulfame K (125×10^3 UFC, RIC, $10 \times 10^3 - 20 \times 10^3$) $p \leq 0.01$ y el agua mineral (25×10^3 RIC, $20 \times 10^3 - 30 \times 10^3$) $p \leq 0.05$. No se observaron cambios posteriores al consumo de agua natural ($p=1.00$).

Conclusión. El mayor potencial cariogénico se presentó con el refresco de cola adicionado con sacarosa cuya capacidad acidificante del pH salival se encontró aunada a la mayor proliferación

de biopelícula dental. Si bien, el agua mineral y el refresco de cola con aspartame/acesulfame K no modifican sustancialmente el pH, su comportamiento no es inerte ya que se asocian a una mayor proliferación bacteriana en comparación al agua natural.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Caries dental

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió en el 2012 a la salud oral como la ausencia de enfermedades bucales crónicas, dolor facial, bucal y faríngeo, úlceras bucales, defectos de nacimiento, enfermedad periodontal, caries, pérdida de piezas dentales y trastornos que afecten la cavidad bucal (1).

Se reconoce a la caries dental como una de las enfermedades más frecuentes en todo el mundo, posee un impacto significativo en los pacientes que resulta en dolor, infección y pérdida de la funcionalidad. Diversos estudios la clasifican como la enfermedad no contagiosa mediada por bacterias con mayor prevalencia a nivel mundial (2, 3).

La herramienta más utilizada para la vigilancia epidemiológica de la caries ha sido el índice de CPO (Cariado, Perdido, Obturado) en dientes permanentes y CEO (Cariado, Extraído, Obturado) en dientes temporales. Instrumentos como el Sistema de Detección y Evaluación Internacional de Caries (ICDAS) y la Evaluación del Espectro de Caries y Tratamiento (CAST) han estratificado la presencia y el grado de evolución de la caries (4, 5), sin determinar de forma directa los factores individuales de su patogénesis.

Estudios epidemiológicos en diversos países han evaluado el índice de caries y su asociación con acúmulos bacterianos. Skrivele y Cara (2013), en cooperación con la OMS, realizaron un estudio en 472 niños de 24 a 36 meses en 5 países, encontrando una relación directa entre biopelícula dental y el índice de CEO. En esta misma investigación se reportaron diferencias en la prevalencia de caries entre los países, encontrándose en Estonia una prevalencia del 41,6%, Suecia del 38%, Alemania 14.1%, Polonia 43.8% y Lituania del 50.6% (6). En México la prevalencia de caries en población pediátrica se ha reportado entre el 34 y 99% (7-9).

La relación de este padecimiento con la cronicidad se ve reflejada en la adultez, como es el caso de México en donde el 17.2% de la población entre 60 y 64 años de edad es desdentada, aumentando el porcentaje con la edad, de manera que después de los 85 años el 50.5% de los pacientes han perdido todos sus órganos dentales por enfermedades bucales entre las cuales se encuentra incluida la caries dental (10).

2.1.1 Etapas de la caries

La caries es una enfermedad dinámica, no transmisible, modulada por la dieta y mediada por una biopelícula dental (11), cuyo resultado final es la pérdida irreversible de los minerales de los tejidos duros dentales a través de descensos continuos de pH en la cavidad bucal (3). Se

considera una enfermedad multifactorial cuya historia natural implica cuatro etapas para su desarrollo (12).

- Primera etapa: la presencia de factores de riesgo como clase social baja, menor nivel educativo, comportamiento personal no comprometido y factores genéticos/biológicos incrementan la susceptibilidad individual (13).
- Segunda etapa: la exposición frecuente a azúcares en la dieta incrementa la proliferación de la biopelícula dental específica (*Streptococcus mutans*).
- Tercera etapa: el metabolismo de azúcares por la biopelícula dental *disminuye el pH* a través de la generación de ácidos como el láctico, propiónico y butírico, lo cual ha sido considerado la llave angular en todo el proceso carioso.
- Cuarta etapa: la estructura mineralizada del diente (hidroxiapatita) sufre desmineralización permanente ante el ataque de ácidos producidos por bacterias (14).

Es importante mencionar que existe además una ruta alterna para la pérdida de estructura dental conocida como erosión dental. Se trata de un proceso químico-mecánico en donde existe pérdida acumulativa del tejido dental duro ocasionada por ácidos provenientes directamente de la dieta, cuya formación no se encuentra relacionada con la presencia de bacterias, observándose una mayor frecuencia en pacientes con alto consumo de alimentos con contenido de ácidos (15).

2.1.2 Biopelícula dental acidificante/*Streptococcus mutans*

La biopelícula dental prototipo es formada por los *Streptococcus mutans*, un patógeno bucal asociado a caries dental cuyo potencial cariogénico reside en tres atributos centrales: (i) capacidad de producir una matriz polipeptídica extracelular in situ y síntesis de polímeros extracelulares de glucanos a partir de sacarosa que ayudan a la colonización de la superficie dura dental y limitan el acceso de solutos no favorables al interior de la biopelícula, (ii) capacidad de metabolizar carbohidratos en ácidos orgánicos y (iii) capacidad de prosperar bajo pH ácido. La ingesta de azúcares frecuente resulta en un sustrato óptimo para su metabolismo y multiplicación, lo que se refleja en su población dentro de la biopelícula dental, creando además nichos favorables para que otras especies acidúricas puedan prosperar (16).

Las bacterias que componen la biopelícula dental son susceptible a condiciones como disponibilidad de oxígeno y nutrientes, temperatura, pH, variabilidad del flujo salival y uso a largo plazo de antibióticos, los cuales pueden causar cambios en el ecosistema bucal, aunque solo de forma transitoria (14, 17, 18).

2.1.3 pH bucal

El pH es la medida de acidez o alcalinidad ocasionada por la concentración de iones hidrogeno (H^+) que se encuentran presentes en una solución determinada y es medida a través de una escala logarítmica en base 10.

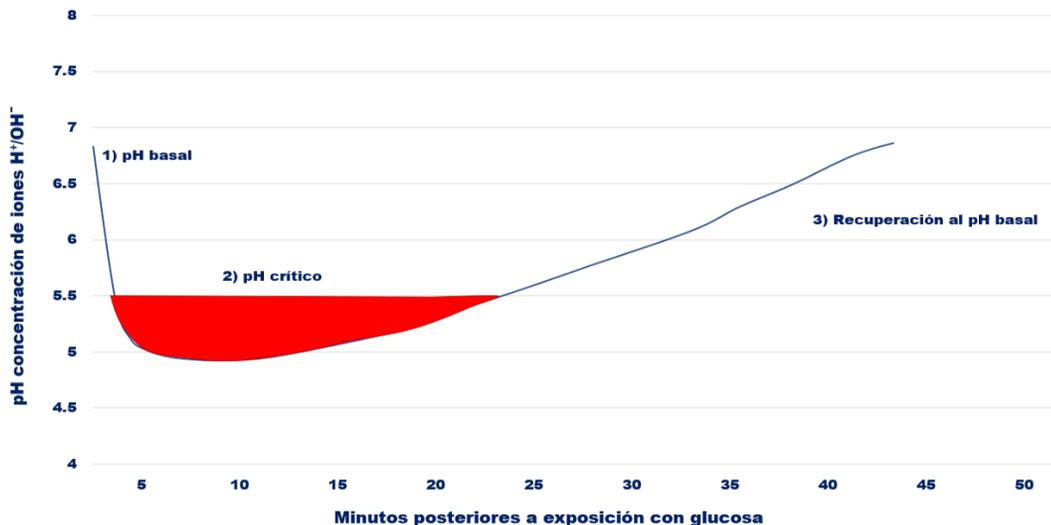
El pH salival tiende a la neutralidad cuando tiene valores de 6.2 a 7.6 (19), algunos estudios han encontrado una media de pH de 6.8 para saliva en reposo en comparación a la media de 7.8 en saliva estimulada (durante la alimentación). Se ha descrito también que durante el sueño el pH en la superficie maxilar posee una media de 7.0 (\pm 0.46) y en la mandibular una media de 6.46 (\pm 0.31) (20). De manera similar se ha reportado que el pH de la biopelícula dental presenta valores menores en la superficie vestibular de dientes anteriores superiores. Por otra parte, el uso de fármacos antihipertensivos, lesiones en la cavidad oral y padecimientos como el cáncer también pueden modificar el pH en la cavidad bucal (21).

2.1.4 pH crítico

El componente mineral del diente se encuentra formado por calcio, fosfato y iones hidroxilo. Es una estructura química agrupada en forma de prismas denominada hidroxiapatita, cuya fórmula es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Esta estructura puede ser dañada de forma irreversible mediante descensos del pH salival, el proceso puede ilustrarse mediante una gráfica (Figura 1).

- 1) Inicia con un pH salival basal de 6.2 a 7.6, en donde los cristales de hidroxiapatita se disuelven mínimamente en la saliva como iones de calcio (Ca^{2+}), fosfato (PO_4^{3-}) e hidroxilo (OH^-) con capacidad de reintegrarse nuevamente al esmalte dental.
- 2) Posterior a la ingesta de carbohidratos fermentables el pH se acidifica hasta 5.5 o menos (pH crítico), en este punto los iones de fosfato (PO_4^{3-}) e hidroxilo (OH^-) reaccionan con el hidrogeno (H^+) formando complejos aún más ácidos, tales como fosfato ácido (HPO_4^{2-}) que no poseen capacidad de reincorporarse al diente. Este proceso se conoce como desmineralización dental.
- 3) Finalmente existe recuperación gradual del pH al nivel basal con pérdida de minerales en la estructura dental. El proceso se repetirá tantas veces como exista exposición a carbohidratos fermentables (19, 22, 23).

Figura. 1 pH crítico



En los últimos años la presencia de factores de riesgo como tasa salival baja, niveles de calcio y fosfato salival reducido y pH basal bajo se han relacionado con la presencia caries y erosión dental (24, 25).

2.1.5 Saliva en la regulación pH

La saliva ejerce gran parte de la regulación del pH bucal mediante la reducción en el crecimiento y actividad metabólica de la microflora oral a través de su contenido en numerosos péptidos catiónicos, inmunoglobulina A y proteínas salivales, los cuales poseen efectos acumulativos y/o sinérgicos (26-29).

La capacidad de la saliva es dependiente de sus componentes (30), los cuales varían entre los individuos siendo aproximadamente el 99.5% agua, 0.3% elementos orgánicos como urea, creatinina, ácido úrico, aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos y corticosteroides provenientes de secreciones parotídeas (24, 28) y 0.2% elementos inorgánicos como bicarbonato, calcio y iones fosfato que conforman el sistema buffer.

2.1.6 Buffer salival

En respuesta a modificaciones de pH la saliva posee un sistema buffer cuyo objetivo es neutralizar la acidez y mantener el equilibrio desmineralización/remineralización dental mediante la secreción salival de iones de bicarbonato y fosfatos (Tabla 1).

Tabla 1. Sistema buffer salival

SISTEMA BUFFER SALIVAL	
Sistema	Función
Sistema bicarbonato	Reduce la acidez bucal difundiendo iones de bicarbonato a través de la saliva estimulada (durante la masticación), alcanza niveles de pH 8-8.5, siendo el más importante en la modulación de caries (24).
Sistema fosfato	Protege al diente durante el flujo salival no estimulado (en ausencia de alimentación o durante la noche), mediante la difusión de iones fosfato en presencia pH debajo del valor crítico (5.5) (24).

Componentes adicionales que participan en la capacidad buffer salival.	
Anhidrasa carbónica	Metaloenzima dependiente de zinc, cataliza reversiblemente el dióxido de carbono y agua para formar ácido carbónico y protones: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$. Regula el pH ejerciendo su acción en el flujo salival estimulado (31).
Fosfatasa alcalina	Enzima que reacciona entre pH 9 y 10. Su disminución provoca cambios en los niveles de fosfato que conducen a inicio y progresión de la caries dental (28).
Urea	Se metaboliza a amoníaco por la biopelícula dental aumentando su pH (32).

2.2 Edulcorantes no calóricos

México ocupa el primer lugar a nivel mundial en consumo per cápita anual de bebidas azucaradas (150 litros), seguido de Estados Unidos (100 litros) (33). Es bien conocido que el contenido calórico y de azúcares de estos productos se han asociado al incremento de sobrepeso y obesidad (34), pero también tienen un impacto en la salud bucal. El consumo de bebidas procesadas se ha relacionado con alteraciones dentales que involucran la disolución del esmalte a partir de productos del metabolismo bacteriano (35).

Como alternativa al consumo de azúcar, se han incorporado edulcorantes no calóricos, los cuales producen una alta percepción del sabor dulce a muy bajas concentraciones. Las bebidas endulzadas artificialmente o también conocidas como bebidas “de dieta” o “bebidas light” son endulzadas con uno o más edulcorantes en sustitución de azúcares como la sacarosa o la alta fructosa. Su consumo ha aumentado notablemente en los últimos 20 años como tendencia a mantener la dulzura con un menor aporte calórico con el propósito de mantener un control de peso (36, 37).

Seis de estos agentes (aspartame, sacarina, sucralosa, neotamo, acesulfame y Stevia) han recibido la categoría de sustancias seguras para su consumo por la FDA (Food and Drug Administration) (36). Los edulcorantes no calóricos utilizados con mayor frecuencia en las bebidas carbonatadas de cola en nuestro país son el acesulfame K y el aspartame.

2.2.1 Acesulfame K

El acesulfame de potasio (acesulfame K) es un edulcorante artificial no nutritivo libre de calorías. Fue aprobado por la FDA en 1988 para su uso como edulcorante en alimentos secos y en el 2002 se aceptó como edulcorante de uso general. El acesulfame de potasio es aproximadamente 200 veces más dulce que la sacarosa. Ha sido aprobado en más de treinta países para ser utilizado en alimentos, bebidas, cosméticos y productos farmacéuticos. Al igual que la sacarina, acesulfame K, tiene un sabor ligeramente amargo y se mezcla a menudo con otros edulcorantes para enmascarar esta característica. Aunque su consumo se considera seguro se han planteado inquietudes con respecto a la dosis dependiente de toxicidad citogenética.

2.2.2 Aspartame

El aspartame fue aprobado inicialmente por la FDA en 1981 con uso limitado y en 1983 su aprobación se extendió a un grupo mayor de alimentos incluyendo bebidas carbonatadas. El aspartame es el edulcorante artificial no cariogénico más ampliamente utilizado, siendo entre 160 y 220 veces más dulce que la sacarosa. Se ha etiquetado como un producto seguro para personas con diabetes pero debe ser evitado por personas con fenilcetonuria.

3. ANTECEDENTES

Se han realizado estudios que evalúan el efecto de bebidas gasificadas sobre la salud bucal. En la mayoría de los estudios se han medido los cambios del pH bucal en ensayos clínicos, mientras que la proliferación de la biopelícula dental se ha cuantificado in vitro y pocos estudios lo han hecho in vivo. Sin embargo, la mayoría de los estudios abarcan población adulta, existiendo poca evidencia en cuanto a población adolescente (Tabla 2), un grupo etario que ha incrementado el consumo de bebidas procesadas.

Tabla 2. Tabla de Evidencias

Ref.	TIPO DE ESTUDIO/ PARTICIPANTES	INTERVENCIÓN	RESULTADOS
Brambilla E. 2014 (38)	<p>Ensayo clínico aleatorizado cruzado.</p> <p>Se incluyeron 20 participantes: 12 hombres y 8 mujeres con edades 19-25 años.</p> <p>Se solicitó a los participantes abstención de cepillado dental 24 horas previas al estudio y no comer o beber (excepto agua) 2 horas previas del estudio.</p> <p>Las muestras fueron tomadas de tres sitios dentales proximales: zona anterior y premolar-molar.</p>	<p>Se prepararon 3 soluciones al 10% de esteviósido, rebaudiósido o sacarosa.</p> <p>Los voluntarios se enjuagaron durante 1 min con cada una de las soluciones.</p> <p>El pH de la biopelícula fue medido a los 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60 minutos después de cada enjuague, con periodo de lavado de 48 horas.</p> <p>In vitro los <i>S. mutans</i> se adicionaron cada solución.</p> <p>El test MTT* se utilizó para los recuentos bacterianos.</p> <p>El pH se midió con electrodo de iridio.</p>	<p>In vitro la formación <i>Streptococcus mutans</i> (biopelícula) fue mayor en la solución de sacarosa ($p \leq 0.01$).</p> <p>In vivo después de 5, 10 y 15 minutos el enjuague de sacarosas produjo un pH de la biopelícula dental significativamente inferior en comparación con los extractos de Stevia ($p \leq 0.01$).</p>

Jawale B. A. 2012 (39)	<p>Ensayo clínico. Se incluyeron 20 participantes. Edades entre 20 y 25 años, quienes presentaron al menos 4 superficies dentales restauradas y sin procesos cariosos activos Se solicitó a los participantes abstención de cepillado dental 48 horas previas al estudio. Las muestras fueron tomadas de 4 sitios dentales interproximales.</p>	<p>Se utilizó refresco regular, refresco dietético y bebidas de alta energía. Los participantes realizaron un enjuague durante 1 minuto con 15 ml de la bebida asignada. El pH de la placa se midió en los cuatro sitios asignados a los 5, 10 y 20 minutos. Los participantes se enjuagaron con agua desionizada para iniciar en tiempos posteriores el mismo procedimiento con las dos bebidas restantes.</p>	<p>El pH mínimo de la biopelícula dental se observó con el refresco regular: 5.76 ± 0.2 y el refresco dietético 6.07 ± 0.48.</p>
Saeed 2010 (40)	<p>Ensayo clínico aleatorizado cruzado. Se incluyeron 25 participantes sanos: 11 varones y 14 mujeres, con una edad media de 11.8 ± 0.6 años, quienes presentaron un índice dental CPO** de 2.32 ± 2.88. Se solicitó abstención de cepillado dental 48 horas previas y de cualquier alimento o bebida 2:30 horas previas. Las muestras de biopelícula fueron tomadas de seis sitios dentales que representaran todos los cuadrantes bucales.</p>	<p>Se evaluaron aleatoriamente las siguientes bebidas: (enjuagues con 15 ml). <ul style="list-style-type: none"> ✓ refresco de cola Pepsi ✓ zumo de naranja (afrutado) ✓ leche (Nido). ✓ sacarosa 10% ✓ sorbitol 10% Periodo de lavado: 7 días. Las muestras fueron diluidas con 20 μl de agua destilada y su pH fue medido a los 0, 2, 5, 10, 15, 20 y 30 minutos posteriores al enjuague.</p>	<p>La máxima caída de pH de la biopelícula dental se observó con el jugo de naranja con una media de $pH 5.79 \pm 0.38$ y el refresco de cola con una media de 5.86 ± 0.29. La menor caída de pH fue observada con la leche.</p>
Miranda A. 2015	<p>Ensayo clínico aleatorizado cruzado y cegado. Se incluyeron 20 participantes (10 hombres y 10 mujeres), con edad media de 36.1 ± 8.0 años.</p>	<p>Se midieron los cambios en el pH salival a los 0, 30, 60 y 90 minutos posteriores a la ingesta de cada uno de los refrescos.</p>	<p>Los refrescos con sacarosa acidificaron la saliva durante los primeros minutos de consumo. Los refrescos con la combinación de sacarosa +</p>

	Se solicitó a los pacientes no consumir edulcorantes artificiales 48 horas previas al estudio y ayuno de 8 horas.	El día 1 recibieron 355 ml de agua carbonatada. Los días 2 a 4 recibieron de forma aleatoria alguno de los tres tipos de refresco de cola: ✓ Coca-Cola® regular. ✓ Coca-Cola® light. ✓ Coca-Cola® life.	Stevia® causaron mayor acidificación que los refrescos con sacarosa exclusivamente.
--	---	---	---

*Reactivo de tetrazolio para ensayos de proliferación celular

**Cariado, Perdido, Obturado

La evidencia obtenida proporciona datos sobre la proliferación bacteriana post intervención, sin embargo, carece de mediciones comparativas pre y post exposición que evidencien su incremento en nichos bacterianos dinámicos. Si bien los estudios anteriores son de buena calidad, las maniobras de intervención no incluyen mediciones simultáneas de la modificación del pH salival, pH de la biopelícula dental y proliferación bacteriana, tomando el agua natural como un control que permita el entendimiento global del fenómeno.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México es el país que ocupa el primer lugar a nivel mundial en el consumo per cápita de refrescos de cola con una creciente aceptación en la población juvenil. Es bien conocido que el consumo de bebidas azucaradas favorece el desarrollo de caries. Como alternativa se han producido opciones sin azúcar pero que contienen compuestos como ácido fosfórico y ácido cítrico que podrían causar modificaciones en el pH bucal y en la biopelícula dental.

Actualmente no se ha evaluado el efecto cariogénico de las bebidas de cola con edulcorantes no calóricos y no calóricos in vivo en cantidades próximas a un consumo habitual que permitan determinar el mantenimiento del pH salival en niveles críticos mediante sus edulcorantes o compuestos ácidos. Por lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los cambios en el pH bucal y la proliferación bacteriana de la biopelícula dental en respuesta a la ingesta de bebidas de cola con endulzantes calóricos y no calóricos en adolescentes?

5. JUSTIFICACIÓN

Los edulcorantes no calóricos y sus compuestos ácidos se han propuesto como seguros para diversos grupos poblacionales; sin embargo, poco se ha mencionado sobre los efectos de sus componentes ácidos sobre la estructura dental. Algunos estudios se han realizado in vitro, encontrándose evidencia limitada con estudios clínicos y el uso de cantidades mínimas del agente agresor.

Se requiere del entendimiento clínico de los factores que interactúan en la cavidad bucal y la modificación del pH posterior a la ingesta de este tipo de bebidas, lo que puede dar lugar a una mejor comprensión de los problemas de salud bucal y permitir la promoción de la salud oral de forma adecuada para desalentar o para fomentar su uso.

La recomendación sobre el consumo de bebidas con edulcorantes es controversial por lo que se requiere evidencia para informar a la población sobre los riesgos potenciales.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo de bebidas gasificadas en el pH bucal y la proliferación bacteriana en adolescentes mexicanos.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

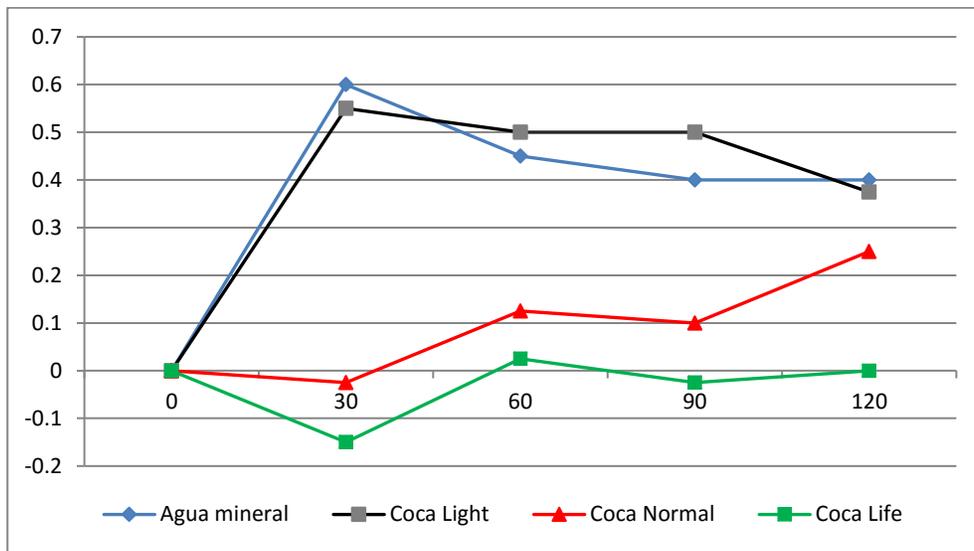
Evaluar los cambios del pH salival y de biopelícula dental posterior a la ingesta de bebidas de cola con sacarosa y aspartame/acesulfame K en adolescentes, comparándolas con agua natural y agua mineral.

Evaluar el crecimiento bacteriano de la biopelícula dental posterior a la ingesta de bebidas con sacarosa, aspartame/acesulfame K, comparándolas con agua natural y agua mineral.

7. HIPÓTESIS

El pH bucal será más ácido (diferencia de 0.65-0.15) en las bebidas que contienen sacarosa en comparación con las bebidas que contienen aspartame/acesulfame K, agua natural y agua mineral, con base a un estudio piloto no publicado, realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2015 por Miranda y col. (Gráfica 1), colocado en la tabla de evidencia.

Gráfica 1. Estudio piloto no publicado realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2015 por Miranda y col.



Se observará mayor proliferación bacteriana de por lo menos 200 unidades formadoras de colonias (UFC) en los medios de cultivo tomados de biopelícula dental a los 120 minutos posteriores a la ingesta de bebidas con sacarosa en comparación con las bebidas que contienen aspartame/acesulfame K, agua natural y agua mineral de acuerdo con el estudio de Brambilla (38).

8. METODOLOGÍA

8.1 Tipo de estudio

Ensayo clínico aleatorizado cruzado, siendo el individuo su propio comparador con las distintas intervenciones.

8.2 Lugar y tiempo de estudio

Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo comprendido del 31 de enero de 2018 a el 15 de febrero 2019.

8.3 Criterios de inclusión

- Adolescentes voluntarios entre 12-18 años.
- Ambos sexos.

- Participantes que no se encuentren bajo tratamiento en el hospital infantil de México Federico Gómez, hermanos de pacientes, amigos, vecinos, compañeros, familiares de segundo grado o hijos de los trabajadores del hospital que deseen participar.
- Consumidores habituales de refresco.
- Que acepten participar en el estudio y firmen la carta de asentimiento.
- Que sus padres firmen carta de consentimiento informado.
- Con cualquier condición nutricia.
- Índice de CPO de por lo menos 3 (con el objetivo de encontrar bacterias en la superficie dental que pudieran ser favorecidas por el consumo de azúcares).

8.4 Criterios de exclusión

- Pacientes con tratamiento de ortodoncia.
- Pacientes con aplicación tópica de fluoruro en los últimos 3 meses.
- Pacientes con discapacidades motrices (relacionadas con la coordinación) o discapacidades físicas (relacionadas con pérdida o ausencia de extremidades superiores).
- Pacientes que consuman fármacos o tengan enfermedades sistémicas que ocasionen xerostomía (síndrome de Sjögren, lupus eritematoso, diabetes mellitus).
- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento médico de cualquier fármaco que disminuya la función salival o bajo tratamiento con antibióticos.
- Pacientes con infecciones activas en la cavidad bucal, evaluado por un odontopediatra.

8.5 Criterios de eliminación

- Participantes que no deseen continuar en el estudio.
- Participantes en quienes por algún motivo no se puedan obtener las muestras de saliva y biopelícula.

8.6 Características de la maniobra de intervención

El contenido de cada uno de los refrescos administrados se describe en la Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de los refrescos

Contenido por cada 200 mL en una lata de 355 mL	Refresco de cola con sacarosa (Coca-Cola® regular)	Refresco de cola con aspartame/acesulfame K (Coca-Cola light®)	Agua mineral (Ciel mineralizada®)
Kcal	148	-	0
Carbohidratos disponibles	37	-	-
Azúcares (gr)	37	-	-
Sodio (mg)	70	70	67
Agua Carbonatada	✓	✓	✓
Jarabe de alta fructosa	✓	-	-
Aspartame y acesulfame K	-	40 mg/100 g	-
Cafeína	34 mg	34 mg	
Ácido	Ácido fosfórico	Ácido fosfórico Ácido cítrico	
pH medido con potenciómetro	3.8	4.0	7.2

8.7 Definición de las variables

Demográficas y descriptivas.

- Edad (cuantitativa, continua).
Se obtendrá de la diferencia de tiempo entre la fecha de nacimiento y la fecha en que se realizó el estudio. El valor fue expresado en años.
- Género (nominal, dicotómica).
Características fenotípicas que clasifican a las personas en hombres o mujeres.
- Peso (cuantitativa continua).
Medición por un solo observador en báscula calibrada marca Torino modelo 5279. Con el paciente en ayuno, con ropa ligera y sin zapatos, se aproximó a la décima de kg más próxima.
- Talla (cuantitativa continua).
Medición realizada por un solo observador con un estadiómetro marca Torino modelo 5379. El paciente deberá encontrarse de pie, en posición recta, se toma la altura desde los pies a la cabeza. El valor expresado en metros.

Hábitos higiénico-dietéticos

- Consumo de bebidas de cola en presentación de lata o botella de al menos 355 mL (cualitativa ordinal).

Frecuencia en el consumo diario de bebidas de cola.

- ✓ 1-2 por día.
- ✓ 3 o más por día.

- Cepillado dental (cualitativa ordinal).

Acto de limpiar los dientes a partir de cepillado con el objeto remover mecánicamente la biopelícula dental.

- ✓ Dos veces por día.
- ✓ Mas de dos veces por día.

Variable predictora

- Tipo de bebida (nominal politómica).
 - ✓ Refresco regular endulzado con sacarosa.
 - ✓ Refresco endulzado con aspartame/acesulfame K.
 - ✓ Agua mineral.
 - ✓ Agua natural.

Variables de resultado

- Determinación del pH salival (cuantitativa continua).
 - ✓ Se obtuvo el pH de saliva de forma basal y a los 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos posteriores a la ingesta de cada tipo bebida.
- Determinación del pH de la biopelícula dental (cuantitativa continua).
 - ✓ Se obtuvo a partir de una muestra homogénea que fue tomada de cuatro sitios dentales representativos a los cuadrantes dentales de forma basal y a los 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos.
- Determinación del crecimiento bacteriano (cuantitativa continua).
 - ✓ Se obtuvo muestra de la biopelícula dental de forma basal y a los 120 minutos posteriores a la toma de refresco.

8.8 Procedimientos

- Se explicó a los participantes los objetivos del estudio, riesgos, beneficios y se solicitó la firma de la carta de consentimiento informado y carta de asentimiento (Anexo 1 y 2).

- Se solicitó que acudieran durante cuatro días con un intervalo de lavado de una semana entre ellos con las siguientes indicaciones:
- Se pidió a los participantes que no consumieran alimentos con edulcorantes artificiales en las 48 horas previas a cada una de las citas. Para cumplir con lo anterior, un Licenciado en Nutrición proporcionó información sobre las bebidas y alimentos en los cuales se puedan encontrar estas sustancias químicas.
- Se dieron indicaciones para una alimentación estandarizada en la cena previa al día del estudio que fue la misma para todos los integrantes y para todos los días previos a cada una de las citas. La cena consistió en: un sándwich de pan integral (2 rebanadas), con queso panela (30g) jamón de pavo (1 rebanada) y mayonesa (1 cucharadita) y leche semidescremada (240ml). La dieta comprende aproximadamente 346 Kcal, con una distribución de 50% de carbohidratos, 26% de proteína y 24% de grasa.
- Se solicitó acudir con ayuno de 2 horas a la cita y sin higiene oral 48 horas previas al estudio.
- En la primera cita se realizó el registro de los datos generales del participante, peso y talla, así como la primera intervención, para la cual todos los participantes recibieron 355 ml de agua natural. En las tres citas posteriores los pacientes recibieron 355 ml de alguno de los tres tipos de refresco. La asignación en la secuencia de refrescos para cada participante fue realizada mediante el programa stata versión 16 mediante el comando ralloc para asignación aleatoria de tratamientos en ensayos controlados (Tabla 4). Los datos fueron recolectados en la hoja de registro (Anexo 3).

Tabla 4. Aleatorización de los participantes

Participante	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
1	Agua natural	verde	morado	roja
2	Agua natural	roja	verde	morado
3	Agua natural	morado	verde	roja
4	Agua natural	roja	morado	verde
5	Agua natural	morado	roja	verde
6	Agua natural	verde	morado	roja
7	Agua natural	morado	verde	roja
8	Agua natural	verde	morado	roja
9	Agua natural	morado	verde	roja
10	Agua natural	morado	verde	roja

11	Agua natural	roja	morado	verde
12	Agua natural	roja	morado	verde
13	Agua natural	roja	verde	morado
14	Agua natural	morado	verde	roja
15	Agua natural	roja	morado	verde
16	Agua natural	azul	verde	roja
17	Agua natural	verde	morado	roja
18	Agua natural	morado	verde	roja
19	Agua natural	roja	verde	morado
20	Agua natural	verde	morado	roja
21	Agua natural	roja	verde	morado
22	Agua natural	morado	verde	roja

Roja: Refresco de cola con sacarosa.

Verde: Refresco de cola con aspartame/acesulfame K.

Morado: Agua mineral.

- El contenido de una lata de refresco de cola fue vertido en vasos desechables de las mismas características para que el paciente no pudiera identificar de manera visual el tipo de refresco recibido. El refresco tuvo una temperatura cercana a los 4°C y fue consumido en un periodo de 10 min. La persona encargada del procedimiento fue la Técnico Dulce Arista.
- Recolección de saliva para análisis de pH
 - ✓ El paciente fue sentado cómodamente para consumir la bebida asignada, junto a él se colocó un potenciómetro HANNA HI 221, HANNA Instruments Inc. Woonsocket-RI-USA hecho en Rumania, con previa calibración del electrodo mediante soluciones buffer de pH 4.0 y 7.0.
 - ✓ El análisis de pH se realizó fuera de boca, solicitando al participante escupir 2 ml de saliva en un frasco estéril de boca ancha de forma basal y en los tiempos indicados.
 - ✓ De forma inmediata a cada tiempo, se determinó el pH de la muestra.
 - ✓ Entre cada lectura el electrodo fue lavado con agua destilada hasta completar el número de muestras requeridas.

- Recolección de biopelícula dental para análisis de pH
 - ✓ De forma basal y en los tiempos indicados se obtuvo biopelícula dental con un explorador estéril mediante remoción de pequeñas muestras en la superficie vestibular de 4 sitios dentales que representan todos cuadrantes bucales (órganos dentales 16, 22, 36 y 42)
 - ✓ El tiempo de recolección se estandarizó en 30 segundos previo adiestramiento, llevando un orden de secuencial y evitando tocar o hacer sangrar los tejidos blandos.
 - ✓ De forma inmediata se colocó la muestra en 2 ml de agua bidestilada estéril y en cada tiempo se realizó la determinación de pH mediante el mismo potenciómetro.

- Recolección de biopelícula dental para análisis de proliferación bacteriana
 - ✓ De forma basal y a los 120 minutos se obtuvieron muestras de biopelícula dental mediante un explorador estéril de sitios dentales que representan todos cuadrantes bucales.
 - ✓ Se depositó la muestra en un tubo de rosca con 5 ml de medio de transporte BHI. (Infusión Cerebro Corazón).
 - ✓ Se incubó durante 2 horas a 37°C
 - ✓ Se depositó una alícuota de 50 microlitros en 4950 microlitros de solución salina fisiológica.
 - ✓ Se depositó la muestra en el vortex hasta homogeneizar.
 - ✓ Se tomaron 100 microlitros de esta dilución para inocular placas de medio de cultivo específico Todd Hewitt.
 - ✓ Con ayuda de un ángulo de vidrio estéril se esparció la muestra uniformemente en toda la superficie del medio de cultivo.
 - ✓ Se incubaron a 37°C, de 24 horas en un entorno suplementado con 10% de CO₂.
 - ✓ Se comparó con la cepa de referencia ATCC (American Type Culture Collection) 35668.

9. MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

El cálculo del tamaño de la muestra para la determinación del pH salival y de biopelícula tomó en cuenta un estudio previo no publicado realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2015, para el cual con un $\alpha=0.05$ y una $\beta=0.8$, diferencia de 0.25 $n=18$, más 20% de pérdidas $n= 22$.

pH

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2 \quad n = 2 \left(\frac{(1.96 - (-0.84)) 0.27}{7.00 - 6.75} \right)^2 = 18$$

$$Z_{\alpha} = 0.05$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\mu_1 = 7.00$$

$$\mu_2 = 6.75$$

$$\sigma = 0.27$$

El crecimiento bacteriano se realizó considerando los datos del estudio de Brambilla et al, para el cual con un $\alpha=0.05$, poder=0.8, diferencia de 200 UFC $n=3$, más 20% de pérdidas $n=4$.

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta}) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2 \quad n = 2 \left(\frac{(1.96 - (-0.84)) 107.31}{429.23 - 146.92} \right)^2 = 4$$

$$Z_{\alpha} = 0.05$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\mu_1 = 429.23$$

$$\mu_2 = 146.92$$

$$\sigma = 107.31$$

El muestreo se realizó por conveniencia, invitando a hermanos de pacientes del hospital y a todos aquellos pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, haciendo extensivo a amigos, vecinos, compañeros, familiares de segundo grado, hijos de los trabajadores que deseen participar y jóvenes de servicio social.

10. PLAN DE ANÁLISIS

Se realizó el análisis descriptivo de acuerdo al tipo de variable. Mediante prueba de normalidad se determinó distribución libre para las variables cuantitativas continuas por lo que su medida de resumen se indicó en mediana e intervalo intercuartílico. Para las variables cualitativas se realizaron estadísticos descriptivos y fueron descritas como porcentajes y frecuencias.

La comparación de las variables de acuerdo a cada uno de los refrescos ingeridos, en los tiempos 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos, para las muestras de saliva y biopelícula dental se realizó mediante análisis de Friedman con ajuste de múltiples comparaciones mediante corrección de Dunne. Se obtuvo la proliferación de la biopelícula dental de forma basal y dos horas posteriores a la ingesta de cada uno de los refrescos para su análisis mediante Wilcoxon, la comparación intergrupo se realizó mediante Kruskal Wallis. Se utilizó el programa estadístico SPSS v. 20 Se consideró significancia estadística con una $p \leq 0.05$.

11. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD

Se trata de un ensayo clínico con riesgo mínimo por lo que a los padres o tutores se les solicitó firma de la carta de consentimiento informado (Anexo 1) y a los adolescentes voluntarios se les solicitó la firma de la carta de asentimiento (Anexo 2).

El requerimiento bioseguridad para el presente estudio se consideró nivel BSL2 debido a que involucró manejo de muestras biológicas de pacientes. El protocolo fue aprobado por los Comités de Investigación, Ética y Bioseguridad del Hospital Infantil de México Federico Gómez con registro HIM 2017-084 SSA 1411 (Anexo 4).

12. RESULTADOS

Para este estudio se contó con la participación de 15 mujeres y 7 varones con consumo diario de al menos una bebida gasificada por día, de las cuales ninguna de ella era light. La mayoría de los participantes realizaban cepillado dental 2 veces por día. El IMC (índice de masa corporal) fue normal en el 50% de la muestra y el pH basal de la biopelícula dental se observó inferior al salival (Tabla 5).

Tabla 5. Características generales de los participantes

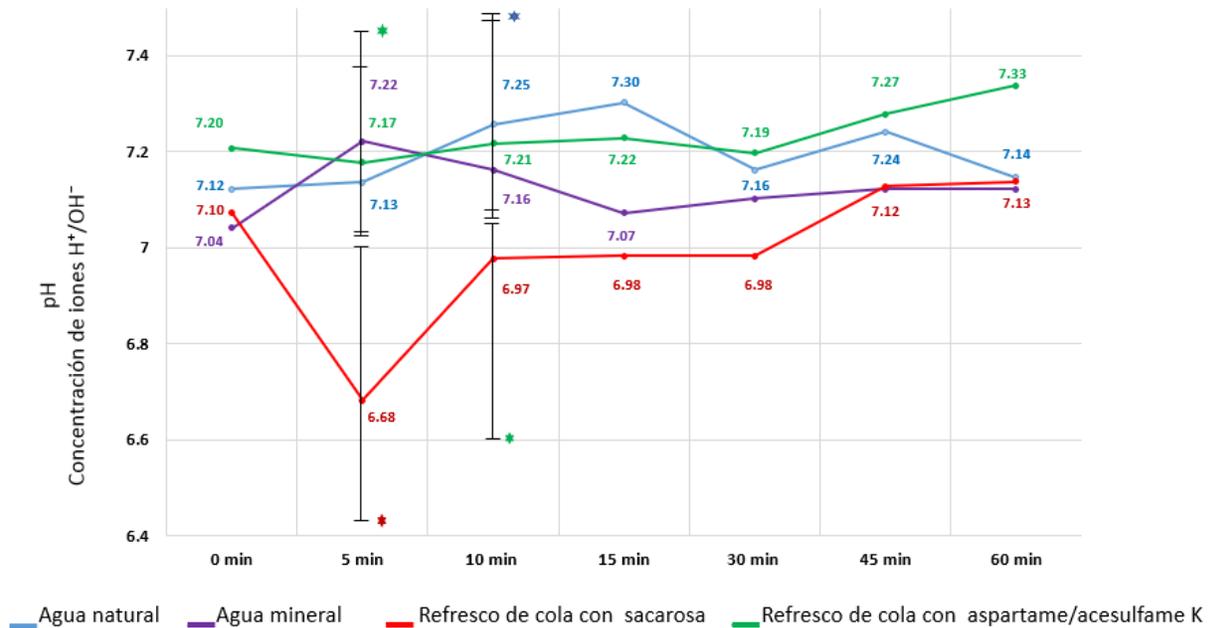
Tamaño de la muestra=22		
Demográficas		
	n	%
Femenino n (%)	15	(68.1)
Edad (años)*	17.0	(17.0-17.0)
Antropométricas		
Peso (Kg)*	65.0	(60.0-73.5)
Talla (m)*	1.61	(1.56-1.68)
IMC (Kg/m ²) *	25.0	(23.6-25.54)
Normal n (%)	11	(50.0)
Sobrepeso n (%)	11	(50.0)
Consumo de refrescos por día		
1-2 n (%)	22	(100.0)
Cepillado dental diario		
2 veces al día n (%)	19	(86.4)
Más de dos veces al día n (%)	3	(13.6)
Bioquímicos		
pH salival basal*	7.08	(6.92-7.32)
pH biopelícula dental basal*	6.58	(6.37-6.84)
Proliferación bacteriana basal*	35x10 ³	(35x10 ³ -40x10 ³)

*Mediana y rango intercuartílico (RIC)

Resultados del pH salival

Durante los primeros 5 minutos posteriores a la ingesta, el pH salival presentó una ligera alcalinización con el agua natural así como con el agua mineral (7.13 y 7.22 respectivamente). La bebida adicionada con aspartame/acesulfame K ocasionó en el pH una ligera acidificación respecto a su basal (7.17), la mayor acidificación se presentó posterior al consumo de refresco de cola con sacarosa (6.68), retornando gradualmente al estado basal. Se identificó que la mayor diferencia en el pH salival se presentó en el minuto 5 y ocurrió entre el agua mineral con una mediana de 7.22 (RIC 7.02-7.36) y el refresco de cola adicionado con sacarosa con una mediana de 6.98 (RIC 6.60-7.00) con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$). Existió semejanza en la modificación que el agua natural y el refresco de cola adicionado con aspartame/acesulfame causaron en el pH salival en los minutos posteriores, tendiendo a una ligera alcalinización posterior al consumo (Grafica 2).

Gráfica 2. Modificación del pH salival

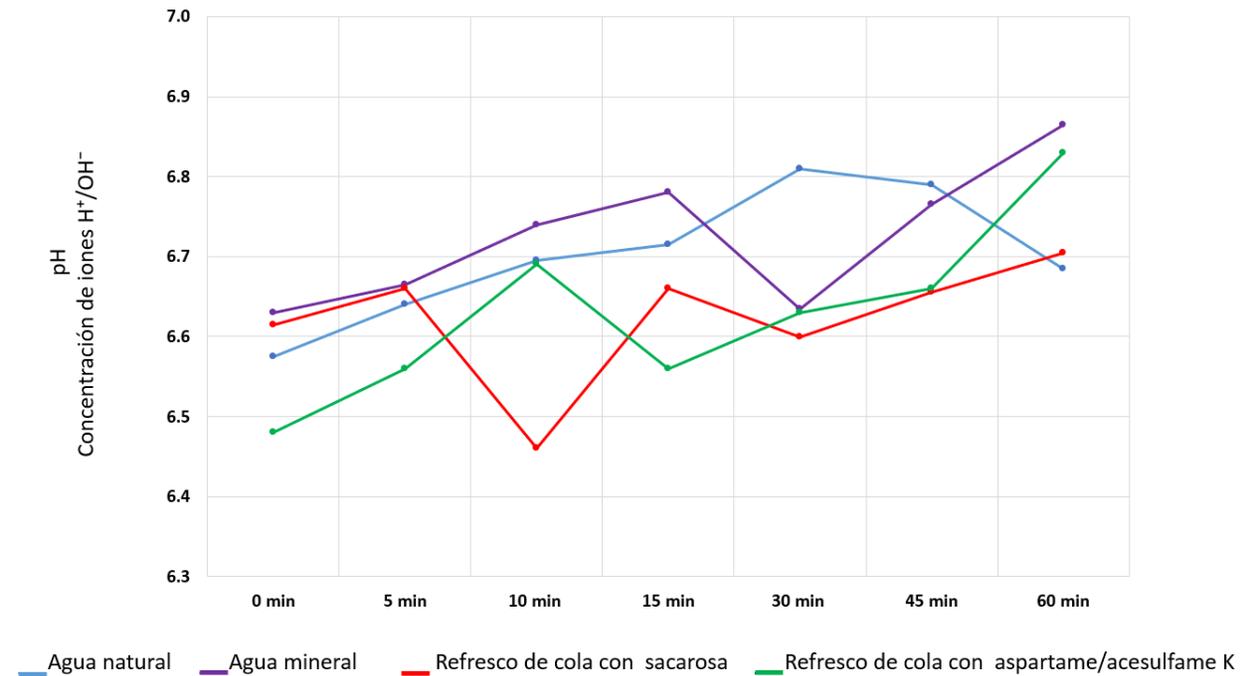


- $p \leq 0.05$
- Refresco de cola con sacarosa vs Agua mineral
 - Refresco de cola con sacarosa vs Refresco de cola con aspartame/acesulfame K
 - Refresco de cola con sacarosa vs Agua natural

Resultados del pH de la biopelícula

En el pH de la biopelícula dental fue posible observar una gran variabilidad, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el efecto de las diferentes bebidas ($p=0.13$) (Gráfica 3).

Gráfica 3. Modificación del pH de la biopelícula dental



Friedman. (p=0.13).

Resultados de la proliferación bacteriana

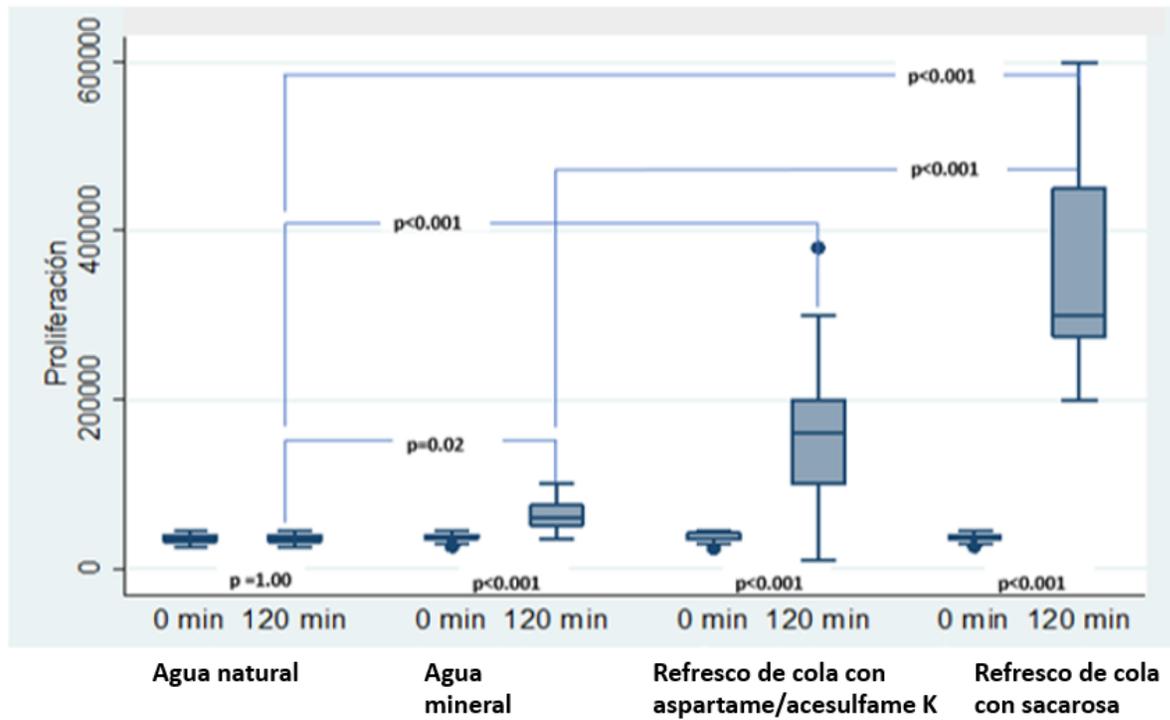
En cuanto a la proliferación bacteriana, el agua natural no ocasionó modificación de forma basal y 120 minutos posteriores su ingesta (Tabla 6). Todas las demás bebidas favorecieron la proliferación, la mayor magnitud fue observada con el refresco de cola adicionado con azúcar (Gráfica 4) con un incremento casi 10 veces mayor al observado con el agua natural ($p \leq 0.05$).

Tabla 6. Proliferación bacteriana intragrupo

Bebida	Basal	120 min	
Agua natural*	35x10 ³ (31.5x10 ³ -40x10 ³)	35x10 ³ (31.5x10 ³ -40x10 ³)	p=1.00
Agua mineral*	36x10 ³ (34.5x10 ³ -40x10 ³)	60x10 ³ (50x10 ³ -76.2x10 ³)	p<0.01
Refresco de cola adicionado con aspartame/acesulfame K*	35x10 ³ (35x10 ³ -42x10 ³)	160x10 ³ (100x10 ³ -200x10 ³)	p<0.01
Refresco de cola adicionado con sacarosa*	35x10 ³ (35x10 ³ -40x10 ³)	300x10 ³ (262.5x10 ³ -475x10 ³)	p<0.01

*Mediana (RIC). Wilcoxon ($p \leq 0.05$).

Gráfica 4. Proliferación bacteriana intergrupo



Análisis mediante prueba de Kruskal Wallis.

13. DISCUSIÓN

Hasta nuestro conocimiento, es el primer ensayo clínico que evalúa in vivo el efecto de bebidas carbonatadas con endulzantes calóricos y no calóricos sobre tres mecanismos cariogénicos (pH salival, pH de la biopelícula dental y cambios en la proliferación bacteriana). Adicionalmente, permite comparar estos factores con controles sin endulzantes como el agua mineral y el agua natural, considerando además dosis de consumo habitual (355 ml).

Como era esperado, observamos acidificación del pH salival en los primeros minutos posteriores a la exposición de la bebida con sacarosa. Este efecto es similar a lo reportado por Sánchez y cols. (41), quienes observaron el mismo resultado posterior a la ingesta de 80 ml del mismo tipo de bebida. Si bien en nuestro estudio, también documentamos una disminución del pH salival (delta de 0.42 ± 0.02), este descenso fue menor al reportado por Sánchez (delta 0.92 ± 0.2). Lo anterior puede ser explicado por las diferencias en las características de la salud bucal entre los participantes de ambos estudios.

Por otro lado, si bien en nuestro estudio la acidificación no alcanzó el punto crítico para un efecto desmineralizante, se debe de considerar que el consumo de estas bebidas generalmente se encuentra acompañado de alimentos que pueden contener otros acidificantes bucales, en donde el tiempo y la frecuencia de exposición pueden presentar un efecto sinérgico con capacidad para alcanzar el punto crítico de $\text{pH} < 5.5$. En nuestro estudio identificamos una menor acidificación tras la ingesta de la bebida con sacarosa, pero un mayor tiempo de pH por debajo del basal en comparación con lo reportado por Sánchez y cols. (41). Lo anterior puede ser explicado por las diferencias en la cantidad de bebida ingerida (355 ml vs 80 ml) y en los tiempos de toma de muestra para la medición del pH.

A pesar de la similitud entre los componentes del refresco adicionado con sacarosa y el adicionado con aspartame/acesulfame K, sus efectos sobre el pH salival fueron diferentes, por lo que se puede atribuir a la sacarosa el potencial acidificante de la saliva y no a la presencia de otros compuestos como el ácido fosfórico y el ácido cítrico. Similar a lo reportado por Uma (42), observamos una ligera alcalinización en el pH salival tras la ingesta del agua mineral, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con las variaciones del pH tras el consumo de agua natural.

El tiempo de acidificación de la biopelícula dental posterior a la ingesta de la bebida de cola con sacarosa fue similar a lo encontrado por Brambilla, Jawale y Ross, con valores máximos de acidificación entre los 5 y 15 min (38, 39, 43). Sin embargo, estos autores reportan mayores niveles de acidificación (pH 5.14 ± 0.5 , 5.72 ± 0.2 y 5.51 ± 0.5 respectivamente) que los identificados en nuestro estudio (pH 6.46, RIC 6.36-6.70). Lo anterior puede ser debido a que estos autores realizaron la toma de muestra de áreas interdetales en donde la difícil accesibilidad de la saliva reduce su efecto buffer (44). Por su parte Saeed (40), al evaluar el pH de la biopelícula dental de superficies vestibulares encontró mayor acidez a la observada en este estudio (5.86 vs 6.46), al utilizar cada bebida como un enjuague durante 1 min, lo cual pudiera haber permitido mayor impregnación de los azúcares en la biopelícula.

En este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las modificaciones del pH de la biopelícula dental ocasionadas por las bebidas. Lo anterior difiere con Brambilla (38), quien identificó mayor acidificación tras la exposición de la bebida con sacarosa ($\text{pH } 5.14 \pm 0.05$) en comparación con la solución con edulcorantes no calóricos como rebaudiósido A ($\text{pH } 7.11 \pm 0.03$) y esteviósido ($\text{pH } 7.06 \pm 0.03$), los cuales difieren de los edulcorantes utilizados en este estudio. Por su parte, Saeed (40) reporta mayor acidificación en el pH de la biopelícula dental tras la ingesta de la bebida de cola con sacarosa ($\text{pH } 5.86 \pm 0.29$) en comparación con la ingesta de leche ($\text{pH } 6.70 \pm 0.25$). Los autores anteriores utilizaron potenciómetros Orión a diferencia de este estudio que utilizó un potenciómetro marca HANNA. En cuanto a los sitios para la toma de muestra estos autores recolectaron biopelícula dental de áreas interdetales a diferencia de nuestro estudio en el cual fue recolectada de superficies vestibulares.

En nuestro estudio pudimos identificar un incremento significativo en la proliferación bacteriana a los 120 min posteriores a la ingesta de la bebida con sacarosa, seguida de la bebida con aspartame/acesulfame K y el agua mineral, mientras que no se observaron cambios significativos tras la ingesta de agua natural. Este efecto de proliferación bacteriana tras la ingesta de bebidas azucaradas y con edulcorantes ya había sido reportado previamente por Brambilla (38), quien encontró el doble de proliferación bacteriana expuesta a sacarosa en comparación con la respuesta tras la exposición de bebida con el edulcorante rebaudiósido. Estos hallazgos sugieren que las bebidas carbonatadas tienen otros compuestos que favorecen la proliferación bacteriana independientes de la sacarosa entre los que se pueden encontrar los edulcorantes y compuestos como el ácido cítrico y fosfórico que pueden favorecer el crecimiento de microorganismos acidófilos. Dentro de las bebidas gasificadas el agua mineral ocasionó el menor incremento bacteriano, lo cual plantea como nueva hipótesis de investigación la probabilidad de favorecimiento bacteriano de esta bebida hacia cepas no acidófilas. El agua natural fue la única bebida inerte y el mejor parámetro para comparación.

Las medidas enfocadas en evitar la desmineralización dental han considerado diversos enfoques, algunos de los cuales proponen la adición de fluoruro o fosfato de calcio en las bebidas procesadas con la finalidad de disminuir su potencial cariogénico (45), sin embargo sus efectos sobre la salud sistémica ha requerido mayores evaluaciones clínicas. La reducción en el consumo de bebidas adicionadas con sacarosa o compuestos ácidos, la remoción efectiva de la biopelícula dental y la implementación de aditivos de higiene interdental continúan siendo medidas sin efectos secundarios dirigidas a mantener un pH saludable.

14. CONCLUSIONES

Nuevamente corroboramos el potencial cariogénico de las bebidas adicionadas con sacarosa, cuyo efecto en la reducción del pH salival fue el mayor en comparación con las demás bebidas analizadas en este estudio. Si bien no se alcanzó el punto crítico, su capacidad acidificante se encuentra aunada a un alto favorecimiento en la proliferación bacteriana, incrementando su facultad en el detrimento de la salud dental.

Así mismo determinamos que, aunque las bebidas con endulzantes no calóricos, no ocasionan modificación sustancial en el pH, pueden generar incremento en la proliferación de la biopelícula dental, sugiriendo que, aunque carecen de sacarosa contienen otros sustratos que en menor magnitud favorecen la proliferación bacteriana.

Aunque las características del agua mineral podrían sugerirla como una medida alcalinizante, se observó mayor proliferación bacteriana posterior a su consumo en comparación con el agua natural, por lo que es importante identificar plenamente los grupos bacterianos a los cuales beneficia.

La única bebida para la cual se sugiere su consumo es el agua natural, la ligera alcalinidad que ocasiona en el pH salival y la ausencia de sustratos para el crecimiento de la biopelícula dental la coloca como la única que no participa en mecanismos cariogénicos.

15. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Fortalezas:

- En este estudio la cavidad bucal se expuso a una dosis estándar de 355 ml, que es la cantidad más próxima al consumo real.
- Se trata de un ensayo clínico aleatorizado cruzado donde se mantiene control de la variable de intervención y cada uno de los participantes es considerado su propio control.
- Se conoció la capacidad para la disminución de pH de las bebidas de cola adicionadas con edulcorantes no calóricos en contraste con las adicionadas con edulcorantes calóricos, tomando en cuenta dos controles negativos que fueron el agua natural y el agua mineral.
- Se conoció la capacidad directa de los componentes ácidos adicionados a los refrescos con edulcorantes no calóricos para la disminución del pH y el tiempo requerido para su recuperación.

Debilidades

- No se analizaron diferencias en las respuestas de acuerdo a la salud bucal de los participantes.
- No fueron incluidos tiempos menores a 5 minutos que pudieran indicar modificaciones de pH menores a este tiempo.
- No se evaluaron distintas dosis de exposición que permitieran observar diferencias los efectos de cada bebida.
- No se evaluó la administración junto a otras bebidas o alimentos, desconociendo la presencia de posibles interacciones.
- Las muestras de biopelícula dental fueron tomadas con explorador dental estéril, probablemente con el uso de curetas tipo Gracey la cantidad de muestra recolectada pudiera encontrarse modificada.
- No se realizó una identificación bioquímica de todas las bacterias que proliferaron en la biopelícula dental.

16. BIBLIOGRAFÍA.

1. Hans R, Thomas S, Garla B, Dagli RJ, Hans MK. Effect of Various Sugary Beverages on Salivary pH, Flow Rate, and Oral Clearance Rate amongst Adults. *Scientifica (Cairo)*. 2016;2016:5027283.
2. Schwendicke F, Lamont T, Innes N. Outcomes in Trials for Management of Caries Lesions (OuTMaC): protocol. *Trials*. 2015;16:397.
3. Vieira AR, Modesto A, Marazita ML. Caries: review of human genetics research. *Caries Res*. 2014;48(5):491-506.
4. Baginska J, Rodakowska E, Milewski R, Kierklo A. Dental caries in primary and permanent molars in 7-8-year-old schoolchildren evaluated with Caries Assessment Spectrum and Treatment (CAST) index. *BMC Oral Health*. 2014;14:74.
5. de Souza AL, Bronkhorst EM, Creugers NH, Leal SC, Frencken JE. The caries assessment spectrum and treatment (CAST) instrument: its reproducibility in clinical studies. *Int Dent J*. 2014;64(4):187-94.
6. Skrivele S, Care R, Berzina S, Kneist S, de Moura-Sieber V, de Moura R, et al. Caries and its risk factors in young children in five different countries. *Stomatologija*. 2013;15(2):39-46.
7. Aamodt K, Reyna-Blanco O, Sosa R, Hsieh R, De la Garza Ramos M, Garcia Martinez M, et al. Prevalence of caries and malocclusion in an indigenous population in Chiapas, Mexico. *Int Dent J*. 2015;65(5):249-55.
8. Garcia-Cortes JO, Mejia-Cruz JA, Medina-Cerda E, Orozco-De la Torre G, Medina-Solis CC, Marquez-Rodriguez S, et al. [Experience, prevalence, severity, treatment needs for dental caries and care index in Mexican adolescents and young adults]. *Rev Invest Clin*. 2014;66(6):505-11.
9. Irigoyen ME, Mejia-Gonzalez A, Zepeda-Zepeda MA, Betancourt-Linares A, Lezana-Fernandez MA, Alvarez-Lucas CH. Dental caries in Mexican schoolchildren: a comparison of 1988-1989 and 1998-2001 surveys. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(5):e825-32.
10. Sanchez-Garcia S, Heredia-Ponce E, Cruz-Hervert P, Juarez-Cedillo T, Cardenas-Bahena A, Garcia-Pena C. Oral health status in older adults with social security in Mexico City: Latent class analysis. *J Clin Exp Dent*. 2014;6(1):e29-35.
11. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries research*. 2020;54(1):7-14.
12. Krzyściak W, Pluskwa KK, Piątkowski J, Krzyściak P, Jurczak A, Kościelniak D, et al. The usefulness of biotyping in the determination of selected pathogenicity determinants in *Streptococcus mutans*. *BMC microbiology*. 2014;14:194.
13. Mathur MR, Tsakos G, Millett C, Arora M, Watt R. Socioeconomic inequalities in dental caries and their determinants in adolescents in New Delhi, India. *BMJ open*. 2014;4(12):e006391.
14. Koo H, Falsetta ML, Klein MI. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. *Journal of dental research*. 2013;92(12):1065-73.
15. González-Aragón Pineda Á E, Borges-Yáñez SA, Irigoyen-Camacho ME, Lussi A. Relationship between erosive tooth wear and beverage consumption among a group of schoolchildren in Mexico City. *Clinical oral investigations*. 2019;23(2):715-23.
16. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*. 2019;7(1).
17. Dige I, Baelum V, Nyvad B, Schlafer S. Monitoring of extracellular pH in young dental biofilms grown in vivo in the presence and absence of sucrose. *Journal of oral microbiology*. 2016;8:30390.
18. Hwang G, Liu Y, Kim D, Sun V, Aviles-Reyes A, Kajfasz JK, et al. Simultaneous spatiotemporal mapping of in situ pH and bacterial activity within an intact 3D microcolony structure. *Scientific reports*. 2016;6:32841.

19. Cevallos Zumarán JF, Aguirre Aguilar AA. Método pronóstico de valoración de riesgo para caries dental por consumo de chocolate %J Revista odontológica mexicana. 2015;19:27-32.
20. All about acid. British dental journal. 2017;222(1):26.
21. Foglio-Bonda PL, Brilli K, Pattarino F, Foglio-Bonda A. Salivary flow rate and pH in patients with oral pathologies. European review for medical and pharmacological sciences. 2017;21(2):369-74.
22. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? Journal (Canadian Dental Association). 2003;69(11):722-4.
23. Ilie O, van Turnhout AG, van Loosdrecht MC, Picioreanu C. Numerical modelling of tooth enamel subsurface lesion formation induced by dental plaque. Caries research. 2014;48(1):73-89.
24. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. The Journal of prosthetic dentistry. 2001;85(2):162-9.
25. Kaur A, Kwatra KS, Kamboj P. Evaluation of non-microbial salivary caries activity parameters and salivary biochemical indicators in predicting dental caries. Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry. 2012;30(3):212-7.
26. Gornowicz A, Tokajuk G, Bielawska A, Maciorkowska E, Jablonski R, Wojcicka A, et al. The assessment of slgA, histatin-5, and lactoperoxidase levels in saliva of adolescents with dental caries. Med Sci Monit. 2014;20:1095-100.
27. Acquier AB, Pita AK, Busch L, Sanchez GA. Comparison of salivary levels of mucin and amylase and their relation with clinical parameters obtained from patients with aggressive and chronic periodontal disease. Journal of applied oral science : revista FOB. 2015;23(3):288-94.
28. Ahmadi-Motamayel F, Falsafi P, Goodarzi MT, Poorolajal J. Comparison of Salivary pH, Buffering Capacity and Alkaline Phosphatase in Smokers and Healthy Non-Smokers: Retrospective cohort study. Sultan Qaboos Univ Med J. 2016;16(3):e317-21.
29. Hideaki W, Tatsuya H, Shogo M, Naruto Y, Hideaki T, Yoichi M, et al. Effect of 100 Hz electroacupuncture on salivary immunoglobulin A and the autonomic nervous system. Acupuncture in medicine : journal of the British Medical Acupuncture Society. 2015;33(6):451-6.
30. Pandey P, Reddy NV, Rao VA, Saxena A, Chaudhary CP. Estimation of salivary flow rate, pH, buffer capacity, calcium, total protein content and total antioxidant capacity in relation to dental caries severity, age and gender. Contemp Clin Dent. 2015;6(Suppl 1):S65-71.
31. Kimoto M, Kishino M, Yura Y, Ogawa Y. A role of salivary carbonic anhydrase VI in dental plaque. Arch Oral Biol. 2006;51(2):117-22.
32. Morou-Bermudez E, Elias-Boneta A, Billings RJ, Burne RA, Garcia-Rivas V, Brignoni-Nazario V, et al. Urease activity in dental plaque and saliva of children during a three-year study period and its relationship with other caries risk factors. Archives of oral biology. 2011;56(11):1282-9.
33. Pliego JTPJMS. Dulce exterminio: refresco y cerveza como causa desencadenante y complicaciones de la diabetes en mayas de Chiapas, México/Sweet extermination: Soda and beer, as trigger cause and complications in diabetics, among high land mayans of Chiapas, Mexico. 2019;12(2):87-95.
34. Silva O P, Durán A S. Bebidas azucaradas, más que un simple refresco. Revista chilena de nutrición. 2014;41:90-7.
35. Moynihan PJ, Kelly SA. Effect on caries of restricting sugars intake: systematic review to inform WHO guidelines. Journal of dental research. 2014;93(1):8-18.
36. Olivier B, Serge AH, Catherine A, Jacques B, Murielle B, Marie-Chantal CL, et al. Review of the nutritional benefits and risks related to intense sweeteners. Arch Public Health. 2015;73:41.
37. Swithers SE, Martin AA, Davidson TL. High-intensity sweeteners and energy balance. Physiol Behav. 2010;100(1):55-62.
38. Brambilla E, Cagetti MG, Ionescu A, Campus G, Lingström P. An in vitro and in vivo comparison of the effect of Stevia rebaudiana extracts on different caries-related variables: a randomized controlled trial pilot study. Caries research. 2014;48(1):19-23.

39. Jawale BA, Bendgude V, Mahuli AV, Dave B, Kulkarni H, Mittal S. Dental plaque pH variation with regular soft drink, diet soft drink and high energy drink: an in vivo study. *The journal of contemporary dental practice*. 2012;13(2):201-4.
40. Saeed S, Al-Tinawi M. Evaluation of acidity and total sugar content of children's popular beverages and their effect on plaque pH. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2010;28(3):189-92.
41. Sánchez GA, Fernandez De Preliasco MV. Salivary pH changes during soft drinks consumption in children. *International journal of paediatric dentistry*. 2003;13(4):251-7.
42. Uma E, Theng KS, Yi LLH, Yun LH, Varghese E, Soe HHK. Comparison of Salivary pH Changes after Consumption of Two Sweetened Malaysian Local Drinks among Individuals with Low Caries Experience: A Pilot Study. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS*. 2018;25(4):100-11.
43. Roos EH, Donly KJ. In vivo dental plaque pH variation with regular and diet soft drinks. *Pediatric dentistry*. 2002;24(4):350-3.
44. Llena Puy C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías %J *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*. 2006;11:449-55.
45. Sardana V, Balappanavar AY, Patil GB, Kulkarni N, Sagari SG, Gupta KD. Impact of a modified carbonated beverage on human dental plaque and salivary pH: an in vivo study. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2012;30(1):7-12.

17. ANEXOS

ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GÓMEZ EFECTO DEL CONSUMO DE BEBIDAS GASIFICADAS SOBRE EL pH BUCAL Y LA PROLIFERACION BATERIANA EN ADOLESCENTES

Su hijo sido invitado para realizar un estudio de investigación en el que se busca medir algunos cambios ocasionados por beber refrescos basados en cola. Este estudio de investigación se llevará cabo en el Hospital Infantil de México. Le informamos que usted puede permitir o no que su hijo participe en él y puede retirarlo en el momento que usted lo desee. Esta investigación pretende obtener información que lleve beneficios a otros pacientes con las mismas características que su hijo. Se le solicita que lea cuidadosamente este documento y realice cualquier pregunta antes de decidir la participación de su hijo.

Finalidad del estudio.

La caries dental continúa siendo una de las enfermedades más comunes que afectan a las personas en todo el mundo, tiene una naturaleza multifactorial que se encuentra íntimamente relacionada con los factores alimenticios. Esta investigación pretende realizar un análisis de las modificaciones del medio bucal y la proliferación de bacterias que ocasionan las diferentes bebidas de cola.

Participación.

Para la participación de su hijo se le solicitara:

- Que su hijo sea un consumidor habitual de refrescos
- No cepillar sus dientes durante las 48 horas previas al estudio
- No beber o comer durante las 2 horas previas al estudio
- Acudir en cuatro ocasiones con intervalos de una semana entre ellas al Hospital Infantil de México Federico Gómez

Procedimiento.

Durante cada una de las citas su hijo deberá beber 355 ml de agua natural y las ocasiones siguientes al azar alguna de las siguientes bebidas en presentación de lata de 355 ml (coca regular, coca light, agua natural o agua mineral). Posterior a la toma de estas bebidas se le tomarán diferentes muestras de la biopelícula acumulada en los dientes y se le solicitará que escupa en diferentes momentos en un frasco estéril.

Riesgos y molestias.

Se solicitará un ayuno de 2 horas y ausencia de cepillado dental durante 48 horas previas al estudio. Es posible que su hijo presente hambre durante este transcurso. Su hijo podrá comer terminada la intervención, lo cual llevará un tiempo de aproximadamente 1 hora. Para este estudio no se solicitarán muestras de sangre.

Beneficios.

Se conocerá cual es el mecanismo de modificación del medio bucal que cada uno de estos refrescos ocasionan en los pacientes, con lo cual se le darán indicaciones específicas a la

población respecto a su consumo. La información de este estudio permitirá conocer la interacción de estos factores alimenticios con el desarrollo de pérdida de estructura dental y proponer guías de prevención adecuadas.

Procedimientos, costos.

La realización de cualquier procedimiento realizado en este estudio no tendrá costo para el paciente.

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad.

Se mantendrá la confidencialidad de los resultados de las muestras de su hijo. El personal que atenderá a su hijo en todo momento se encontrará dispuesto a responder las preguntas respecto a los resultados del estudio o procedimientos realizados. Los resultados siempre son confidenciales y solamente usted y los médicos conocerán los resultados del análisis de las muestras.

Problemas o preguntas:

Cualquier pregunta relacionada con el procedimiento debe comunicarse con los médicos que participan en este estudio al Hospital Infantil de México Federico Gómez, al 52289917 con: Dr. Juan Garduño Espinosa. Dirección de Investigación, ext. 4315 o 4109 o con la Dra. América Liliana Miranda Lora. Medicina basada en evidencias, ext. 4304

Se le reitera que su hijo puede o no participar en el estudio, o bien decidir retirarse del él sin perder ninguno de los beneficios que ya tenga si es que es paciente de este hospital.

Por la presente hago constar que he leído y comprendido las explicaciones de este estudio.

Estoy de acuerdo en participar: Sí _____ No _____

Nombre: _____

Firma: _____

Nombre y firma del participante
Dirección: _____

Nombre y firma testigo 1
Dirección: _____
Relación con el participante: _____

Nombre y firma investigador responsable
Nombre y firma del investigador responsable
Dr. Juan Garduño Espinosa
Dirección de investigación
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez # 162. Col. Doctores.
CP 06720. México DF.

Nombre y firma testigo 2
Dirección: _____
Relación con el participante: _____

Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 4315 o 4109 Fecha: _____

ANEXO 2. CARTA DE ASENTIMIENTO

ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GÓMEZ EFECTO DEL CONSUMO DE BEBIDAS GASIFICADAS SOBRE EL pH BUCAL Y LA PROLIFERACION BATERIANA EN ADOLESCENTES

Introducción. Por medio de la presente se te desea invitar a participar en un estudio de investigación que se llevará cabo en el Hospital Infantil de México.

Finalidad del estudio. En esta investigación se desea obtener información de algunos mecanismos de respuesta en tu cuerpo al consumir diferentes refrescos de cola.

Beneficio. Las enfermedades dentales son unas de las más comunes en la población mundial, incluyendo la población adolescente. Ha sido difícil disminuir la presencia de este tipo de enfermedades debido a que intervienen muchos factores, entre ellos el consumo de bebidas industrializadas. Este estudio otorgará conocimientos que pueden ayudar a comprender los mecanismos en los que interactúan en el desarrollo de enfermedades dentales.

Procedimiento. Para este estudio te pediremos que acudas cuatro días, con un periodo de una semana entre cada uno de ellos. Durante la intervención se te dará a tomar la primera vez agua natural y las veces siguientes algún tipo de refresco de cola o agua mineral. Después de esto se te pedirá que escupas varias veces en un frasco estéril y se te tomaran muestras de la biopelícula que se encuentra en la superficie de los dientes.

Riesgos y molestias. Para este procedimiento no se ocuparán instrumentos que tengan filo o puedan hacerte sangrar. Se te solicitara que una noche antes de que acudas al hospital, cenes una dieta específica, que no comas dos horas antes del procedimiento y que no te cepilles los dientes 48 horas antes del estudio.

Costos. La realización de todo el procedimiento no tiene costo alguno para tu familia.

Preguntas o inconformidades. Ante cualquier duda o problema, puedes comunicarte con las personas que intervienen en este estudio al Hospital infantil de México Federico Gómez al teléfono 52289917. Dr. Juan Garduño Espinosa, ext. 4315 o 4109.

Asentimiento. Puedes decidir no participar en el estudio, o bien en cualquier momento retirarte del estudio.

Estoy de acuerdo en participar: Sí _____ No _____

Nombre: _____

Firma: _____

Nombre y firma del participante

Dirección: _____

Nombre y firma testigo 1

Dirección: _____

Relación con el participante: _____

Nombre y firma del investigador responsable

Dr. Juan Garduño Espinosa

Dirección de investigación Hospital Infantil de México Federico Gómez Dr. Márquez # 162. Col. Doctores.

CP 06720. México DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 4315 o 4109 Fecha: _____

Nombre y firma testigo 2

Dirección: _____

Relación con el participante: _____

ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Hoja previa a toma de muestra.

Fecha (día-mes-año):

Hora (24 horas):

Nombre: Apellido Paterno: Apellido materno:

Edad (años):

Talla (metros):

Peso (Kilogramos):

Marque con un círculo

Género:	1.Hombre	2. Mujer
¿Presenta índice de CPO ≥ 3 ?	Si	No
¿Presenta infecciones activas en la cavidad bucal?	Si	No
¿Se encuentra tomando algún medicamento?	Si ¿Cuál?	No
¿Tiene alguna enfermedad sistémica?	Si ¿Cuál?	No
¿Se encuentra bajo tratamiento de ortodoncia?	Si	No
¿Posee alguna discapacidad física o intelectual? (que le impida llevar a cabo una higiene dental adecuada)	Si	No
¿Le ha sido colocado fluoruro dental en los últimos 3 meses?	Si	No
Frecuencia en el consumo diario de bebidas de cola	1-2 bebidas por día	3 o más bebidas por día
¿Alguna de las bebidas de cola que consume es light?	Si ¿Cuántas?	No
Cepillado dental diario	Dos veces por día	Mas de dos veces por día

Fecha (día-mes-año):

Hora (horario 24 horas):

Nombre:

Numero de intervención:

Color de aleatorización:

¿Cumple con la cena estandarizada? Encierre en un circulo

Si No

¿Cumple con 2 horas ayuno? Encierre en un circulo

Si No

¿Cumple 48 horas de abstención de cepillado dental? Encierre en un circulo

Si No

Toma de registros.							
▪ Muestra salival para pH	0'	5'	10'	15'	30'	45'	60'
Registro							
▪ Muestra de biopelícula dental para pH	0'	5'	10'	15'	30'	45'	60'
Registro							
▪ Muestra de biopelícula dental para cultivo							
Circule la toma de muestra	0'	120'					

¿Presenta alguna molestia o efecto secundario durante el procedimiento?

¿Cuál?

ANEXO 4. ACEPTACIÓN POR EL COMITE DE INVESTIGACIÓN



Ciudad de México, a 25 de septiembre de 2017

DG/1000/ 714 /2017

Dr. Juan Garduño Espinosa
Director de Investigación
Presente

Informo a usted, que los Comités de Investigación, Ética y Bioseguridad, después de haber revisado su protocolo **HIM 2017-084** "Modificación del pH bucal y proliferación bacteriana en adolescentes, posterior a la ingesta de dos tipos diferentes de refrescos de cola", han emitido el dictamen de:

APROBADO

En los términos y condiciones señalados por dichos Comités. Por lo anterior, se autoriza su desarrollo.

Atentamente


Dr. José Alberto Aranda
Director General


28 SEP 2017
11:34 AM
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Con copia:
Lic. Martha Reynoso Robles. Jefa del Departamento de Control y Gestión a protocolos de Investigación

JAGA/JGE/JGC/ash



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD AFILIADO A LA UNAM
DR. MÁRQUEZ 162, COL. DOCTORES. DEL CUAUHTÉMOC, C.P. 06720 MÉXICO D.F.
CONMUTADOR: 5228-9917 EXT. 4315 Y 4100
www.himfg.edu.mx

