



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**  
**CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA**



**DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO SOBRE**  
***STREPTOCOCCUS MUTANS* Y ACTIVIDAD BUFFER SALIVAL DE UNA**  
**PASTA DENTAL QUE CONTIENE NANO-BIO-MOLÉCULA NBELYAX® *IN***  
**VIVO.**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**CIRUJANO DENTISTA**  
**PRESENTA**

**ANA LUISA JIMÉNEZ RODRÍGUEZ**

**DIRECTORA**  
**DRA. MARÍA TERESA DE JESÚS ZARAGOZA MENESES**

**ASESORA**  
**MTRA. OLGA TABOADA ARANZA**

**CIUDAD DE MÉXICO. ENERO 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **Agradecimientos**

Gracias a Dios por todo lo que me ha dado en mi existencia, especialmente por mi familia quien me enseñó los valores de la vida, anteponiendo el amor.

A mi mamá, Ma. Eugenia, por su amor incondicional durante toda mi vida, el cual se ve reflejado en cada acción: paciencia, apoyo, motivación, cuidado. Gracias porque aunque no era tu obligación levantarte tan temprano, ahí estabas, con el desayuno listo y la disposición de tu tiempo a lo que fuera necesario. He aprendido mucho de ti.

A mi papá, José Luis, por su guía perpetua y mostrarme que ante la adversidad no debo darme por vencida, ya que siempre habrá camino por recorrer. Gracias por tu amor y acompañamiento.

A mis tías, Jovita y Mari, por preocuparse y cuidar de mí. Su apoyo y amor incondicional, ha sido fundamental en cada paso de mi vida.

A mis hermanos, Ariadna, Stephany y Jesús, mis acompañantes de vida. Gracias por confiar en mí, apoyar mis decisiones y hacerme saber que nunca voy a estar sola.

A mis abuelos Yolanda, Martín y Francisco, que me cuidan desde el cielo. Gracias a mi Naty, por tenerme presente en sus oraciones.

A Miguel Ángel, agradezco su acompañamiento en cada período de la universidad, por compartir sus conocimientos y amor. Por caminar conmigo en esta etapa donde hay altibajos, pero en ninguno me soltó la mano.

A mis amigos, Bryan y Marú, por su amistad incondicional y ser mi equipo cuando lo he necesitado.

A Dhaniel, mi compañero de esta travesía llamada "tesis", por siempre tener las palabras adecuadas en el momento adecuado.

A mi directora de tesis, Dra. María Teresa de Jesús Zaragoza Meneses, por su cálido recibimiento en el laboratorio desde el primer día, por su comprensión y cariño. Gracias por compartir su conocimiento y orientarme en trabajos de investigación.

A mi asesora, Mtra. Olga Taboada Aranza, por todo el tiempo y paciencia que me brindó, así como su conocimiento.

A mis sinodales, Dr. Rubén Marroquín Segura Rubén, Dra. Alejandra Gómez Carlos, Mtra. Fabiola Adriana Hernández Alonso, por su tiempo dedicado a esta tesis. Reconozco su loable labor como profesores de la facultad.

## ÍNDICE

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>4</b>
<b>Higiene bucodental</b>	<b>4</b>
<b>Caries</b>	<b>5</b>
<b>Sustrato cariogénico</b>	<b>6</b>
<b>Saliva</b>	<b>8</b>
<b>Capacidad amortiguadora salival</b>	<b>9</b>
<b>Microflora bucal</b>	<b>10</b>
<b><i>Streptococcus mutans</i></b>	<b>12</b>
<b>Pasta dental</b>	<b>14</b>
<b>Métodos de fase experimental</b>	<b>18</b>
<b>Cuantificación de <i>Streptococcus mutans</i></b>	<b>18</b>
<b>Determinación de capacidad amortiguadora</b>	<b>19</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVO</b>	<b>21</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>22</b>
<b><i>a) Tipo de estudio</i></b>	<b>22</b>
<b><i>b) Población</i></b>	<b>22</b>
<b><i>c) Definición y operacionalización de variables</i></b>	<b>22</b>
<b><i>d) Técnicas</i></b>	<b>23</b>
<b><i>e) Diseño estadístico</i></b>	<b>25</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>26</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>35</b>
<b>ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES</b>	<b>36</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>37</b>

## INTRODUCCIÓN

La caries dental ha sido un problema bucodental de alta prevalencia a lo largo de la historia, es considerado un problema de salud pública a nivel mundial, así como una de las principales causas de pérdida dental.

La aparición de caries es multifactorial, dentro de estos factores se puede hablar de la población bacteriana que está presente en la biopelícula dental. Una biopelícula sana puede estar formada de 700 especies bacterianas, de las cuales menos del 1% son potencialmente patógenas. Una biopelícula sana actúa como defensa de primera línea en presencia de infecciones por bacterias patógenas.

Cambios en el medio dentro de la biopelícula dental hacen que se favorezca la proliferación de especies patógenas acidúricas y acidógenas.

Desde 1924 con estudios de Clark hasta la actualidad, diversas investigaciones han asociado al *Streptococcus mutans* con la formación de caries dental.

Los altos grados de infección por *Streptococcus mutans* elevan el riesgo de padecer caries, de ahí que existan innumerables estudios epidemiológicos que tienen como fin averiguar la distribución del grado de infección por dicho microorganismo en diferentes poblaciones. Varios medios de cultivo y técnicas se han empleado en la determinación del grado de infección por *Streptococcus*.

La capacidad amortiguadora salival, al mantener el pH bucal constante protege los tejidos bucales contra la acción de ácidos, reduciendo el potencial cariogénico del ambiente.

También a lo largo de los años se han implementado diferentes técnicas y aditamentos para eliminar la biopelícula y con esto disminuir la población bacteriana y en consecuencia la aparición de caries, dentro de ellos la pasta dental.

Nbelyax® es una nueva molécula la cual ha sido aplicada en una pasta dental de nombre “Bio-salud Eion®” de la casa Evite, dicha pasta promete combatir las principales enfermedades bucales, incluida caries dental, sin dañar a la flora natural

y células sanas, controlando el comportamiento biológico y la estructura química del microorganismo y modificándolo de tal manera que pierde su patogenicidad.

Su acción a nivel molecular es cuando se lleva a cabo al entrar en contacto con el material genético, rompe los enlaces moleculares, desarticula su cadena de ADN o ARN y al no haber transferencia de información genética, los microorganismos no generan resistencia alguna.

El presente estudio surge con el propósito de determinar el efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* y actividad sobre la capacidad amortiguadora salival de la pasta mediante un estudio *in vivo*.

## JUSTIFICACIÓN

La caries dental ha sido objeto de estudio desde el principio de la humanidad ya que es una de las enfermedades más comunes en el hombre, por lo tanto, despertó la curiosidad de los estudiosos que se dedicaban a buscar las causas que le daban origen.<sup>1</sup>

La aparición y posterior progreso de la caries se debe a la intervención de cuatro factores primarios como son: la microbiota local representada por las bacterias acidogénicas, el hospedero representado por la saliva y los dientes, la ingesta de carbohidratos y el tiempo.<sup>2</sup>

La función amortiguadora de la saliva se debe principalmente a la presencia del bicarbonato ya que la influencia del fosfato es menos extensa. La capacidad amortiguadora es la habilidad de la saliva para contrarrestar los cambios de pH.<sup>3</sup>

Nbelyax es una molécula de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) y extractos orgánicos sintetizados mediante el método de impregnación. La partícula de tan solo dos nanómetros de diámetro le permite atravesar la cápside de los virus o pared de las bacterias; una vez adentro produce una serie de reacciones químicas que cortan las cadenas del ADN y ARN de los microorganismos, inactivándolos en un periodo de 30 minutos.<sup>4</sup>

Se ha desarrollado una pasta dental que contiene nano-bio-molécula nbelyax®, la cual se ofrece en el mercado como un auxiliar de limpieza dental con efecto antimicrobiano, en este sentido el propósito de esta investigación fue: determinar del efecto antimicrobiano de una pasta dental que contiene nano-bio-molécula nbelyax® *in vivo* sobre el *Streptococcus mutans* y la actividad amortiguadora salival.

## MARCO TEÓRICO

### Higiene bucodental

Según Kroeger (1987), una buena salud oral es importante para el bienestar físico y social. La salud de la cavidad oral es esencial para eliminar fuentes de infección que puede diseminarse hacia el resto del organismo y para eliminar incomodidades sociales.<sup>5</sup>

La placa dentobacteriana constituye un factor causal importante de las dos enfermedades dentales más frecuentes: caries y periodontopatías.<sup>6</sup>

Estudios epidemiológicos han mostrado el beneficio que el cepillado dental tiene en la prevención de la gingivitis, no obstante, no ha sido establecida claramente la asociación del grado de higiene bucal con la índice caries.<sup>7</sup>

Entre los métodos preventivos más importantes está una técnica correcta de cepillado con pasta dental complementada con fluoruro. Otro método es el uso del hilo dental para remover la placa bacteriana alojada en los espacios interdentes; esto evita el riesgo de la caries interproximal. Las visitas al odontólogo deben hacerse dos veces por año; la revisión periódica permite ubicar los factores de riesgo y no sólo detectar una lesión.<sup>32</sup> El cepillado de los dientes es insuficiente para limpiar los espacios interproximales, por lo cual es necesario utilizar hilo dental después del mismo.<sup>6</sup>

Existen otros auxiliares de limpieza como el estimulador interdental, este en caso de tener un espacio interdental muy amplio. El cepillo interdental, que de igual manera se usa en espacios interdentes amplios y en caso de tratamiento ortodóntico y prótesis fija.<sup>8</sup>

Los irrigadores bucales son aparatos que se conectan directo a la llave del agua o tienen un motor para generar un chorro de agua pulsátil, el cual se dirige de manera perpendicular hacia el eje mayor del diente.<sup>8</sup>

A pesar de que hay otros factores implicados en la caries dental, el consumo de los azúcares y la higiene bucal deficiente, facilitan las condiciones fisicoquímicas que dañan la superficie de los dientes, en sentido opuesto, cuando se restringen el consumo de estos hidratos de carbono, alimentos entre comidas y las bebidas, se previene la caries.<sup>9</sup>

Existen métodos químicos de prevención y tratamiento; en el mercado se encuentran antisépticos que combaten los gérmenes de la placa, como es el caso de la clorhexidina. Los enjuagues diarios por períodos de tiempo recomendados por el odontólogo reducen la cantidad de placa bacteriana. Otras medidas de prevención apuntan al uso de sustancias que mejoren la resistencia del huésped a la acción del ácido producido por las bacterias y es así como se recomienda el uso de fluoruro, ya sea por vía sistémica o local. También se preconiza la aplicación de sellantes en las fisuras de las superficies oclusales de molares y premolares jóvenes.<sup>10</sup> Actúan como una barrera de acción inmediata, rellenando las fosas y fisuras del esmalte, impidiendo la entrada de restos alimenticios y de flora microbiana.<sup>11</sup>

## **Caries**

El término “caries” proviene del latín y significa descomponerse o echarse a perder, y caries dental se refiere a la destrucción progresiva y localizada de los dientes.<sup>6</sup>

Se considera un proceso dinámico crónico, infeccioso, transmisible y multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente y progresa lentamente con el tiempo con la subsecuente pérdida de minerales de la superficie dental. Esto se refleja clínicamente como una opacidad del esmalte que puede evolucionar a grandes cavidades que comprometen la dentina, el cemento y la pulpa dental hasta la destrucción total del diente.<sup>30</sup>

Existen distintas clasificaciones para la caries, la Asociación Dental Americana (ADA), propone una clasificación según la ubicación de la lesión: fosas y fisuras, proximal, cervical y radicular.

También propone una clasificación según el estado de la superficie del diente: superficie rígida, lesión inicial, caries moderada y caries avanzada.<sup>31</sup>

El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental, *Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp* de los cuales, *Streptococcus mutans*, es el agente más importante asociado a ella. La complejidad de la enfermedad que conocemos como caries, se debe a los múltiples factores que están asociados con la evolución de una población bacteriana que pasa de una biopelícula saludable a otra patológica.<sup>32</sup>

### **Sustrato cariogénico**

Dentro de los factores que favorecen el desarrollo de la caries dental, uno de los más estudiados es el consumo excesivo de azúcares simples. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre caries y carbohidratos refinados o azúcares, especialmente, la sacarosa o azúcar común. Los azúcares consumidos con la dieta constituyen el sustrato de la microflora bucal y dan inicio al proceso de cariogénesis.<sup>50</sup>

Dentro de los hidratos de carbono, la sacarosa es el de mayor capacidad cariogénica. Se plantea que causa aproximadamente 5 veces más caries que el almidón y que favorece el desenvolvimiento de caries de superficies lisas. Se ha planteado que uno de los factores más importantes en la prevención de la caries es hacer una dieta adecuada. El control individual de la ingesta de azúcar puede producir una reducción de caries tan importante como la lograda por los fluoruros. El problema radica en la dificultad de modificar conductas en forma permanente, de tal manera que pueda afectar la prevalencia de la enfermedad.<sup>51</sup>

La sacarosa, formada por dos monosacáridos simples: la fructosa y la glucosa; se considera el más cariogénico, no sólo porque su metabolismo produce ácidos, sino porque el *Streptococcus mutans* lo utiliza para producir glucano, dextranas, mutanas (poliméros de glucosa) o levanas (poliméros de fructosa), polisacáridos

extracelulares, que le permite a la bacteria adherirse firmemente al diente, inhibiendo las propiedades de difusión de la placa.<sup>50</sup>

Existen pocas dudas de que el cambio en el estilo de vida de la civilización fue lo que determinó un aumento en la prevalencia de la caries dental, refiriéndose principalmente al incremento en la dieta de alimentos blandos que contienen hidratos de carbono (azúcar blanca). Existe una estrecha relación entre el consumo de azúcar y la formación de caries. Ciertas características de los alimentos azucarados (consistencia, textura, adhesión) y las condiciones en las cuales son ingeridos, son más importantes como determinantes de su potencial cariogénico que la cantidad de azúcar que ellos contengan. Los factores que establecen la cariogenicidad potencial de los alimentos azucarados son:

- La consistencia física de la dieta: los alimentos adhesivos son mucho más cariogénicos que los no retentivos. Por ejemplo, una bebida azucarada (tomada rápidamente, no a traguitos) es menos cariogénica que lo que es una confitura o un dulce, independientemente de la cantidad de azúcar que ellos contengan.
- Momento de la ingestión: los alimentos azucarados son más peligrosos si son consumidos entre comidas que durante ellas (postres, golosinas, etc.) Esto tiene que ver con los mecanismos de defensa naturales de la boca, que funcionan al máximo durante las comidas y tienden a eliminar los restos de alimentos que quedan en ella y a neutralizar los ácidos (capacidad amortiguadora) que puedan haberse formado. Por esta razón, acaso el peor momento para ingerir un alimento cariogénico sea inmediatamente antes de ir a acostarse, porque la boca se halla casi en reposo completo durante el sueño.
- La frecuencia: tras la ingestión de azúcar se produce a los pocos minutos una reducción del pH de la placa dental que facilita la desmineralización del diente y favorece la caries, por lo que cuanto más frecuentes sean, más cariogénicos se vuelven.<sup>51,52</sup>

## Saliva

La saliva es una secreción compleja que proviene de las glándulas salivales mayores, parótida, sublinguales y submandibulares - en un 93% de su volumen y el 7% restante de las glándulas menores o secundarias -glándulas labiales, palatinas, genianas y linguales que están distribuidas por toda la cavidad bucal.<sup>33</sup>

La saliva juega un papel crítico en la homeostasis oral, ya que modula el ecosistema dentro de la cavidad bucal. Lubricación del bolo alimenticio, protección contra virus, bacterias y hongos, capacidad amortiguadora , protección y reparación de la mucosa oral y remineralización dental son algunas de las funciones de la saliva. Teniendo esto en cuenta, las alteraciones cuantitativas y/o cualitativas en la secreción salival pueden conducir a una caries local, mucositis oral, candidiasis, infecciones orales, trastornos de la masticación o efectos adversos extraorales, disfagia, halitosis, pérdida de peso.<sup>34</sup>

Diariamente hay una producción del flujo salival que varía entre 500 y 700 ml, considerando que sin estímulo o en reposo se producen alrededor de 0.25 y 0.35 ml/min saliva basal, en condiciones de estímulos externos como son la masticación, la fase previa de digestión y el olor, la producción puede llegar a 1.5 ml/min saliva estimulada y estos dos tipos de secreciones salivales, en condiciones normales, pueden llegar a sumar de 0.8 a 1.5 litros al día.<sup>33</sup>

El pH salival en reposo se puede encontrar en un rango entre 5.7 a 6.2 y la saliva estimulada puede llegar hasta un pH de 8, otros autores mencionan rangos en saliva basal de 6.7 y 7.4, cuando la saliva es estimulada su pH oscila entre 7.5 y 8.4. Esto se debe a que los diferentes estímulos, provocan que la saliva se prepare para proteger los tejidos orales de los cambios ácidos y así poder mantener condiciones normales, esto indica que al aumentar el flujo salival varía el pH pasando a ser menos ácido.<sup>33</sup>

La saliva está compuesta por una variedad de electrolitos, que incluyen sodio, potasio, calcio, magnesio, bicarbonato y fosfatos. También se encuentran en la

saliva las inmunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucinas y productos nitrogenados, como la urea y el amoníaco. Estos componentes interactúan en la función relacionada en las siguientes áreas generales: bicarbonatos, fosfatos y urea actúan para modular el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva; las proteínas macromoléculas y las mucinas sirven para limpiar, agregar y/o unir microorganismos orales y contribuir al metabolismo de la placa dental; calcio, fosfato y las proteínas trabajan juntas como un factor antisolubilidad y modulan la desmineralización y la remineralización; y las inmunoglobulinas, las proteínas y las enzimas brindan acción antibacteriana.<sup>35</sup>

El hecho de que la función protectora de la saliva puede ser superada por la acción bacteriana, indica la importancia de la prevención y la terapia como en otras enfermedades infecciosas. El conocimiento de las propiedades funcionales de la saliva, así como la de sus componentes separados, puede permitir una mejor evaluación de la susceptibilidad a la caries dental.<sup>36</sup>

### **Capacidad amortiguadora salival**

La capacidad amortiguadora es la habilidad de la saliva para contrarrestar los cambios de pH.<sup>3</sup>

La capacidad amortiguadora de la saliva es un factor importante, que desempeña un papel en el mantenimiento del pH salival, y en la remineralización dental. La capacidad amortiguadora de la saliva depende básicamente de la concentración de bicarbonato; se correlaciona con la tasa de flujo salival, como cualquier factor que disminuye la tasa de flujo salival tiende a disminuir su capacidad de amortiguamiento y para aumentar el riesgo de desarrollo de caries.<sup>37</sup>

Los amortiguadores funcionan convirtiendo una solución ácida o alcalina altamente ionizada, la cual tiende a alterar el pH, en una solución más débilmente ionizada (que libere pocos H<sup>+</sup> u OH<sup>-</sup>). El principal amortiguador de la saliva es el bicarbonato, cuya concentración variará de acuerdo con el flujo salival; el fosfato y las proteínas también actúan como amortiguadores salivales.<sup>1</sup>

## Microflora bucal

La cavidad oral es un ecosistema donde cohabitan principalmente comensales (aproximadamente  $10^{10}$  bacterias) pertenecientes a entre 500 y 700 especies, que colonizan las mucosas y dientes donde forman la biopelícula o biofilm.<sup>38</sup>

Solo alrededor del 10% de las células en nuestros cuerpos son realmente del hospedero y el resto son de microbiota humana. Estos microorganismos comensales nos ayudan a resistir los patógenos, educar al sistema inmunológico y proporcionar algunos rasgos que los humanos no evolucionan originalmente con el cuerpo.<sup>39</sup>

La salud oral y la enfermedad dependen de la interacción entre el hospedero y la comunidad microbiana oral. El impacto de la comunidad microbiana en el cambio del equilibrio de la salud a la enfermedad no se puede entender sin una visión integral de una comunidad saludable. Durante los últimos 40 años, se ha acumulado una gran cantidad de conocimientos: más de 250 especies de bacterias orales han sido aisladas y caracterizadas por el cultivo, y más de 450 especies han sido identificadas mediante enfoques moleculares independientes de la cultura.<sup>40</sup>

Del gran número de bacterias que se encuentra en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus* (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*), así como la *Rothia dentocariosa*, han sido asociados con la caries tanto en animales de experimentación como en humanos.<sup>41</sup>

Entender el microbioma bucal es una tarea compleja, debido a la gran variedad de hábitats dentro de la cavidad bucal y esto depende de las concentraciones de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas. Las especies del género *Streptococcus* se encuentran en una alta proporción en tejidos blandos, saliva y en la lengua. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supragingival e infra gingival y en fisuras de la lengua. Otras bacterias como *Veillonella parvula* y *Neisseria* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales. También puede existir

colonización intracelular en células epiteliales de la cavidad bucal por complejos bacterianos constituidos por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. Estudios recientes han demostrado que la mayoría de los microorganismos orales son cultivables; que el microbioma oral es mucho más diverso de lo que se pensaba; y que las infecciones bucales son de naturaleza polimicrobiana.<sup>42</sup>

La cavidad bucal humana ofrece el portal perfecto de entrada a virus y bacterias del medio ambiente, por lo tanto, es uno de los hábitats más densamente poblados del cuerpo humano. Contiene alrededor de 6 mil millones de bacterias y potencialmente 35 veces más de virus, la presencia de grandes comunidades de fagos en la cavidad, implican la aceleración de la diversidad molecular de sus huéspedes bacterianos y tanto huésped como fago mutan para obtener ventajas evolutivas.<sup>42</sup>

Debido a las peculiaridades de los ecosistemas primarios orales y, de forma especial, a la variabilidad, heterogeneidad y cantidad del microbiota, existen numerosos problemas a la hora de conocer con exactitud su composición microbiana. Se han llegado a aislar hasta 200 especies distintas en una misma cavidad bucal en el transcurso del tiempo; la mayor parte tendría la característica de ser transitoria, de forma que como residente solo quedarían unas 20 aproximadamente.<sup>42</sup>

Hay dos tipos de superficies disponibles en la boca humana para la colonización microbiana, incluyendo desprendimiento (mucosa) y superficies sólidas (dientes). Además, la microflora que se adhiere a las superficies se desprende continuamente de la saliva, lo que hace que el microbiota salival sea la "huella digital" del microbioma oral que habita en la superficie oral.<sup>43</sup>

Las bacterias son microorganismos que pertenecen al reino procariota de modo que presentan una estructura celular simple y sin membrana nuclear. Pueden crecer sin el auxilio de un organismo superior, por lo que se dice que son de vida libre. Las bacterias se reproducen por división simple o fisión binaria, lo que en algunos géneros da origen a agrupaciones características, al quedar las células unidas de

determinada forma. No obstante, cada célula es fisiológicamente independiente, vale decir que las bacterias son seres unicelulares. Las formas principales son tres: esférica o coco, alargada o bacilo, incurvada o espiralada.<sup>44</sup>

Los *Staphylococcus* son microorganismos que presentan una colonización transitoria en el individuo. De la misma manera los *Streptococcus* presentan especies patógenas para el organismo humano, mientras que otros forman parte del microbiota normal de la piel y las mucosas en individuos inmunocompetentes, siendo estos últimos oportunistas en situaciones que presenten factores predisponentes como sucede con el estrés o enfermedades consuntivas. A su vez se encuentran los *Enterococcus* que son considerados, patógenos oportunistas, presentes en el microbiota normal del tracto gastrointestinal y son causantes de infecciones en heridas quirúrgicas, infecciones urinarias, además de abscesos intraabdominales. Por su parte y de acuerdo con los requerimientos atmosféricos se pueden clasificar en: aerobios y anaerobios facultativos, representados por la familia de *Micrococaceae* que comprende a los *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stomacoccus* y *Planococcus*, además de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*; existiendo además los anaerobios estrictos, representados por los *Peptococcus* y *Peptoestreptococcus*.<sup>45</sup>

### ***Streptococcus mutans***

*Streptococcus mutans* es un estreptococo  $\alpha$ -hemolítico, que se visualiza como bacilo cuando se aísla de un medio con pH ácido y como cocócea cuando se subcultiva en un medio neutro o alcalino. Esta bacteria fue descrita por Clarke en 1924, quien notó la variación en la morfología con el pH del medio.<sup>46</sup>

El *Streptococcus mutans* es un coco gram positivo que fue aislado e identificado por Clarke, en 1924, a partir de lesiones cariosas en humanos. Lo denominó *Streptococcus mutans* por las formas mutantes en que se presenta: cocobacilo (forma ovalada) en un medio ácido y coco (forma redonda) en un medio alcalino. En cultivos de agar sangre, las colonias de este microorganismo se diferencian fácilmente: altas, convexas, pulvinadas (en forma de cojín) y mucoides, de 0,5 a 1

mm de diámetro, y opacas con un aspecto que recuerda al vidrio esmerilado. Esta bacteria es anaeróbica facultativa, es decir, que puede utilizar el oxígeno para su crecimiento; pero si este no está presente también puede sobrevivir. Sin embargo, su crecimiento óptimo ocurre en anaerobiosis (H<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub>; 10:10:80, durante 48-72h a 37° C). De forma concomitante con la síntesis de dextrano a partir de la sacarosa, las colonias de este microorganismo emiten un exudado acuoso en la superficie del medio de cultivo, a menudo lo suficientemente abundante como para que forme un charco en torno a la colonia. En medios de cultivo con sacarosa este microorganismo está en capacidad de producir polisacáridos extracelulares y adquirir una apariencia opaca, rugosa y blanca, no adherente al medio de cultivo y ocasionalmente rodeada por polímeros de glucano de aspecto húmedo. Estos *Streptococcus* no hidrolizan el almidón y fermentan la inulina, la rafinosa, el manitol y el sorbitol. El *Streptococcus mutans* produce polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa por la acción de dos enzimas: la glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF). La GTF sintetiza dextrano a partir de la glucosa, y la FTF, levanas a partir de la fructosa. El medio más común para el aislamiento de *Streptococcus mutans* es el agar mitis salivarius suplementado con bacitracina 0,2 U/ml y sacarosa al 20 %, que permite la selección de otros estreptococos. El *Streptococcus mutans* se encuentra de forma permanente en la cavidad oral después de la erupción dental, debido a que requiere la presencia de tejido duro no descamativo para colonizar.<sup>47</sup>

Sánchez y col. (2007) estudiaron la distribución de estreptococos cariogénicos, niveles de infección y su asociación con la incidencia de caries, en donde el 80% de los estreptococos correspondieron al grupo mutans, el 20% restante correspondió a otros estreptococos, el 30% de los niños desarrolló caries en el molar estudiado.<sup>48</sup>

Cuando se habla de virulencia de un microorganismo, se está haciendo referencia a su capacidad de producir daño, es decir, generar una enfermedad. Los factores de virulencia son aquellas condiciones o características específicas de cada microbio que lo hacen patógeno. En el caso del *Streptococcus mutans*, los más involucrados en la producción de caries son:

1. Acidogenicidad: el *Streptococcus* puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
2. Aciduricidad: es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.
3. Acidúrico: es la capacidad de un microorganismo de crecer en un medio ácido.
4. Acidofilicidad: el *Streptococcus mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H<sup>+</sup>) fuera de la célula.
5. Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la célula a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.
6. Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno: sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar.
7. Producción de dextranas: Las dextranas y mutanas son (glucanos), polímeros de glucosa con diferentes tipos de enlaces.<sup>49</sup>

## **Pasta dental**

La palabra dentífrico probablemente, entró en uso en 1558. Se deriva del latín dentifricium, es decir, denti (diente) y fricare (frotar). A lo largo de los años, los dentífricos se han empleado para la estética dental, la eliminación de olores de la boca, el fortalecimiento de los dientes y aliviar el dolor dental.<sup>12</sup>

La era microbiana marcó la modificación más importante en relación con la formulación de los dentífricos. A partir de los estudios de Miller en los laboratorios de Koch, cambió el concepto del origen de la caries dental, postulándose que los ácidos producidos en la superficie del diente son producto de la fermentación

bacteriana de los azúcares de los alimentos. Por ello, los científicos iniciaron la elaboración de pastas dentales bajo una nueva perspectiva, con el fin de neutralizar la acidez de la placa dental y los antisépticos para luchar contra los gérmenes.<sup>12</sup>

Más allá de la ilusión cosmética, lo cierto es que el uso de la pasta dental, más un buen cepillado, puede ayudar a prevenir problemas como el mal aliento o la caries dental.<sup>13</sup>

La pasta dental fluorada fue introducida al mercado de los países industrializados a finales de los años 60 y desde entonces su uso se ha extendido en el mundo. El efecto preventivo de este producto ha sido ampliamente demostrado en la literatura científica reciente, por lo que su utilización es ampliamente recomendada para la prevención de la caries dental.<sup>14</sup>

La evidencia científica sobre el papel protector del fluoruro, de forma tópica, sistémica o combinada, en la prevención de la caries es amplia y concluyente, siendo el uso masivo de pastas fluoradas la causa más importante del descenso de la caries en los países desarrollados desde la década de los 70. Sin embargo, la ingesta excesiva de fluoruro en los niños menores de 8 años puede provocar fluorosis dental.<sup>15</sup>

Recientemente, extractos de plantas han sido incorporados a las fórmulas de los dentífricos, que además de desempeñar funciones cosméticas, tienen el objetivo principal de mejorar la acción antimicrobiana y actuar como agentes terapéuticos. La acción terapéutica de los dentífricos no está relacionada únicamente a la presencia del fluoruro en su composición, visando la prevención y o la reversión de lesiones de caries incipientes, sino que también otras sustancias están siendo incorporadas a las fórmulas.<sup>16</sup>

Es conocida la relación existente entre las especies reactivas del oxígeno y el nitrógeno (que provocan estrés oxidativo) con las enfermedades inflamatorias; por lo que extractos de plantas que presentan sustancias como flavonoides, polifenoles

y tocoferol con capacidad antioxidante, en muchas ocasiones a su vez presentan efecto antiinflamatorio.<sup>17</sup>

En la Universidad Católica los Ángeles Chimbote, en Chile, en un proyecto de tesis se registró que entre la pasta dental Colgate total 12 cleanmint, Aquafresh triple protección y un placebo, Colgate total 12 cleanmint mostró mayor reducción del índice de higiene oral estadísticamente significativa en comparación con la pasta dental Aquafresh triple protección la cual obtuvo resultados similares en comparación con el placebo.<sup>18</sup>

Por otro lado, en otros proyectos que comparan la pasta dental de marca Colgate contra otras marcas, en sus resultados no existen diferencias.

El dentífrico que contiene extracto hidroalcohólico de la fruta madura de *Eugenia uniflora* L. presentó una eficacia similar a la del dentífrico Colgate Total 12.<sup>19</sup>

Antes del tratamiento con propóleo, a los 7 días y a los 14 días de tratamiento el número de colonias de *Streptococcus mutans*, tanto en el grupo que se aplicó pasta dental con propóleo como en el grupo control, en todas las fechas el número de *Streptococcus mutans* fueron semejantes lo que hace que no haya diferencias significativas.<sup>20</sup>

Respecto a la necesidad o no del uso de pasta dental teniendo una buena técnica de cepillado el proyecto de tesis realizado en la Universidad Central del Ecuador, muestra que el cepillado de dientes sin pasta dental reduce mayor índice de placa bacteriana que el cepillado de dientes con pasta dental, sin embargo los resultados muestran que tales diferencias no son significativas, por lo que debe considerarse el uso de pasta dental debido a los beneficios adicionales que prestan los dentífricos.<sup>21</sup>

La pasta dental usada en este trabajo es una pasta de la marca Eviter®, llamada "Pasta dental Bio-salud Eion®". La base del producto es una nano-bio-molécula llamada Nbelyax®. No contiene fluoruro ni clorhexidina.

Una molécula es un conjunto de átomos unidos químicamente. La carga eléctrica de las moléculas es neutra.<sup>22</sup>

La nanotecnología es la encargada de englobar cualquier rama de la tecnología capaz de manipular escalas pequeñas con longitudes comprendidas entre 1 nm y 100 nm como estructuras moleculares y sus átomos. Lo conocemos con el término “nano”: lo infinitamente pequeño, lo enano, lo diminuto. Del latín nanus que significa una mil millonésima parte.<sup>23</sup>

Nbelyax es una molécula de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y extractos orgánicos sintetizados mediante el método de impregnación. La partícula de tan solo dos nanómetros de diámetro le permite atravesar la cápside de los virus o bacterias; una vez adentro produce una serie de reacciones químicas que cortan las cadenas del ADN y ARN de los microorganismos, inactivándolos en un periodo de 30 minutos.<sup>4</sup>

La nanopartícula del activo Nbelyax, es un catalizador bio selectivo programado para detectar, seleccionar y neutralizar todo tipo de virus, bacterias, hongos, esporas, tripanosomas y micobacterias (amplio espectro) mediante la desarticulación de su cadena de ADN o ARN. La nanopartícula mide tan solo 2 nm –estudio realizado en la Universidad Autónoma de Nuevo León, utilizando microscopía electrónica de transmisión para la medición de la partícula–, lo que le ha dado la capacidad de penetrar a la cápside de los virus o a las membranas celulares bacterianas o fúngicas, y llegar a su material genético para su interacción. Una vez en contacto con el material genético de los microorganismos, la partícula, siendo del tamaño del diámetro de las hélices helicoidales del ADN o ARN, actúa en la composición química rompiendo las cadenas carbono-carbón y carbono-nitrógeno, y esto representa la destrucción total del microorganismo (un virus oscila entre los 25 a 420 nm, una bacteria puede medir de 500 hasta 5000 nm).<sup>23</sup>

Esta nanopartícula fue patentada en México a través del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) y en 139 países más a través del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes de la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI).<sup>4</sup>

La partícula posee propiedades de bioselectividad que actúan directamente sobre la información genética de los microorganismos, sin dañar al ADN humano (analizado por varias pruebas de toxicidad por el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias), aunque la partícula no daña células sanas aún en concentraciones 1000 veces más altas que otros productos; no altera la química sanguínea, no causa daños hepáticos y no presenta daños oculares. No es carcinogénica ni tóxica, por lo que es completamente inocua.<sup>23</sup>

## **Métodos de fase de experimentación**

### **Cuantificación de *Streptococcus mutans*.**

Uno de los métodos más usados es la técnica de Matsukubo y cols. modificada, cuantificando las UFC de *Streptococcus mutans* en saliva.<sup>24</sup>

Se necesitan 12 Tubos de 13 x 100 mm estériles con 2 ml de caldo mitis-salivarius, telurito de potasio al 0.01% y 0.2 UI/ml de bacitracina, se inocularon 100 µL de saliva de cada muestra, se incubó a 37° C durante 24 h, (los tubos se inclinan a 45° para permitir la adherencia de los microorganismos al tubo), transcurridas las 24 h, se vierte el contenido de los tubos en un recipiente con fenol al 5%, se realiza el recuento de *S. mutans* con una fuente de luz adecuada (previa calibración del revisor) y de acuerdo al número de colonias que se adhirieron al tubo se dio un valor con base en los siguientes criterios: 0 si no aparecen colonias en la pared del tubo. + Si el número de colonias es menor de 10, ++ si el número de colonias es mayor de 10 pero menor a 100, +++ si el número de colonias es mayor de 100 pero menor a 350 y ++++ si es mayor de 350 colonias observándose un aspecto de cristal nevado.

De acuerdo con el valor asignado, la correspondencia del grado de infección se dio como sigue: 0 corresponde a no infectado, + corresponde a infección leve, ++ corresponde a infección moderada, +++ corresponde a infección severa y ++++ corresponde a infección muy severa.<sup>25</sup>

Agar Mitis Salivarius es usado con la Solución telurito de potasio 1 % en el aislamiento *Streptococcus mitis*, *S. salivarius* y *Enterococcus*, en particular de especímenes extremadamente contaminados.<sup>28</sup>

Agar Mitis salivarius fue desarrollado por Chapman para el aislamiento de *Streptococcus* a partir de muestras que contenían flora microbiana mixta.<sup>29</sup>

Agar Mitis Salivarius contienen peptonas como las fuentes de carbón, nitrógeno, vitaminas y minerales. La dextrosa y la sacarosa son fuentes de hidrato de carbono. El cristal violeta y el telurito de potasio (de la Solución telurito de potasio el 1 %) inhiben la mayoría de los bacilos Gramnegativos y bacterias Gram positiva excepto *Streptococcus*. Trypan azul da un color azul a las colonias. Agar es el agente que se solidifica.<sup>28</sup>

Fórmulas agar Mitis Salivarius (Formula Aproximada Por Litro): caseína (6.0 g), Proteosa Peptona el No.3 (9.0 g), Proteosa Peptona (5.0 g), glucosa (1.0 g), sacarosa (50.0 g), Fosfato Dipotasico (4.0 g), Trypan Azul (75.0 mg), Cristal Violeta (0.8 mg), Agar (15.0 g) BBL™ Telurito Solución Estéril del 1 % del 1% de Telurito de Potasio.<sup>29</sup>

En este trabajo se usará Caldo Mitis Salivarius.

### **Determinación de capacidad amortiguadora.**

Determinación de la capacidad amortiguadora de saliva por la técnica de Rodríguez-Miró.<sup>26</sup>

Consiste en determinar la capacidad para neutralizar ácido clorhídrico 0.3N en 300 µl de saliva, agregando gota a gota y utilizando como indicador púrpura de bromocresol y se midió mediante los siguientes criterios:0-3 gotas baja,4-6 gotas media, 7-9 gotas alta y 10- más muy alta.<sup>27</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus*, básicamente las especies *mutans*, ha sido estudiado y asociado a caries.

La caries dental es considerada un problema de salud pública debido a que afecta al 98% de la población mexicana por lo que se han desarrollado diversas medidas para su prevención a dicha problemática, entre estas están el uso de auxiliares de limpieza, como son las pastas dentales.

La industria farmacéutica ha creado una gran variedad de pastas dentales, dentro de la última generación se encuentra una que contiene nano molécula que promete combatir las principales enfermedades bucodentales, incluida caries, inactivando a los microorganismos.

En este contexto nos hacemos la siguiente pregunta de investigación. ¿Es capaz la pasta de dientes Bio-salud Eion® que usa nano-bio-molécula Nbelyax® de inhibir la bacteria *Streptococcus mutans* y modificar la capacidad amortiguadora salival?

## OBJETIVO

Determinar el efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* y la actividad amortiguadora salival que tiene la pasta dental Bio-salud que contiene nano-bio-molécula Nbelyax® in vivo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**a) Tipo de estudio**

Experimental, prolectivo, longitudinal, comparativo.

**b) Población de estudio**

Estuvo conformada por 60 estudiantes que cursan el tercer año de la carrera de Cirujano Dentista de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, con una media de edad de 21.2 ( $\pm$  1.7) años, mínima 19, máxima 28; el 32% (n = 19) correspondieron al sexo masculino y el 68% (n = 41) al femenino, cabe aclarar que en esta carrera predomina el sexo femenino.

**c) Variables. Definición y operacionalización**

Variable	Definición	Operacionalización	Nivel de medición
Sexo	Características fenotípicas del sujeto	Femenino Masculino	Cualitativa nominal
Edad	Tiempo de vida que informa el sujeto	Años cumplidos	Cuantitativa discontinua
Pasta Dental	Sustancia química que se emplea para la limpieza de los órganos dentarios	Eficiente No eficiente	Cualitativa nominal
<i>Streptococcus mutans</i>	Es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2	No infectado Riesgo Alto Medio Bajo	Cualitativa ordinal

	en, aproximadamente, 24 horas.		
Capacidad amortiguadora salival	Habilidad de la saliva para contrarrestar los cambios de pH.	Riesgo: Alto Medio Bajo	Cualitativa ordinal

#### **d) Técnica**

La metódica de la investigación se realizó siguiendo las fases que a continuación se mencionan:

1. Para la valoración inicial, se solicitó a cada estudiante después de haber ingerido alimentos y sin aseo bucal, una colecta de aproximada de 2 ml de saliva en tubos de ensayo estériles—previamente etiquetados para su identificación—.
2. A cada uno de los 60 estudiantes se les proporcionó un cepillo dental –nuevo– y a cada uno de manera aleatoria se le proporcionó pasta dental Colgate total 12<sup>®</sup> o bio-salud o se les dejó sin pasta, con lo cual se crearon 3 grupos de 20 estudiantes a los que se les indicó que ejecutaran su cepillado dental como lo hacen habitualmente y se les pidió que durante la siguiente hora no consumieran alimentos.
3. Pasada una hora, se solicitó a cada estudiante una segunda recolección de aproximadamente 2 ml de saliva en tubos de ensayo estériles y etiquetados para su identificación.
4. Todas las muestras se llevaron al Laboratorio de investigación en Odontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza en donde se realizó la cuantificación de *Streptococcus mutans* y se evaluó la capacidad amortiguadora salival.

La técnica utilizada para la cuantificación de *Streptococcus mutans* fue la propuesta por Matsukubo y cols. modificada, que consiste en inocular 100µl de saliva en tubos de ensayo estériles con 2ml de caldo mitis-salivarius, telurito inclinación de 45° para que se permita la adherencia de los microorganismos al tubo. Transcurridas 24 horas, se vierte el contenido de cada uno de los tubos de ensayo a otro tubo con fenol al 5%, se realiza el conteo de *Streptococcus mutans* con ayuda de una fuente de luz adecuada y de acuerdo con el número de colonias que se adhieran al tubo, con base a la observación del cristal del tubo observándose el aspecto de cristal nevado o vidrio esmerilado.

Se asignó un valor con respecto a los criterios ya establecidos por Matsukubo y cols.

0 no aparecen UFC en la pared    *No infectado*  
+ el número de UFC es menor a 10    *Riesgo bajo*  
++ el número de UFC es mayor a 10 pero menor a 100    *Riesgo medio*  
+++ el número de UFC es mayor a 100 pero menor a 350 y ++++ el número de UFC es mayor a 350 colonias    *Riesgo alto*

De acuerdo a la literatura científica que habla de niveles de riesgo, se re-categorizó para el análisis estadístico de la siguiente manera:

0 no aparecen UFC en la pared    *No infectado*  
+ el número de UFC es menor a 10    *Bajo riesgo*  
++ el número de UFC es mayor a 10 pero menor a 100    *Riesgo medio*  
+++ el número de UFC es mayor a 100 pero menor a 350 y ++++ el número de UFC es mayor a 350 colonias    *Riesgo alto*

La capacidad amortiguadora salival: se realizó con el micro-técnica colorimétrica descrita por Rodríguez Miró, que consiste en determinar la capacidad para neutralizar ácido clorhídrico 0.3N en 300 µL de saliva, agregando gota a gota y

utilizando como indicador purpura de bromocresol valorándose mediante los siguientes criterios:

0-3 gotas baja	Riesgo Bajo
4-6 gotas media	Riesgo medio
7-9 gotas alta	Riesgo Alto
10 y más gotas muy alta	Riesgo Alto

### ***e) Diseño estadístico***

Los datos obtenidos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS V. 25, con el cual se obtuvo la estadística descriptiva de las variables de estudio.

Se calculó la estimación de riesgo con la razón de momios (RM) con un nivel de confianza al 95%, estableciendo como riesgo cuando la  $RM > 1$  y el intervalo de confianza no incluyera al 1 ( $p < 0.05$ ).

La prueba de comparación –para el antes y después–, de las variables cuantitativas fue la  $t$  pareada y para las cualitativas ordinales la prueba Wilcoxon.

## RESULTADOS

Se sabe que el control de la placa bacteriana –biofilm– a través del cepillado y el uso de auxiliares de higiene dental diaria es esencial para prevenir enfermedades bucodentales como la caries o las enfermedades periodontales.

La Federación Dental Internacional (FDI) establece como un patrón básico de la higiene oral personal el cepillado dental por dos minutos con una pasta fluorada (1,500 ppm) por lo menos dos veces al día –después del desayuno y antes de ir a dormir–.

La pasta dental siempre ha sido considerada un buen auxiliar para la higiene oral ya que con ellas se pretende neutralizar los ácidos producidos por las bacterias, en este sentido, las pastas dentales utilizadas en esta investigación fueron Colgate total 12<sup>®</sup> que cubre los requerimientos marcados por la FDI vs. Bio-salud para contrastar la efectividad entre ambas así como la efectividad de estas vs. la técnica de cepillado sin pasta dental.

Las características de la población estudiante de acuerdo a la distribución aleatoria del uso o no de pasta se observa en el cuadro 1, en donde se consideró al sexo masculino y la edad > de 20 años como posibles factores de riesgo.

Al comparar por sexo y por edad, el uso de pasta dental Colgate total 12<sup>®</sup> vs. Bio-salud, Colgate total 12<sup>®</sup> vs. Sin pasta, Bio-salud vs. los que no usaron pasta, no encontraron diferencias estadísticamente significativas ni se mostraron como riesgos.

Cuadro 1. Distribución en porcentaje y frecuencia de asignación aleatoria de pasta dental de los estudiantes

Sexo	n	Pasta dental		
		Bio-salud	Colgate	Sin pasta
Masculino	19	10 (2)	37 (7)	53 (10)
Femenino	41	44 (18)	32 (13)	24 (10)
Edad (en años)				
≤ 20*	25	40 (10)	36 (9)	24 (6)
> 20	35	29 (10)	31 (11)	40 (14)

\* No riesgo percentil 25

La distribución por nivel de riesgo en saliva proporcionada en tubos de ensayo por los estudiantes, inicial –posterior a la ingesta de alimentos y sin aseo bucal– y final –después de la técnica de cepillado con uso o no de pasta dental–, mostró que, en el caso de las colonias de *S. mutans* el 33% (20) de los estudiantes presentaban un riesgo alto, al final solo el 20% (12) seguía en ese nivel de riesgo, ya que la mayoría (78%) paso a tener un riesgo medio e incluso un estudiante se ubicó en un riesgo bajo.

En cuanto a la capacidad amortiguadora el 95% (57) de ellos al inicio se ubicaba en un riesgo alto, al final los estudiantes siguen situados en alto riesgo, ya que solo uno paso al nivel de riesgo bajo.

Una de las funciones de la capacidad amortiguadora es mantener el pH bucal constante, por lo cual esta pasta dental no contiene los ingredientes necesarios para modificarlo.

El pH neutro se conservó antes y después del cepillado dental en el 100% de los estudiantes sin distinción del uso o no de la pasta dental (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución del nivel de riesgo de *S. mutans*, capacidad Amortiguadora y pH de los estudiantes antes y después del cepillado dental

Variable	Inicial	Final
<i>Streptococcus mutans</i>		
Riesgo bajo	0 (0)	2 (1)
Riesgo medio	67 (40)	78 (47)
Alto riesgo	33 (20)	20 (12)
Capacidad amortiguadora		
Riesgo bajo	0 (0)	2 (1)
Riesgo medio	5 (3)	5 (3)
Alto riesgo	95 (57)	93 (56)
Ph		
Neutro (6 a 8)	100 (60)	100 (60)

\*En porcentaje y frecuencia

Al análisis de la distribución por nivel de riesgo en el caso de las colonias de *Streptococcus mutans* en saliva, inicial –posterior a la ingesta de alimentos y sin aseo bucal– y final –después del uso o no de pasta dental–, se observó que, por sexo el 32% (13) de las mujeres y el 37% (7) de los hombres están en riesgo alto, después del cepillado dental el porcentaje de riesgo medio en las mujeres se incrementó a 81% (33) e incluso una de ellas se ubicó en el nivel de riesgo bajo.

Por edad riesgo el porcentaje mayor de los estudiantes mayores de 20 años – antes de la técnica de cepillado– se ubican, 66% (23) en riesgo medio y el 34% (12) en alto riesgo, al final el porcentaje de alto riesgo disminuye tanto para los menores como para los mayores de 20 años de edad (Cuadro 3).

Cuadro 3. Distribución de riesgos de *Streptococcus mutans* de los estudiantes por sexo y edad

Variable	Inicial		Final		
	Medio	Alto	Bajo	Medio	Alto
<b>Sexo</b>					
Masculino	63 (12)	37 (7)	0 (0)	74 (14)	26 (5)
Femenino	68 (28)	32 (13)	2 (1)	81 (33)	17 (7)
<b>Edad</b>					
≤20 <sup>†</sup>	68 (17)	32 (8)	4 (1)	76 (19)	20 (5)
>20	66 (23)	34 (12)	0 (0)	80 (28)	20 (7)

\*En porcentaje y frecuencia, <sup>†</sup>No riesgo percentil 25.

La distribución de riesgos de capacidad amortiguadora de los estudiantes inicial y final indica que, el 95% (39) de las mujeres y el 95% (18) de los hombres tiene una

capacidad amortiguadora de alto riesgo, esto es, la saliva no tiene la capacidad de amortiguar o contrarrestar los cambios de pH para proteger los tejidos bucales contra la acción de ácidos y reducir el potencial cariogénico del ambiente; después del cepillado dental, el porcentaje de riesgo alto y medio se mantiene, solo una estudiante paso a un nivel de riesgo bajo.

Por edad riesgo, el mayor número de casos antes del cepillado se encuentra en alto riesgo para ambos grupos de edad, después del mismo el porcentaje de riesgo bajo y medio se modifica, ya que en los estudiantes de 20 y menos años un caso pasa del nivel medio al bajo y para los > 20 uno de alto riesgo pasa a riesgo bajo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Distribución\*de riesgos de capacidad amortiguadora de los estudiantes por sexo y edad

Variable	Riesgo					
	Bajo	Inicial		Final		
		Medio	Alto	Bajo	Medio	Alto
<b>Sexo</b>						
Masculino	0 (0)	5 (1)	95 (18)	0 (0)	5 (1)	95 (18)
Femenino	0 (0)	5 (2)	95 (39)	2 (1)	5 (2)	93 (38)
<b>Edad</b>						
≤20 <sup>†</sup>	0 (0)	8 (2)	92 (23)	4 (1)	4 (1)	92 (23)
>20	0 (0)	3 (1)	97 (34)	0 (0)	6 (2)	94 (33)

\*En porcentaje y frecuencia, <sup>†</sup>No riesgo percentil 25.

En el cuadro 5, se presenta el análisis realizado para observar si existía una diferencia entre el promedio inicial y final del pH, los resultados obtenidos muestran que, no existe una diferencia estadísticamente significativa del pH de los estudiantes antes y después del cepillado con pasta dental Colgate total 12<sup>®</sup> o Bio-salud o sin pasta, por lo cual se concluye que el uso de las pastas dentales no modifica el pH salival.

Cuadro 5. pH inicial y final de los estudiantes por pasta dental y sin pasta de los estudiantes

Pasta dental	pH			
	Inicial		Final	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Bio-salud	7.1	0.5	7.2	0.7 <sup>a</sup>
Colgate	7.0	0.7	7.3	0.7 <sup>b</sup>
Sin pasta	7.1	0.6	7.2	0.5 <sup>c</sup>

Pba. *t* parizada; <sup>a</sup>p = 0.494, <sup>b</sup>p= 0.096, <sup>c</sup>p= 0.577

Al análisis realizado para observar si existía una diferencia en los valores inicial y final del nivel de riesgo por número de UFC de *Streptococcus mutans* y capacidad amortiguadora de los estudiantes antes y después del cepillado con pasta dental Colgate total 12<sup>®</sup> o Bio-salud o sin pasta, no mostró una diferencia estadísticamente significativa, por lo cual se concluye que el uso de las pastas dentales no modifica ninguno de los dos riesgos, Cuadro 6.

Cuadro 6. *Streptococcus mutans* y capacidad amortiguadora por pasta dental y sin pasta de los estudiantes

Pasta dental	Inicial	Final
	Rango promedio	Rango promedio
S. mutans		
Bio-salud	3.50	3.50 <sup>a</sup>
Colgate	4.50	4.50 <sup>b</sup>
Sin pasta	4.00	4.00 <sup>c</sup>
Capacidad amortiguadora		
Bio-salud	0.00	1.50 <sup>d</sup>
Colgate	0.00	0.0 <sup>e</sup>
Sin pasta	0.00	0.0 <sup>f</sup>

Pba. Wilcoxon; <sup>a</sup>p = 0.102, <sup>b</sup>p = 0.157, <sup>c</sup>p = 0.705, <sup>d</sup>p = 0.157, <sup>e</sup>p = 1.000, <sup>f</sup>p = 1.000

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran lo importante que es darle prioridad a la enseñanza de una correcta técnica de cepillado; Caiza Delgado<sup>21</sup> menciona como parte de sus resultados en su trabajo de tesis “Presencia de la placa bacteriana en niños de 12 años de la Escuela República de Uruguay después del cepillado de dientes con y sin pasta dental” que el cepillado dental sin pasta de dientes es más eficiente a la reducción de placa dentobacteriana que el cepillado de dientes con pasta dental, no existiendo una diferencia estadísticamente significativa. Por lo que menciona que es importante recordar que el uso de pasta dental y una correcta técnica de cepillado son actividades complementarias para prevenir enfermedades bucodentales.

Cayo y colaboradores compararon la eficacia de cloruro de sodio al 5% contra pasta dental y agua sola, concluyendo que con una confianza del 95% que, los tres métodos de cepillado reducen considerablemente el número de colonias.<sup>53</sup>

Los creadores de pastas dentales han buscado y desarrollado diferentes soluciones para tratar enfermedades bucales tales como gingivitis, periodontitis, caries; en casi todas las pastas dentales se ha privilegiado la adición del fluoruro , no obstante esté debe ser usado con precaución en la dosificación por edad y zona geográfica.

Roque y Zabala expresan que el fluoruro es un elemento importante en la formación de los dientes, –con los niveles de consumo adecuados– y que incluso juega un papel importante en la prevención de la caries, al actuar en la desmineralización y remineralización del diente cuando se utiliza sobre todo de manera tópica.<sup>54</sup>

Hay autores como Rivas y Huerta que mencionan que de las principales afecciones que origina la acumulación en grandes cantidades del fluoruro en los tejidos mineralizados es, la fluorosis dental, la cual como se sabe se presenta cuando se conjugan varios factores como lo es, la concentración del fluoruro , la época del año, la temperatura ambiental y la edad de la persona.<sup>55</sup>

En este sentido, el interés de analizar la pasta Bio-salud fue porque está libre de fluoruro y clorhexidina, un inconveniente de la pasta Bio-salud es, su costo y accesibilidad, su compra es en línea por lo que se tiene que pagar el producto –la pasta–, el gasto de envío lo que hace que sea poco accesible para la población, por otro lado las pastas comerciales, específicamente la que se usó para este trabajo es accesible en cuanto a costo y localización para un número más amplio de población.

No debemos olvidar que, el uso por sí solo de una determinada pasta dental no es la solución a los problemas bucodentales, solamente es una parte de la prevención que se complementa con el uso de los demás auxiliares dentales.

## CONCLUSIONES

El efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* y la actividad amortiguadora salival de la pasta dental Bio-salud que contiene nano-bio-molécula Nbelyax® *in vivo*, no mostró diferencias estadísticamente significativas en efecto antimicrobiano con respecto a las pasta de dientes Colgate total 12 y el uso de técnica de cepillado solo con agua.

Por lo que es importante recalcar que la caries al ser una enfermedad multifactorial debe ser tratada con el mismo enfoque, el uso de una pasta dental no garantiza la ausencia de caries, hay que hablar también sobre una correcta técnica de cepillado, de las visitas regulares al dentista y todo lo integra la prevención de caries.

## **ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES**

Según el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de investigación para la Salud, el presente trabajo es clasificado como una investigación para la salud que comprende el desarrollo de acciones que contribuyen a la producción de insumos para la salud, de acuerdo al Título primero, capítulo único, en su artículo 3ro.

Por el tipo de población nos acatamos únicamente en el Capítulo I de El Título Segundo, de los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, clasificando la investigación con riesgo mínimo según el artículo 17 y realizando el consentimiento informado (Anexo 1), según los artículos 20, 21 y 22.

## REFERENCIAS

1. Loyo M, Balda Z, González B, Solórzano P, González A. Actividad cariogénica y su relación con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva. *Acta Odontológica Venezolana*. 1999; 37 (3): 14/1-14/14.
2. Featherstone JB. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1999; 27:31-40.
3. Ericsson Y. Clinical investigations of the salivary amortiguadora ing action. *Acta Odontol Scand*. 1959; 17:131-65.
4. Valencia J. La nano molécula mexicana que salva vidas.. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*[en línea]. 2018. Disponible en: <https://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/noticias/232-la-nanomolecula-mexicana-que-salva-vidas>
5. De la Fuente H, Sifuentes V, Nieto C. Promoción y educación para la salud en odontología. México. Editorial Manual Moderno. 2014.
6. Yoshiko H. *Odontología preventiva*. 2da. edición. México. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 2009.
7. Irigoyen M, Zepeda M, Sánchez L, Molina N. Prevalencia e incidencia de caries dental y hábitos de higiene bucal en un grupo de escolares del sur de la Ciudad de México: Estudio de seguimiento longitudinal. *ADM*. 2001; 58 (3): 98-104.
8. Soria H, Molina F, Rodríguez P. Hábitos de higiene bucal y su influencia sobre la frecuencia de caries dental. *Acta pediátrica de México*. 2008; 29 (1): 21-24.
9. Molina F, Castañeda C, Gaona E, Mendoza R, González M. Consumo de productos azucarados y caries dental en escolares. *Revista Mexicana de Pediatría*. 2004; 71 (1): 14-16.
10. Palomer R. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. *Revista Chilena de Pediatría*. 2006; 77 (1): 56-60.
11. Fernández S, Costa F, Bartolome V, Beltri O, Barros F, Garcia CM, et al. *Manual de prácticas de odontopediatría, ortodoncia y odontóloga preventiva*. Madrid. Editorial Ripano. 2006.
12. Contreras R, Dolores DC, Castillo C, Arteaga M. Dentífricos fluorurados: composición. *Revista Especializada en Ciencias de la Salud*. 2014; 17(2):114-119.

13. PROFECO. Revista del consumidor. Pastas dentales [en línea]. 2003. Disponible en: [https://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est\\_03/pastaden.pdf](https://www.profeco.gob.mx/revista/pdf/est_03/pastaden.pdf)
14. Arana S, Villa E. Uso de pasta dental con fluoruro en niños de 3 a 5 años de la ciudad de Trujillo. Revista Estomatológica Herediana. 2006; 16 (2): 89-92.
15. Gladys G. Agua, fluoruro y recomendaciones para el uso de dentífricos en canarias. Canarias pediátrica. 200; 24 (1): 7-16.
16. Barreto V, Costa F, Joás de Araújo T, Chagas F, Costa L. Acción antimicrobiana in vitro de dentífricos conteniendo fitoterápicos. Avances en odontoestomatología. 2005; 21 (4): 195- 201.
17. García B, Rojo D, García G, Hernández A. Plantas con propiedades antiinflamatorias. Rev Cubana [en línea]. 21(3): 214-216. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002002000300012&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002002000300012&lng=es).
18. Obando I. "Comparación de la efectividad de pastas dentales Aquafresh triple protección y Colgate total 12 cleanmint en la disminución del índice de la placa bacteriana en pacientes tratados en la clínica ULADECH católica – 2015. [Tesis pregrado]. Universidad Católica los Ángeles Chimbote; 2018.
19. De Carvalho J, De Fátima D, De Holanda F, Douglas M, De Queiroz P, Nascimento P. Evaluación in vivo de un dentífrico que contiene extracto de Eugenia uniflora L, sobre los indicadores de salud oral. Revista brasileña en pediátrica y clínica integral. 2009; 9 (1): 81-86.
20. Cruz B. Eficacia de la pasta dental a base de propóleo al 10% en la disminución del Streptococcus mutans en placa dentobacteriana. [Tesis pregrado]. Universidad Alas Peruanas; 2013.
21. Caiza D. Presencia de la placa bacteriana en niños de 12 años de la escuela República de Uruguay después del cepillado de dientes con y sin pasta dental. [Tesis pregrado]. Universidad Central del Ecuador. Quito; 2016.
22. Estructura molecular. Átomos, electrones, neutrones y protones [en línea]. Energía nuclear. 2016. Disponible en: <https://energia-nuclear.net/definiciones/molecula.html>
23. Castro U, Flores M, García J, Alavez S. Esterilización con nanotecnología en Odontología. Odontología Vital. 2016; 14(2): 9-16.
24. Wittman F. Variación de la actividad microbiana bucal en pacientes con cáncer de mama que reciben quimioterapia en el Hospital Santa Rosa. [Tesis licenciatura] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de odontología; 2010.

25. Meneses H, Sánchez F, et al. Índice CPOD, capacidad amortiguadora salival, niveles salivales de *Streptococcus mutans* y anticuerpos IgA, en escolares de la ciudad de México. *Revista ADM*. 2006; LXIII (6):215-219.
26. Rodríguez-Miro M. Avances en estomatología preventiva. Mérida Talleres estudio Bassó, sa. Tomo 2. 1989: 19-20.
27. Hernández F. Efecto de 5 enjuagues bucales no medicados contra *Streptococcus mutans* y capacidad amortiguadora salival. Estudio in vivo. [Tesis licenciatura]. México: Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2016.
28. Agar Mitis Salivarius [en línea]. Scrib. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/124721578/Agar-Mitis-Salivarius>
29. MITIS SALIVARIUS AGAR [em línea]. Tools.thermofisher. Disponible en: <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/IFU1615.pdf>
30. Graciano E, Correa A, Martínez C, Burgos A, Ceballos I, Sánchez L. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. *Revista Nacional de Odontología*. 2012; 8(14): 33-45.
31. Zaragoza M, Bustos D. Actividad antimicrobiana de cinco dentífricos de uso comercial para adultos. *Odontología actual*. 2018; 186 (15): 6-12.
32. Ojeda J, Oviedo E, Salas A. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Revista CES Odontología*. 2013; 26(1): 44-56.
33. Zaragoza M, Velasco M. La saliva auxiliar de diagnóstico. México. UNAM. 2018.
34. Fenoll P, Muñoz M, Sánchez V, Herreros B, Hernández B, Mínguez M, Benages A. Unstimulated salivary flow rate, pH and amortiguadora capacity of saliva in healthy volunteers. *Revista española de enfermedades digestivas*. Madrid. 2004; 96 (11): 773-783.
35. Sue P, Rusell T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The journal of prosthetic dentistry*. 2001; 85 (2): 162- 169.
36. Dowd F. Saliva y caries dental. *Clínicas dentales de América del Norte*. 1999; 43 (4): 579-597.
37. Fenoll P, Muñoz M, Sánchez V, Herreros B, Hernández V, Mínguez M, Benages A. Unstimulated salivary flow rate, pH and amortiguadora capacity of saliva in healthy volunteers. *Revista española de enfermedades digestivas*. 2004; 96 (11). 773-783.

38. Gómez A, Verbel B, Díaz C, Arroyo S. Enfoque hacia la dinámica de la biopelícula oral para el control de enfermedades bucales prevalentes. *Revista Clínica de Medicina Familiar*. 2014; 7(2): 153-155.
39. Jinzhi H, Yan L, Yangpei C, Jin X, Xuedong Z. La diversidad del microbioma oral y su relación con las enfermedades humanas. *Folia Microbiológica*. 2015; 60 (1): 69-80.
40. Keijeser B, Zaura E, Huse S, Van de Vossen J, Schuren F, Montijn R, Ten Cate J, Crielaard W. Análisis de piro secuenciación de la microflora oral de adultos sanos. *Revista de investigación dental*. 2008; 87 (11): 1019-1020.
41. Núñez P, García B. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2010; 9(2): 156-166.
42. Cruz Q, Diaz S, Arias S, Mazón B. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Revista cubana estomatológica*. 2017; 54 (1): 84-99.
43. Fabián TK, Fejérdy P, Csermely P. Genómica salival, transcriptómica y proteómica: el concepto emergente del ecosistema oral y su uso en el diagnóstico precoz del cáncer y otras enfermedades. *Curr Genomics*. 2008; 9:11-21.
44. Negroni M. *Microbiología estomatológica*. Buenos Aires. Médica panamericana. 2004.
45. Quise P, Castillo L. Cocos Gram Positivos. *Revista de actualización clínica*. 2014; 49: 2603-2608.
46. Porte L, Braun J, Dabanch P, Egaña A, Andrighetti D. *Streptococcus mutans*: Una bacteria que hace honor a su nombre. *Revista chilena de infectología*. 2009; 26 (6): 571.
47. Gamboa F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. *Univ. Odontol*. 2014; 33 (71): 65-73.
48. Aguilera G, Sánchez R, Neri R, Aceves M. *Streptococcus mutans* en saliva y su relación con caries dental. *Revista ADM*. 2009; 65 (6): 48-56.
49. Duque De Estrada R, Quiñonez J, Fuentes J, Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. Cubana Estomatol*. 2006; 43(1): 0-0.
50. Muñoz O. Relación de la caries con los carbohidratos. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
51. Bordón NR. PRECONC. Buenos Aires: Edit. Avellaneda; 1992.

52. Vignarajah S. A frequency survey of sugary foods and drinks consumption in school children and adolescent in a West Indian Island. *Antigua Int Den J* 1997;47(5):293-7.
53. Cayo C. et. al. Eficacia del cepillado con cloruro de sodio versus pasta dental en la disminución del *Streptococcus mutans*. *Rev. Ciencia y desarrollo*. 2013; 16 (1):59-68.
54. Roque M. Zavala A. El fluoruro en los dientes, ¿perjuicio o beneficio? *Rev. Universitarios Potosinos*. 2017; 212 (0): 24-29.
55. Rivas G., Huerta V. Fluorosis dental: Metabolismo, distribución y absorción del fluoruro. *Revista ADM*. 2005. 6 (62): 225-229