



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**EFFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL A DIFERENTES
CONCENTRACIONES SOBRE *Streptococcus sanguinis* (ATCC
10556) Y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) PUNO 2019**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ROTCIV ANGINOVI APAZA APAZA

Bach. SHANGHAINESA ASILLO CHOQUEHUANCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2020



DEDICATORIA

Mi tesis se la dedico primero a Dios, por darme sabiduría y fortaleza.

A mis amados padres Humberto y Martina quienes sin ver las limitaciones, me apoyaron sin condición alguna, mi ejemplo de perseverancia.

A mis queridos hermanos quienes me brindaron apoyo moral y por sus palabras de aliento.

Shanghainesa Asillo Choquehuanca



DEDICATORIA

Dedico esta tesis a:

Dios por hacer todo hermoso en su propio tiempo y darme fortaleza para terminar esta etapa de mi vida, en El halla descanso mi alma.

Mis hermanas Cándida y Flor por darme aliento en los momentos de aflicción y ser mi ejemplo de superación, humildad y sacrificio

Mis padres Víctor y Gilma quienes han creído en mí siempre, y me han dado su apoyo incondicional, todo lo que soy es gracias a ellos.

Rotciv Anginovi Apaza



AGRADECIMIENTO

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano – Puno por darnos la oportunidad de realizarnos profesionalmente.

A los docentes de la Escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano, por habernos compartido sus conocimientos durante nuestra formación en el pregrado.

A nuestra asesora Dra. Tania Carola Padilla Cáceres, por sus constantes orientaciones, apoyo moral y culminación de la presente investigación.

Al licenciado Lorgio Palacios Frisancho de la facultad de Medicina, de la Universidad Nacional del Altiplano, por colaborar en la ejecución de la investigación, por brindarnos su tiempo, paciencia y comprensión

A todos aquellos que de alguna manera nos ayudaron directa o indirectamente para la realización y culminación de esta investigación.

Rotciv y Shanghainesa



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN10

ABSTRACT11

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 12

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 13

1.3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO 13

1.4. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN 13

1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN 14

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION15

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES 15

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES 17

2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES 19

2.2. MARCO TEORICO20

2.2.1. PLACA DENTAL, BIOFILM: 20

2.2.2. BACTERIAS PIONERAS EN LA FORMACIÓN DEL BIOFILM DENTAL
..... 22

2.2.2.1 STEPTOCOCCUS SANGUINIS: 23

2.2.2.2 ACTINOMYCES VISCOSUS: 31

2.2.3 XILITOL: 36



CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. AMBITO DE ESTUDIO	42
3.2. TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACION	42
3.3. GRUPO DE ESTUDIO	43
3.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	44
3.5. TECNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.....	45
3.6. MATERIALES.....	45
3.7. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCION DE DATOS:.....	46
3.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	53

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. RESULTADOS	54
4.2. DISCUSIONES	66
V. CONCLUSIONES	69
VI. RECOMENDACIONES	70
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS.....	78

Área: Ciencias de la Salud

Línea: Biología del Sistema Estomatognatico.

FECHA DE SUSTENTACION: 26 de octubre de 2020.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556) a las 24 horas.....	55
Figura N° 2: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556) a las 48 horas.....	57
Figura N° 3: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria <i>Actinomyces viscosus</i> (ATCC 15987) a las 24 horas.....	59
Figura N° 4: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria <i>Actinomyces viscosus</i> a las 48 horas.....	61
Figura N° 5: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y control positivo frente a la bacteria <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 15987) a las 24 Y 48 horas.....	63
Figura N° 6: Prueba estadística de comparación de Tukey de la zona de inhibición con Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y control positivo frente a la bacteria <i>Actinomyces viscosus</i> (ATCC 15987) a las 24 y 48 horas.....	65



ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla N° 1:** Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) a las 24 horas....54
- Tabla N° 2:** Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) a las 48 horas....56
- Tabla N° 3:** Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 24 horas.....58
- Tabla N° 4:** Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 24 horas.....60
- Tabla N° 5:** Comparación del efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% A Las 24 y 48 horas y control positivo (Clorhexidina 0.12%) sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556).....62
- Tabla N° 6:** Comparación del efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% A Las 24 y 48 Horas y control positivo (Clorhexidina 0.12%) sobre la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987).....64



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

AAPD: American Academy of Pediatric Dentistry

ADN: Acido Desoxiribonucleico

ADS: Arginina Diseminada

ARN: Ácido Ribonucleico

ATCC: American Type Culture Collection

CHX: Clorhexidina

CMB: Concentración mínima bacteriana

CMI: Concentración mínima inhibitoria

C.V: Coeficiente de variabilidad

DE: Desviación estándar

DMS: Diferencia mínima significativa

et al: y colaboradores

g: Gramo

GE: Grupo experimental

gl: Grados de libertad

INS: Instituto Nacional de Salud

kg: Kilogramo

LI: Límite inferior

LS: Límite superior

MSA: Agar Mitis Salivarius

m³: Metro cúbico

ml: Mililitro

SAC: Sociedad Anónima Cerrada

TSA: Agar Trypticase de soya



RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), Puno – 2019. El presente estudio fue aplicativo, prospectivo, longitudinal y experimental de diseño cuasi experimental. Se cultivaron 30 placas Petri y en cada placa Petri se distribuyeron 7 discos de papel filtro N° 4, con un diámetro de 6mm, haciendo un total 210 discos de placas. El grupo de estudio estuvo conformado por Cepas de *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, inoculadas en 30 placas Petri, con 21 repeticiones para cada grupo experimental y grupo control, haciendo un total de 210. Se empleó la técnica de cultivo propuesta por el Instituto Nacional de Salud, la detección del efecto inhibitorio fue a través de la prueba de difusión de pocillos con disco de papel filtro por el método de Kirby Bauer. El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Altiplano. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de t de Student para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA para observar la significancia y la prueba de significancia de Tukey. El Xilitol tuvo efecto inhibitorio a través del halo de inhibición de 12.77 mm, 11.97 mm, 11.09 mm, 9.99 mm a las 24 horas para las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25% respectivamente; y de 13.31 mm, 12.51 mm, 11.82 mm, 10.95 mm a las 48 horas sobre *Streptococcus sanguinis*. Con las mismas concentraciones del Xilitol presentaron un halo de 13.11 mm, 12.70 mm, 12.40 mm, 11.85 mm a las 24 horas; y 13.74 mm 13.23 mm, 13.10 mm, 12.83 mm a las 48 horas sobre *Actinomyces viscosus*. El Xilitol si tiene efecto inhibitorio sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), en sus diferentes concentraciones.

Palabras clave: Xilitol, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, efecto inhibitorio.



ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the inhibitory effect of Xylitol at different concentrations on *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) and *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), Puno - 2019. The present study was applicative, prospective, longitudinal and experimental with a quasi-experimental design. 30 Petri dishes were cultured and 7 filter paper discs No. 4, with a diameter of 6mm, were distributed in each Petri dish, making a total of 210 plate discs. The experimental group consisted of Xylitol at concentrations of 25%, 50%, 75%, 100%, Chlorhexidine at 0.12% as a positive control. The culture technique proposed by the National Institute of Health was used, the detection of the inhibitory effect was through the diffusion test of wells with a filter paper disc by the Kirby Bauer method. The research work was carried out in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine of the National University of the Altiplano. For the statistical analysis, the Student's t test was used for data dispersion, the ANOVA test of analysis of variance to observe the significance and the Tukey test of significance. Xylitol has an inhibitory effect through the inhibition halo of 12.77 mm, 11.97 mm, 11.09 mm, 9.99 mm at 24 hours for concentrations of 100%, 75%, 50% and 25% respectively; and 13.31 mm, 12.51 mm, 11.82 mm, 10.95 mm at 48 hours on *Streptococcus sanguinis*. With the same concentrations of Xylitol they presented a halo of 13.11 mm, 12.70 mm, 12.40 mm, 11.85 mm at 24 hours; and 13.74 mm 13.23 mm, Xylitol does have an inhibitory effect on *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) and *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), in its different concentrations.

Key Words: Xylitol, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, inhibitory effect.



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El *Streptococcus sanguinis* es un microorganismo que forma parte del ecosistema oral, pertenece al grupo de *Streptococcus viridans*, forma parte de las bacterias de la cavidad oral y es uno de los colonizadores primarios del *biofilm* es frecuentemente aislado en pacientes con endocarditis bacteriana, de entre este grupo *Streptococcus sanguinis* es la más común Son Gram positivo, catalasa negativa y anaerobios facultativos. (1)

Actinomyces viscosus, es una bacteria Gram positiva antiguamente llamada *Odontomyces viscosus*, morfológicamente es un bacilo que puede presentar forma curva, en barra, filamentosa larga o corta observándose por microscopia como formas ramificadas. Sus colonias son de un color blanco pálido brillante, circulares y de borde entero, esto es típico en un medio de agar sangre. Su factor de virulencia más resaltante son las fimbrias, como la fimbria tipo I, la cual tiene afinidad por las proteínas ricas en prolina y estaterina, así como por la superficie del esmalte dental a través de un mecanismo adhesina-receptor. *Actinomyces viscosus* impera en el Biofilm dental que cubre las lesiones de la superficie de la raíz en los dientes humanos, aunque su papel en el inicio de las mismas es difícil de demostrar, se ha podido determinar que es una de las bacterias que participa en la progresión de la caries dental. (1)

El Xilitol es un derivado hidrogenado de la xilosa, fue descrito por primera vez en 1980, está presente en pequeñas cantidades en frutas, hortalizas, cereales y en el metabolismo de los mamíferos, puede ser fabricado a partir del árbol del abedul, residuos del maíz, tamarindo, caña de azúcar. (2)

Varios estudios han demostrado la eficacia del Xilitol en la prevención de la caries, ya que no es fermentado por las bacterias orales, neutralizando bajos valores de pH en la cavidad oral con efectos beneficiosos sobre la salud oral.(3)

La proliferación de la mayoría de *Streptococcus* orales son inhibidas por el Xilitol esto se atribuye a la formación intracelular de Xilitol 5-fosfato, compuesto que



es tóxico para las bacterias, pero no para los seres humanos. El Xilitol 5-fosfato intracelular inhibe el glicólisis bacteriano de los *Streptococcus*.(2)

El efecto del Xilitol sobre el inicio de la caries y su progresión no se puede atribuir solo a su efecto sobre el *Streptococcus mutans*.

Existen otros estudios donde utilizan diferentes vehículos de administración de Xilitol como los colutorios orales, dentífricos, jarabes, barnices, todos con diferentes resultados, pero ninguno comparado con los resultados beneficiosos obtenidos con las gomas de mascar, caramelos o gomitas. Se debe tener en cuenta que las gomas de mascar son un buen vehículo para algunas poblaciones o grupos de edad. (4) (5) (6) El propósito de la presente investigación fue evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), con la investigación que realizamos esperamos contribuir a disminuir la formación de la placa dental, ya que las bacterias que estudiaremos son las pioneras en la formación del biofilm dental y así prevenir las enfermedades bucales que pudieran presentarse.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

¿Existe efecto inhibitorio del Xilitol a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987)?

1.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio de tipo cuasi experimental, es de relevancia teórica porque el Xilitol fue ampliamente investigado sobre su efecto inhibitorio en *Streptococcus mutans* y en otros microorganismos relacionados en la producción y desarrollo de la caries dental, pero no hay estudios de los efectos del Xilitol sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) ya que estos son los primeros colonizadores de la superficie dental y formadores del biofilm dental, según Ramos y Brañez (2016) quienes estudiaron dichas bacterias.(1) También brindara una contribución científica y una aplicación práctica; proporcionará información que sirva de base, ayuda, consulta, o referencias a futuras investigaciones similares.

1.4 HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

- **Hipótesis alternativa**



El Xilitol muestra efecto inhibitorio sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987).

- **Hipótesis nula**

El Xilitol no muestra efecto inhibitorio sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987).

1.5 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

Objetivo general

Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987)
Puno – 2019

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) en concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) a las 24 y 48 horas.
- Evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol sobre *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) en concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) a las 24 y 48 horas
- Comparar el efecto inhibitorio del Xilitol con el grupo control sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) en concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) a las 24 y 48 horas.
- Comparar el efecto inhibitorio del Xilitol con el grupo control sobre *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) en concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) a las 24 y 48 horas.



CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

2.1.1 Antecedentes Internacionales:

- **Saheer, et al** (2019), en India, estudio el efecto de las gomas de mascar sin azúcar (Xilitol y sorbitol) sobre la placa y la gingivitis en escolares de 14 a 15 años de edad. Se realizó un ensayo controlado aleatorizado de un solo centro, doble ciego, en niños de 14 a 15 años de edad. Se determinó el tamaño de la muestra en 48. Los participantes se asignaron al azar (Xilitol [n = 12], sorbitol [n = 12]) y al grupo control (sin goma, n = 24). Se realizó una evaluación inicial de placa, gingival y puntaje de sangrado, seguida de profilaxis oral. Los niños seleccionados recibieron diariamente dos gomas de mascar (1,1 g cada una) para masticar durante 20 minutos después del desayuno y después del almuerzo. El seguimiento se realiza el 15° día. Hubo una reducción significativa en la placa, gingival y puntaje de sangrado en el grupo de prueba ($P < 0.05$) en comparación con el grupo control. Como conclusión se llegó la goma sin azúcar (Xilitol y sorbitol) redujo significativamente la placa, la encía y el sangrado. (6)
- **Salli, et al** (2016), en Finlandia, estudio los efectos de la sacarosa, el Xilitol y su combinación en tres cepas de *Streptococcus mutans* y una cepa de *Streptococcus sobrinus* utilizando un simulador dental para imitar el entorno de la cavidad oral. Proporcionó un sistema de flujo continuo que utiliza saliva artificial, temperatura constante, mezcla y superficie de hidroxiapatita en la que se estudió la influencia del Xilitol. La combinación de Xilitol y sacarosa disminuyeron las cantidades bacterianas dentro de la saliva artificial y se redujo la colonización en la hidroxiapatita por el aislado clínico de *S. mutans* 2366 ($p < 0.05$). El aumento de la concentración (2% -5%) de Xilitol causó una reducción en los recuentos bacterianos incluso en presencia de sacarosa. Se demostró que dentro de una biopelícula joven, la sacarosa promueve significativamente mientras que el Xilitol reduce la colonización y proliferación bacteriana. Los resultados indican que el Xilitol afecta la capacidad de cepas de *S. mutans* para adherirse a la hidroxiapatita; también han demostrado



que el consumo de Xilitol disminuye la incidencia de caries y reduce la cantidad de placa. (7)

- **Ghezlbash, et al** (2012), En Irán mostraron los efectos del Xilitol y el eritritol al 2% y 4% sobre el crecimiento de *Streptococcus* orales. Se usaron para ello tres especies bacterianas: *S. mutans*, *S. sobrinus* y un aislado clínico de *S. sanguinis* que se cultivaron inicialmente en 5 ml de caldo Infusión Cerebro-Corazón (BHI) con el fin de producir bacterias en fase logarítmica. El ensayo microbiano de estos edulcorantes se realizó mediante el método de difusión en Agar, que se incubaron durante 48 horas a 37°C. Los controles incluyeron agua destilada y tetraciclina. Los efectos inhibidores se determinaron por la medida del diámetro de la zona de inhibición del crecimiento. Resultados: demostraron que tanto el Xilitol como el eritritol inhibieron el crecimiento de todos los *Streptococcus* estudiados, con la solución al 4% dieron como resultado 68% y 71% para *S. mutans*, 72% y 76% para *S. sobrinus* y 65% y 77% para *S. sanguinis*, respectivamente. En conclusión, el eritritol es más eficaz que el Xilitol sobre la inhibición del crecimiento de cepas de *Streptococcus*.(8)
- **Orellana** (2016), en Quito Ecuador, evaluó el mejor efecto inhibitorio del Xilitol en diferentes concentraciones y en dos períodos de tiempo de exposición, sobre *Streptococcus mutans* aislado de la saliva de niños de 6 a 7 años. Fueron recolectadas muestras de saliva de los niños; se sembró 1 ml de la muestra en Agar Mitis salivarius enriquecido (Bacitracina, Telurito y Sacarosa), se incubaron a una atmósfera de CO₂ a 37°C durante 48 horas. Para las diferentes concentraciones de Xilitol, se preparó una solución disolviendo 30,43g de Xilitol en 100 ml de agua destilada, se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15min, las muestras se sembraron en el Xilitol a distintas concentraciones, obteniéndose los siguientes grupos: G1: Xilitol al 0,1%, G2: Xilitol al 0,5%, G3: Xilitol al 1%, G4: Xilitol al 5%, G5: Xilitol al 12%, G6: Xilitol al 18%, se realizó mediciones de la densidad óptica a las 24 y 48 horas con el espectrofotómetro Eppendorf BioPhotometer D30 con filtro de 600nm. El Xilitol mostró efecto inhibitorio en todas las concentraciones $p(<0,05)$ a las 24 horas, con excepción del 12% $p=0,008$ y el 18% $p=0,13$ a las 48 horas.(9)



-**Trahan** (2009), en Canadá, explicó cómo el Xilitol, interfiere con el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Se encontró que la cepa sensible a Xilitol de *S. mutans* 27352 (serotipo g) y LG1 (serotipo c) absorbió C-Xilitol cuando el pentitol marcado se añadió a las células que crecían a expensas de la glucosa. El Xilitol se fosforiló a expensas del fosfoenol piruvato por células toluenizadas de *S. mutans* LG1, pero no por células toluenizadas de GS5-2 y *S. mutans* LG1 X^R. La fosforilación del Xilitol dependía del fosfoenolpiruvato y requería la presencia de fracciones celulares tanto solubles como de membrana en la mezcla de reacción. Esto indicó que el Xilitol fue transportado y fosforilado por un sistema de fosfoenolpiruvato: azúcar fosfotransferasa. La fosforilación dependiente de fosfoenolpiruvato por membranas aisladas de *S. mutans* LG1 en presencia de la fracción soluble fue inhibida por fructosa, pero no por glucosa, manosa o galactosa. La medición de las actividades de fosfoenolpiruvato: fosfotransferasa en una membrana aislada reveló que la cepa 27352 y LG1 tenían actividades para la fructosa y el Xilitol; Membrana desde 27352 X^R y LG1 X^R tuvo muy poca actividad para la fructosa y el Xilitol. Se concluyó que el Xilitol fue transportado y fosforilado por un sistema constitutivo de fosfoenolpiruvato: fructosa fosfotransferasa en *S. mutans*. Los datos sugieren que la toxicidad del Xilitol en *S. mutans* es causada por la acumulación intracelular de fosfato de Xilitol. (10)

2.1.2 Antecedentes Nacionales:

- **Tovar Huaynate, et al.** (2016), En Lima demostró la actividad antimicrobiana de la Stevia en comparación con el Xilitol, frente a los *Streptococcus mutans*. Este estudio fue de carácter experimental; se llevó al laboratorio microbiológico cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y se hizo el cultivo sobre Agar Mueller Hinton (OXOID) con sangre de cordero defibrinada y se comparó el efecto antimicrobiano de la Stevia y el Xilitol utilizando la técnica de Agar difusión con bacterias y perforación en placa, como control positivo se utilizó clorhexidina al 2 % y el control negativo el agua; se colocaron en campanas de incubación a 37 grados Centígrados y se evaluaron a las 24, 48 horas después para determinar el efecto de estos extractos sobre el crecimiento de las bacterias. Resultados: demostraron que la Stevia presentó halos de inhibición bacteriana de 13,2 mm a las 24 horas y 14,61 mm a las 48 horas, mientras que con el Xilitol se formaron halos de inhibición más pequeños, de 8,6 mm a las 24 horas y de 9,51 mm a las



- 48 horas de control. La clorhexidina al 2% logró los halos más grandes, de 25,86 mm. En conclusión, la *Stevia* tiene alta inhibición de la actividad microbiana frente al *S. mutans* en comparación al Xilitol.(11)
- **Brañez** (2018), en Lima determino el efecto antibacteriano del extracto de *Stevia rebaudiana* (*S. rebaudiana*) frente a *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) y *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*). Se realizó cultivos de cepas de *S. sanguinis* y *A. viscosus* en placas de agar tripticasa soya (TSA) y agar sangre respectivamente, incubando a 37 °C por 48 horas a *S. sanguinis* y por 7 día en condiciones de anaerobiosis a *A. viscosus*. Las cepas bacterianas fueron estandarizadas una escala de 0,5 de Mc Farland, y tomando inóculos de 100 µL fueron sembradas en diez placas de agar sangre y TSA, luego sobre cada placa se colocaron los discos de papel secante de 6 mm de diámetro de forma equidistante, cargados con 10 µL de las diferentes concentraciones del extracto, para luego ser incubados. Las concentraciones de 15, 30, 50, 60 y 120 mg/ml presentaron un halo de inhibición promedio de 6,8±0,258; 8,2±1,15; 8,2±1,13; 8,3±0,823; 8,1±0,80 mm respectivamente, para las bacterias de *S. sanguinis*. Las concentraciones de 15, 30, 50, 60 y 120 mg/ml presentaron un halo de inhibición promedio de 7,2±0,75; 9,65±2,15; 9,20±2,03; 7,95±1,09; 8,05±0,96 mm respectivamente, para las bacterias de *A. viscosus*. (12)
 - **Sihuinta** (2016), en Arequipa, evaluó el efecto de los edulcorantes Xilitol y *Stevia* sobre el pH salival, además de compararlos para establecer cuál de los dos mantiene el pH salival más alcalino en los alumnos del primer semestre de estomatología. La investigación fue de tipo experimental, con un diseño prospectivo, de campo y laboratorio, longitudinal y comparativo. Se empleó un PH-metro para evaluar el pH de la saliva, el cual fue previamente calibrado para tal fin. Los resultados demostraron que tanto el grupo expuesto a Xilitol como a *Stevia* sufren una variación de los valores de pH salival a los 15 y 30 minutos de aplicado, es decir, generan que el pH se hace más alcalino. Comparando ambos grupos, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas, es decir, tanto el Xilitol como la *Stevia* producen el mismo efecto sobre el pH salival de los alumnos motivo de investigación. Por tanto, podemos concluir que el uso de estos edulcorantes es beneficioso para las personas que los consumen, puesto que al aumentar el pH salival generan que el riesgo de caries disminuya. (13)
 - **Bocanegra** (2015) en Trujillo comparó el efecto de una goma de mascar con y sin



Xilitol sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans*. Materiales y métodos: Este ensayo doble ciego controlado, se realizó en 22 voluntarios de entre 20 a 25 años de edad, con un mínimo de dos caries de II grado, ausencia de enfermedad periodontal, prótesis u ortodoncia. Ellos fueron divididos en dos grupos iguales. Se recogieron muestras de saliva antes del consumo de las gomas de mascar y se hizo el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), registrando los datos como referencia. Posteriormente, a un grupo se le pidió masticar una goma de mascar con 60.5% de Xilitol (1 g) y al otro, una goma de mascar sin Xilitol, 5 minutos, una vez al día, durante 3 días. Las muestras de saliva se recogieron a las 24 y 72 horas para proceder a la inoculación y recuento de las colonias. Los resultados obtenidos no mostraron diferencia estadísticamente significativa al inicio del estudio ($p=0.059$), pero a las 24 y 72 horas las UFC del grupo con Xilitol con respecto a las UFC del grupo control disminuyeron significativamente ($p<0.001$) sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans*. CONCLUSIÓN: La goma de mascar con Xilitol presentó disminución estadísticamente significativa ($p<0.001$) sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans*, en comparación con la goma de mascar sin Xilitol.(5)

2.1.3 Antecedentes Locales

-Padilla (2017), Comparó el efecto del uso de la pasta dental con Xilitol y convencional en el recuento de *Streptococcus mutans* y pH salival en pacientes con aparatología ortodóntica fija. Materiales y métodos: se realizó un estudio cuasi experimental de cegamiento simple, de corte longitudinal el análisis fue bivariado y cuantitativo, las pruebas estadísticas fueron descriptivas e inferencial. La prueba T-Student demostró que hubieron menos unidades formadoras de colonias en los pacientes que utilizaron pasta dental con Xilitol, siendo esta diferencia estadísticamente significativa en la quinta semana de uso en comparación con los pacientes que utilizaron la pasta dental convencional, llegando a un efecto antibacteriano de 70.63% frente a un 52.26% respectivamente. En relación al pH salival, este fue en aumento en los pacientes que utilizaron la pasta dental con Xilitol llegando a 7.45 a la quinta semana de uso en comparación de los pacientes que utilizaron pasta dental convencional cuyo pH llegó a 6.88, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (< 0.0001). Concluyendo que existe



mayor efectividad de la pasta dental con Xilitol en relación a la pasta dental convencional en el recuento de *Streptococcus mutans* y pH salival. (4)

- **Padilla** (2012), determino el efecto del Xilitol sobre la cantidad de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* en saliva utilizando como vehículo pasta dental. Se tomó una muestra conformada por 16 niñas de 7 a 9 años de edad del Centro de Atención Residencial virgen de Fátima de Puno, que no habían tomado antibióticos durante el mes precedente, con 5 caries activas como mínimo. La muestra fue dividida en dos grupos experimental de 12 niñas y grupo control de 4 niñas. Al grupo experimental se aplicó una pasta dental conteniendo Xilitol al 36% y flúor, y al grupo control una pasta dental conteniendo solamente flúor. Los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva se evaluaron utilizando el sistema comercial «Dentocult» que es un caldo de cultivo selectivo que permite el crecimiento de *Streptococcus mutans* adheridas a la superficie de una tira salival plástica. Demostraron que luego de la aplicación de la pasta dental con Xilitol y flúor durante 5 semanas, se observó una disminución desde un nivel 2 de *Streptococcus mutans* en saliva hasta un nivel 0 a diferencia del grupo control. (14)

2.2 MARCO TEORICO

2.2.1 PLACA DENTAL, BIOFILM:

La cavidad oral puede considerarse como un gran ecosistema ya que en ella existen microorganismos que se relacionan entre sí, esta microflora indígena coloniza la boca y también les circundan elementos abióticos con el que también están estrechamente relacionados. En un estado homeostático, esta flora indígena juega un papel importante en la protección del huésped de las invasiones de patógenos exógenos; sin embargo, ciertos factores ambientales o biológicos pueden desencadenar la interrupción de este equilibrio, cuando se interrumpe la homeostasis, conduce a enfermedades como la caries o enfermedades periodontales. (15) (16)

La placa dental es una película bacteriana firmemente adherida a regiones supra e infra gingivales del diente formada por los microorganismos del ecosistema de la boca.

En 1965, Egelberg y cols determinaron los estadios en la formación de la placa



dental:

- Primer estadio: se forma la película adquirida la cual es una capa amorfa a celular de algo menos de 1 mm de espesor que cubre los tejidos orales duros y blandos así como las superficies no orales, libre de bacterias y constituida por la adsorción selectiva sobre las superficies de las principales proteínas salivales, especialmente glucoproteínas y proteínas: prolina, estaterina, IgA secretora, cistatina, mucina, lactoferrina, lisozima y amilasa.(17)
Colonizadores tempranos, como estreptococos y Actinomyces, son capaces de reconocer estos componentes proteicos y, por lo tanto, la película determina al menos la unión bacteriana inicial. (18)
- Segundo estadio: Los microorganismos pioneros se van adhiriendo proliferando y formando colonias, y posteriormente así se produce la agregación de espiroquetas y formas filamentosas que forman una cubierta cohesiva.(19)
- Tercer Estadio: Se produce multiplicación bacteriana.
- Cuarto Estadio: Debido a la multiplicación bacteriana de la fase anterior y a la aparición de nuevas condiciones, se produce la congregación de nuevas especies bacterianas.(20)

En 1970, en el congreso de Edimburgo, se definió la placa dental como microorganismos más polisacáridos extracelulares; esta placa dental estaba recubierta por leucocitos, células epiteliales y restos de comida.

Muchos productos de la placa bacteriana alcanzan el tejido subepitelial, lo que provoca respuestas inflamatorias como el aumento de la vascularización y la diapédesis de los leucocitos tanto la placa supragingival como la subgingival pueden formar una masa dura y mineralizada llamada cálculo la superficie del cálculo alberga bacterias, que pueden exacerbar las respuestas inflamatorias; a su vez la película adquirida localizada en surcos, fosas y fisuras produce la lesión cariosa, que comienza con la disolución localizada del material inorgánico de la superficie del diente por sustancias ácidas que se originan a partir de las bacterias que metabolizan los hidratos de carbono. Es el principal responsable de las enfermedades más prevalentes de la boca como la caries, las enfermedades periodontales e infecciones pulpares.(17)

Existen tres tipos de placas dentales, cada uno presenta características microbianas y bioquímicas: supra gingivales o coronales (de superficies lisas, de fosas y fisuras



y proximales), subgingivales y radiculares. Igualmente las placas pueden localizarse en prótesis dentales, materiales de ortodoncia, implantes y cualquier otro tipo de aditamentos (placas sobre materiales dentales).(15)

En los años 90, se llegó a un mejor conocimiento de la placa dental y de su estructura, y se desarrolló el modelo de la placa dental como biofilm.(21)

Costerton definió el biofilm como: “Una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un sustrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes”.(22)

Es por ello que la inhibición de la formación de la placa dental, su eliminación o atenuación constituyen procedimientos recomendables para la prevención de las enfermedades bucales más frecuentes, esto constituye una de las medidas primarias en el cuidado de la salud bucal.(17)

2.2.2 BACTERIAS PIONERAS EN LA FORMACIÓN DEL BIOFILM DENTAL:

La acumulación de placa dental comienza a las pocas horas de la erupción del diente con la colonización temprana de *Streptococcus* y especies de *Actinomyces*.(23) (18)

Las bacterias se adhieran a la superficie del diente recubierta con película a pesar de las fuerzas mecánicas de corte del flujo salival.(18)

La placa dental humana es una variedad compleja de bacterias unidas por polímeros sintetizados por el huésped y por bacterias. Aunque la flora es compleja, es al mismo tiempo una asociación específica de microorganismos. (24)

Los primeros colonizadores son de gran importancia porque proporcionan sustratos de unión y, por lo tanto, influyen en las etapas posteriores de la formación de biopelículas de placa a través de las propiedades de cohesión. (23) La capacidad de las especies de *Actinomyces* de la coagulación intra e intergenérica facilita su acumulación en la placa temprana. Los colonizadores posteriores prefieren unirse a la capa realizada de bacterias colonizadoras tempranas en lugar de la superficie dental recubierta de saliva. Se ha reconocido que las bacterias existen en complejos en la placa desarrollada.(25) Esto indica que existe un cierto grado de incolonización de diferentes bacterias. Por ejemplo, a medida que se desarrolla la gingivitis, un cambio clave en la composición microbiana de la placa dental es la



ascendencia de *Actinomyces spp.* y barras gram negativas a expensas de *Streptococcus spp.* (25) (18)

El grupo heterogéneo de bacterias orales dentro de los *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus* comprende miembros de la biota indígena de la cavidad oral humana, también se encuentran entre las bacterias iniciadoras o pioneras de la formación de biofilm dental anteriores a la fijación de los colonizadores secundarios y terciarios por lo tanto son de gran importancia en el desarrollo de enfermedades bucales.(1) (26)

2.2.2.1 STEPTOCOCCUS SANGUINIS:

S. sanguinis es descrito como un colonizador pionero, que ayuda en la unión de organismos sucesivos y un factor clave en el desarrollo de las biopelículas orales; Pertenece a la familia *Streptococcaceae* de género *Streptococcus*, es parte del ecosistema oral, está muy asociado a patologías como la endocarditis bacteriana. Antiguamente llamado *Streptococcus sanguis*, White y Niven en 1944, ha propuesto este nombre descriptivo desde el punto de vista biológico a los estreptococos α -hemolíticos, En relación a las patologías de la boca, es el iniciador en la formación de la placa dental.(1) (27)

2.1.1 Taxonomía:

Esta bacteria se encuentra en el grupo sanguis dentro del grupo *viridans*, aunque algunos investigadores lo consideran dentro del grupo *mitis* basándose en la secuencia del gen 16SrRNA, pero puede diferenciarse fácilmente desde el punto de vista fenotípico de ese grupo por sus reacciones positivas para arginina dihidrolasa e hidrólisis de esculina.(1)

- **Reino:** Bacteria
- **Filo:** Firmicutes
- **Clase:** Bacilli
- **Orden:** Lactobacillales
- **Familia:** *Streptococcaceae*
- **Género:** *Streptococcus*
- **Especie:** *S. sanguini*

2.1.2 Morfología y estructura:

- Características macroscópicas:



Sus colonias son pequeñas de un color, gris/verde, traslucidas y alfa hemolisis en medios de agar sangre.

- Características microscópicas:

Los *Streptococcus* tienen como unidad formadora una estructura llamada coco de forma esférica de aproximadamente 0,6 μm de diámetro, al igual que otros *Streptococcus*, la división celular de *S. sanguinis* ocurre a lo largo de un solo eje, lo que resulta en cadenas o pares de cocos mediano o largos. (27) (26). Es un anaerobio facultativo, gram positivo, catalasa negativo no formador de esporas, el genoma es una molécula de ADN circular compuesta por 2388435 pb, que codifica 2274 proteínas predichas.(28) Hay 61 genes de ARNt predichos que producen todos los 20 aminoácidos y 50 transportadores de carbohidratos, incluidas las enzimas del sistema de fosfotransferasa específicas para el transporte de glucosa, fructosa, manosa, celobiosa, glucósidos, fructosa, lactosa, trehalosa, manosa, galactitol y maltosa. *S. sanguinis* es capaz de utilizar una amplia gama de fuentes de carbohidratos para sobrevivir.(26)

2.1.3 Factores de Virulencia:

Streptococcus sanguinis, se unen a la película adquirida y a superficies epiteliales a través de ácidos lipoteicoicos, adhesinas, fimbrias y proteínas superficiales (26) (27)

Entre sus factores de virulencia se encuentran, las fimbrias que median la adhesión de *S. sanguinis* a la hidroxiapatita recubierta de saliva (la sustancia principal de la superficie del diente). Se identificaron también tres proteínas pilus PilA, PilB y PilC en *S. sanguinis*, las superficies de los dientes están recubiertas con una gran cantidad de proteínas salivales, la unión del pilus a los componentes salivales puede contribuir a la adherencia de la bacteria a las superficies de los dientes e inicie la formación de biopelículas en la cavidad oral, también se mostraron que PilB y PilC se unían a la saliva humana entera; (29) además, PilC se unió a múltiples componentes salivales, uno de los cuales se encontró que era la α -amilasa salival. Se ha demostrado también que SsaB es una lipoproteína de unión a la saliva que media la unión a la hidroxiapatita recubierta de saliva a través de un receptor sensible al pH no



caracterizado, todavía no está claro a qué objetivos se une SsaB o, de hecho, si es una adhesina.(30) También la proteína rica en serina glicoproteína A (*SrpA*) media la unión de *S. sanguinis* a las plaquetas humanas mediante los sialoglicanos humanos, (31) (32) sin embargo, todavía no hay evidencia que demuestre que *SrpA* media la unión o la formación de biopelículas de *S. sanguinis* en la cavidad oral.

Así también las colonias de *S. sanguinis*, producen glucosiltransferasas que en la presencia de sacarosa son responsables de la síntesis de glucanos adhesivos, los glucanos son el principal polímero de biopelícula van a permitir mayor adhesión de otros microorganismos están compuestos principalmente de glucosa unida a α -1,6 y unida a α -1,3.(15) (27) (1) La anotación del genoma muestra que *S. sanguinis* contiene dos genes *gtf*, *gtfA* y *gtfP*, (33) de los cuales *gtfP* es el único gen que produce glucano. Pero carecen de proteínas fijadoras de glucanos, y los fenómenos coagregativos pueden realizarse a través de receptores polisacáridos (galactosa) que interaccionan con lectinas localizadas en fimbrias. (15)

La capacidad de formación de biopelículas de *S. sanguinis* difiere dramáticamente dependiendo del medio de crecimiento utilizado, los componentes de los diferentes medios afectan los niveles y estructura del glucano, además, la concentración de oxígeno también afecta la formación de biopelículas incluso cuando se cultiva en el mismo medio, (34) tal vez debido a cambios en las vías metabólicas que afectan la biosíntesis de glucano. Sin embargo, debido a que la producción de glucano se ve afectada por la composición de los medios, (35) otros genes pueden participar en la biosíntesis de glucano y la formación de biopelículas. El ADN extracelular (eDNA) es otro componente esencial para la formación de biopelículas En *S. sanguinis*, H_2O_2 producido por SpxB es capaz de liberar ADNc que promueve la unión entre células y puede contribuir a la maduración de las biopelículas.(36)

Los *S. sanguinis* carece de actividad dextranasa generan peróxido de hidrogeno, fermenta la inulina y tiene actividad de Ig A1 proteasa, la IgA1 pueden inhibir el desarrollo y la adherencia de otros microorganismos bloqueando sus adhesinas; la acción de esta IgAsa

modifica estas acciones protectoras y, en el caso concreto de la película adquirida, deja “nuevos espacios libres” para la adhesión microbiana. (15) (27) Posee unas proteínas parietales, SSP-5, relacionadas antigénicamente con las de *S. mutans* y *S. sobrinus* y que permiten la adhesión.

2.1.4 Fisiopatología:

S. sanguinis se distribuye por las superficies de los dientes, las superficies de la mucosa oral y en la saliva humana, como anaerobia facultativa, es abundante tanto en la placa supragingival como en la subgingival. La biomasa pueden ser diferentes significativamente a pesar de sus similitudes según las diversas ubicaciones en los dientes; en los sitios de los incisivos, caninos inferiores está presente en altas proporciones, pero en bajas proporciones en los sitios de los molares superiores, también la formación de placa en los implantes dentales produce mucositis periimplantaria. Los diferentes estudios sobre la colonización del *S. sanguinis* que determinaron la mediana de edad de colonización es en promedio de 9.0 meses. (26)

- **Unión de *Streptococcus Sanguinis* a superficies:**

Los factores de virulencia son los principales factores que contribuyen a la unión de los *Streptococcus sanguinis* a las superficies que van a colonizar, las fimbrias median en la adhesión a la hidroxiapatita recubierta de saliva, también tres proteínas pilus PilA, PilB y PilC que contribuyen a la adherencia de la bacteria a las superficies de los dientes, la lipoproteína SsaB media la unión a la hidroxiapatita recubierta de saliva a través de un receptor sensible al pH no caracterizado aunque no está claro a qué objetivos se une SsaB o si es una adhesina, la proteína rica en serina glicoproteína A (*SrpA*) se ha encontrado que media la unión de *S. sanguinis* a las plaquetas humanas mediante los sialoglicanos humanos.

- **Maduración de la biopelícula de *S. sanguinis*:**

En la mayoría de las biopelículas, el 10% de la masa seca está compuesta de microorganismos, mientras que el resto es la matriz que está compuesto por polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, que median la adhesión célula-célula y célula-superficie al



formar redes poliméricas 3D cohesivas.

Las colonias de *S. sanguinis* producen glucosiltransferasas que son los responsables en la formación de glucanos adhesivos a partir de la sacarosa, compuestos que van a permitir mayor adhesión de otros microorganismos.(15) (27) (1) El ADN extracelular (eDNA) es otro componente esencial para la formación de biopelículas el ADNc promueve la unión entre células y puede contribuir a la maduración de las biopelículas. (36)

- ***Streptococcus sanguinis* en relación a la caries:**

- Antagonismo entre *S. Sanguinis* y *S. Mutans*

El H₂O₂ producido por *S. sanguinis* reprime el crecimiento de *S. mutans*. Por el contrario, las mutacinas I y IV secretadas por *S. mutans* suprimieron la supervivencia de *S. sanguinis*.(37) La condición 'rica en nutrientes' puede proporcionar más fuentes de carbono para la producción de glucano y ácido en *S. mutans* y facilitar su crecimiento. Sin embargo, los mecanismos de inhibición mutua no se comprenden completamente. H₂O₂ producido por *S. sanguinis* no sólo es perjudicial para *S. mutans* también puede inducir la autólisis en *S. sanguinis*. (36)

En *S. sanguinis*, los genes relacionados con la generación de H₂O₂ (*spxB*, *ackA*, *spxR*, *tpk* y *spxAI*) son todos esenciales para reprimir el crecimiento de *S. mutans*, (38) *S. mutans* también tiene un H₂O₂ sistema de resistencia. (39) Como se mencionó anteriormente, *S. mutans* produce mutacinas que inhiben el crecimiento de *S. sanguinis* y algunos otros estreptococos orales de colonización temprana. Se ha demostrado que *Streptococcus sanguinis* reduce la producción de mutacina al inactivar el péptido estimulante de la competencia (CSP) de *S. mutans*. (40)

Streptococcus mutans y otros organismos acidógenos pueden generar ácidos a partir de azúcares fermentables, que son responsables de la patogénesis de la caries dental. (41) Debido a que *S. sanguinis* es más sensible a las condiciones ácidas que *S. mutans*, la condición de microambiente ácido generada por bacterias acidúricas puede provocar una disminución de la



abundancia de *S. sanguinis* antes o concomitante con el desarrollo de caries dental. En la comunidad oral, algunas bacterias orales producen álcali a partir del metabolismo de la arginina a través del sistema de arginina desiminasa (ADS), que protege contra la caries causada por *S. mutans*. Y otras bacterias acidúricas.(42) *S. sanguinis* es la especie más prevalente en la cavidad oral que contiene el ADS. Puede utilizar los ADS para mantener la homeostasis del pH y obtener una ventaja al competir con *S. mutans*.

Estudios previos informaron que existía una mayor concentración de L-arginina en la saliva de las personas sin caries dental que en las personas activas con caries (42) lo que sugiere que los humanos pueden usar la L-arginina como arma para luchar contra la productores de ácido en biopelículas orales. El tratamiento con L-arginina reduce directamente la cantidad de producción de polisacárido extracelular insoluble, lo que alteró significativamente la arquitectura de la biopelícula en *S. mutans*. Aunque la formación de biopelículas por *S. sanguinis* también es reprimida por la L-arginina exógena, la adición de arginina reduce la biomasa de *S. mutans* más que la de *S. sanguinis* en biofilms de doble especie. (43)

En resumen, los estudios epidemiológicos e *in vitro* sugieren que *S. sanguinis* puede suprimir la generación de caries dental. Sin embargo, todavía carecemos de evidencia directa para apoyar una conclusión definitiva sobre el papel de *S. sanguinis* en la caries dental. (26)

• ***Streptococcus sanguinis* en relación a la periodontitis:**

La periodontitis es causada por la exposición del tejido periodontal a una comunidad de placa dental polimicrobiana ecológicamente desequilibrada, los microorganismos asociados con la periodontitis interactúan sinérgicamente para mejorar la colonización, la obtención de nutrientes y la persistencia en un ambiente inflamatorio. (44)

Durante la transición de la salud periodontal a la enfermedad periodontal, los componentes de los microbiomas cambian de especies



principalmente Gram positivas a Gram negativas. (45)

Las células epiteliales gingivales son estimuladas por bacterias comensales orales para producir IL-8 y β -defensinas, que pueden proteger el tejido periodontal contra los patógenos asociados a la periodontitis. Como un componente principal del microbioma comensal oral, *S. sanguinis* puede participar en este proceso. Al mismo tiempo, la respuesta del huésped inducida por *S. sanguinis* es mucho más débil que la inducida por *P. gingivalis* o *F. nucleatum*. Este puede ser un mecanismo por el cual el huésped se beneficia de que *S. sanguinis* compita con estos patógenos en la cavidad oral. (26)

Aunque los estudios de secuenciación de ARNr 16S sugieren que es una bacteria asociada a la salud, *S. sanguinis* puede ser un objetivo potencial de unión para la localización de patógenos dentro de la placa dental. Se cree que *Porphyromonas gingivalis* es el principal agente etiológico en la periodontitis crónica. (46) Las fimbrias de *P. gingivalis* pueden unirse a varias especies de estreptococos, incluidos *S. sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *S. gordonii* y *Streptococcus parasanguinis* para la formación de biopelículas. (26)

F. nucleatum es un patógeno periodontal asociado con una amplia gama de enfermedades humanas que involucran periodontitis crónica y agresiva. Se ha informado que se junta con muchos microorganismos orales, como *S. sanguinis*, *S. mutans* y *P. gingivalis*. Además, mejora la coagulación entre *S. sanguinis* y *P. gingivalis*. Estudios posteriores descubrieron que una adhesina RadD inhibible con arginina de *F. nucleatum* mejora la coagulación con los 'colonizadores orales tempranos' Gram positivos, incluidos *S. sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *S. gordonii* y *Actinomyces naeslundii*. Otro gen, *aid1*, también se ha demostrado que mejora la coagulación. (26) Sin embargo, H_2O_2 producción y su efecto destructor se reducen cuando *F. nucleatum* se permite para formar congregados con *S. sanguinis* antes de la adición a la comunidad mixta estos estudios sugieren que *S. sanguinis* puede ayudar a *F.*



nucleatum para sobrevivir en la cavidad oral.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans es otro patógeno asociado con enfermedades periodontales como la periodontitis agresiva localizada y, en consecuencia, la resorción ósea.(47) En condiciones de flujo, la colonización de las superficies de los tejidos blandos por *A. actinomycetemcomitans* se reduce por varias especies de estreptococos, y especialmente por *S. sanguinis*, lo que indica los posibles efectos beneficiosos de *S. sanguinis* para prevenir la periodontitis causada por *A. actinomycetemcomitans*. (48) En la periferia de las muestras de placa dental, *Streptococcus* spp. Aparece en las puntas distales de *Corynebacterium* spp, junto con *Haemophilus* spp. *Aggregatibacter* spp. y *Porphyromonas* spp., y parece mediar en la asociación de *Porphyromonas* spp. Con *Haemophilus* spp. Además los *Streptococos* pueden crear un microambiente rico en CO₂, lactato y acetato y bajo en oxígeno, lo que facilita la supervivencia de *Aggregatibacter* spp., *Capnocytophaga* spp., *Fusobacterium* spp. y *Leptotrichia* spp, en la capa interna de la placa dental. Por otro lado, los estreptococos no solo eran visibles en la parte inferior, sino que también aparecían en la periferia de la placa dental, lo que sugiere que las especies de estreptococos son un objetivo espacialmente disponible para la fijación inicial de patógenos.(49)

Según los datos de secuenciación de 16S rRNA, *S. sanguinis* parece estar asociado con la salud periodontal. Sin embargo, no está claro si *S. sanguinis* en realidad promueve la salud bucal o si simplemente sobrevive mejor en sitios saludables, lo que lo convierte en un indicador de salud bucal más que en una causa. Además, también es un objetivo de unión para *P. gingivalis* y *F. nucleatum*. En los modelos actuales de periodontitis, existen patógenos en la biopelícula formada en las superficies de los dientes dentro de la bolsa periodontal, y luego atacan las células epiteliales orales cercanas. (50) Debido a las condiciones complejas en la cavidad oral, como el flujo salival, la respuesta del sistema inmunitario y el sangrado, es difícil establecer un modelo *in vivo* que comience con una biopelícula de *S. sanguinis* formada en la bolsa periodontal y luego implique un



patógeno de entrada para inducir periodontitis. Para simplificar el problema, la primera pregunta que debemos aclarar es si la colonización de *S. sanguinis* en las superficies de los dientes afecta la fijación y la formación de biopelículas de los patógenos asociados a la periodontitis. La segunda pregunta es cómo responde *S. sanguinis* al apego del patógeno. (26)

• ***S. sanguinis* en la endocarditis infecciosa**

Además de su papel como colonizador primario en la cavidad oral, *S. sanguinis* es mejor conocido como una causa de endocarditis infecciosa, una infección de las válvulas o el revestimiento endocárdico del corazón. De hecho, *S. sanguinis* se conoció por primera vez como '*Streptococcus sbe*', por 'endocarditis bacteriana subaguda', y se reconoció como una causa de endocarditis mucho antes de ser identificado como un habitante de la cavidad oral. (50)

La endocarditis comienza cuando el agente causal ingresa al torrente sanguíneo para causar una bacteriemia y luego es transportado por la sangre al corazón. Para los estreptococos orales, la atención a menudo se centra en los procedimientos dentales invasivos como causa de bacteriemia, aunque los estreptococos, después de llegar al corazón, *S. sanguinis* debe adherirse al endocardio. Dada la importancia de la formación de biopelículas para la adhesión en la cavidad oral, sería razonable sospechar que la formación de biopelículas también podría ser importante para la adhesión a las superficies endocárdicas. De hecho, la endocarditis a menudo se considera un ejemplo de una enfermedad mediada por biopelículas primero,(51) la endocarditis ocasionalmente acompaña a infecciones de dispositivos cardíacos implantados, como marcapasos o desfibriladores.(50)

2.2.2.2 ACTINOMYCES VISCOSUS:

Antiguamente fue llamada *Odontomyces viscosus*, se encuentran en el dorso de la lengua, criptas amigdalinas, biopelícula de placa supra gingival, cálculos y caries de raíz. (27)

a) Taxonomía:

El género *Actinomyces* fue nombrado por primera vez por Harz en 1877, al



describir un agente causante de la actinomicosis bovina, las especies (por ejemplo, *A. israelii*, *A. odontolyticus*) son los más básicos y más importantes en sistemática bacteriana. Durante los últimos años, la taxonomía de *Actinomyces* ha experimentado cambios y expansiones considerables. Johnson et al. (1990) (52) han propuesto la subdivisión de *A. naeslundii* en 3 nuevas genoespecies: la genoespecie1 incluyeron *A. naeslundii* serotipo I; la genoespecies2 incluyeron *A. naeslundii* serotipo II y III, y cepas de *A. viscosus* (serotipo II); las genoespecies 3 comprendieron *Actinomyces* WVA 963. (53)

A. naeslundii y *A. viscosus* se diferencian como especies separadas en función de sus reacciones bioquímicas, *A. naeslundii* es catalasa negativa y ureasa positiva, mientras que *A. viscosus* es catalasa -positivo y ureasa negativo.(18)

- **Reino:** *Actinobacteria*
- **Clase:** *Actinobacteria*
- **Subclase:** *Actinobacteridae*
- **Orden:** *Actinomycetales*
- **Suborden:** *Actinomycineae*
- **Familia:** *Actinomycetaceae*
- **Género:** *Actinomyces*
- **Especie:** *A. viscosus* (1)

b) Morfología y estructura:

- Características macroscópicas:

Las colonias son circulares, convexa, de borde entero, de un color blanco pálido, brillante y transparente. Pueden ser de tamaño grande o pequeño. (1)

- Características microscópicas:

Los *A. viscosus* son barras pleomorfas Gram positivas, puede presentar forma curva, filamentosa larga o corta observándose por microscopia como formas ramificadas, las grandes y lisas presentan una configuración de V, Y y T y las pequeñas y ásperas se observan como filamentos de ramificación corta.(54) (27)

El análisis de la secuencia de nucleótidos del gen bacteriano 16S rRNA ha ampliado su capacidad de identificar. La hibridación ADN-ADN se



ha utilizado para la detección e identificación de especies y gen o especies de *Actinomyces*.(18)

c) Factores de Virulencia:

Su factor de virulencia más resaltante son las fimbrias, la cual le da buena capacidad de adherirse, las fimbrias tipo I tiene afinidad por las proteínas ricas en prolina, estaterina, IgA secretora, la cistatina, mucina, lactoferrina, lizozima, y Amilasa, así como por la superficie del esmalte dental a través de un mecanismo adhesina-receptor; mientras que las fimbrias tipo 2 (lectinas fimbriales) se unen a las superficies epiteliales y bacterianas, facilitan su fagocitosis al reconocer los receptores que contienen lactosa en los leucocitos polimorfonucleares. (55)

La adhesión también tiene lugar por los mútanos, dextranos y lévanos formados por medio de exoenzimas a partir de polisacáridos intracelulares y extracelulares de alto peso molecular en presencia de sacarosa, siendo los mútanos compuestos que tienen gran función adhesiva y los otros dos usados como reserva alimenticia. (1)(18) El dextrano la molécula que une a los organismos, los estreptococos pueden unir dextrano a su superficie celular y este para unirse a *A. viscosus* lo contrario también es cierto, el dextrano unido a *Actinomyces* está disponible para unirse a los estreptococos. Es posible que las "mazorcas de maíz presentes en la placa sean estreptococos unidos a un *Actinomyces* por el dextrano. El receptor de dextrano en la pared celular de *Actinomyces* es una proteína o está asociado con una proteína, el sistema receptor natural podría consistir en una cantidad de 1,6 unidades de glucosa unidas a una glicoproteína del huésped o de la pared celular de algunas otras bacterias. Sin embargo, parece probable que, dada su capacidad de enlace lo usaría si surgiera la ocasión. (24)

Las adhesinas también median la unión de *A. viscosus* a las células huésped, y a otras bacterias que implican la coagulación intra o intergenérica.

Fijación bacteriana y coagulación

La adhesión generalmente tiene lugar a través de adhesinas, ubicadas en la superficie bacteriana o fimbrias, que interactúan aún más con moléculas o ligandos diana específicos. Después de esta adhesión inicial a una superficie, puede ocurrir más anclaje físico llamado apego. El apego es un paso esencial para una mayor colonización. Cuando las bacterias se han unido firmemente,



comienzan a crecer y comunicarse y, por lo tanto, las biopelículas pueden desarrollarse aún más.(56) La coagulación es un proceso en el que distintas bacterias en suspensión en el desarrollo de biopelículas de múltiples especies se unen entre sí con moléculas.(57) En la agregación, las cepas bacterianas se unen específicamente a otras bacterias. Cada especie parece tener parejas específicas, como *Streptococcus sp.* o *Porphyromonas gingivalis* con *Actinomyces naeslundii* y *Prevotella loescheii* con *Actinomyces israelii*. Además, ciertas cepas de Capnocytophaga se agrupan con cepas de *Actinomyces israelii* pero no con *Actinomyces viscosus* ni con ningún estreptococo lo que sugiere que la adhesión entre parejas depende mucho de la especie. Las interacciones entre diferentes bacterias y entre bacterias y su huésped son factores que controlan el equilibrio dentro de la microbiota y el desarrollo de posibles afecciones patológicas (Kolenbrander 2000).(58) (18)

d) Fisiopatología:

Mecanismos de adhesión de *Actinomyces*

A. viscosus, tienen una capacidad superior para adherirse a una superficie con sus estructuras especiales de superficie, fimbrias tipo 1 y 2. (58)

La adhesión también se da por los mútanos, dextranos y lévanos, siendo los mútanos los que tienen la mayor función adhesiva y los otros dos usados como reserva alimenticia. (1)(18) *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* también sintetizan dextrano que se une a la célula, los *Actinomyces* podrían usar el dextrano libre de células para formar agregados en la placa. (24)

Las adhesinas también median la unión de *A. viscosus* a las células huésped, pero también a otras bacterias. (18)

Actinomyces viscosus pueden estar involucrados en la etiología de la enfermedad periodontal y la caries de la superficie de la raíz. Se ha demostrado que los aislados de placa dentogingival humana inducen lesiones periodontales y caries en la superficie de la raíz.(59) Además de su colonización constante de las lesiones cariosas de la raíz humana.(60)

***Actinomyces* en infecciones**

Aunque las especies de *Actinomyces* son parte de la microbiota normal y residente de distintas superficies de la boca, contribuyen a diferentes enfermedades relacionadas con la placa, p. Ej. caries dental y enfermedades



periodontales.(61) Los *Actinomyces* se encuentran comúnmente en infecciones endodóncicas como parte de una infección polimicrobiana. Aunque las especies de *Actinomyces* se han asociado con dientes con pulpas necróticas, están relacionadas principalmente con casos de tratamiento fallido del conducto radicular.(62) Los *Actinomyces* son capaces de causar infecciones extraradiculares, evitando así la curación periapical mediante la terapia convencional. Los miembros del género también han sido frecuentemente aislados de la dentina infectada de las lesiones activas de caries de raíz.(62) Aunque especialmente *A. naeslundii*, *A. israelii* y *A. gerencseriae* han sido las especies más aisladas, el papel de las especies individuales de *Actinomyces* en el proceso de caries de raíz sigue sin estar claro.(18) Además, se han publicado varios informes de prevalencia de especies de *Actinomyces* en la salud y la enfermedad periodontal. Sin embargo, se ha informado que la microbiota actinomicetal subgingival (con altas frecuencias de detección de hasta el 98%) tanto de pacientes con periodontitis crónica como de pacientes periodontalmente sanos es muy similar.(63)

Además de diversas infecciones orales, los actinomicetos pueden actuar como patógenos principales que conducen a la actinomicosis oral adicional en diferentes partes del cuerpo humano caracterizadas por la formación de abscesos, fibrosis tisular y drenaje de senos. Todas las especies de *Actinomyces* etiológicamente involucradas en lesiones actinomicóticas en humanos pertenecen a la microbiota autóctona patógena facultativa de las superficies mucosas humanas, especialmente en la cavidad oral. *A. israelii* y *A. gerencseriae* son, con mucho, los agentes más importantes de esta enfermedad;(64) sin embargo, algunas especies más nuevas, como *A. turicensis* y *A. europaeus*, también están claramente asociadas con infecciones mixtas en abscesos superficiales de tejidos blandos. Estas especies patógenas rara vez se aíslan solas, sino más bien como parte de una infección polimicrobiana junto con varias especies aerobias y / o anaerobias.
(18)



2.2.3 XILITOL:

El Xilitol es un poliol, es decir un alcohol de azúcar ,como sorbitol,mailtitol,manitol,eritritol,lactol e isomalt, cuya fórmula molecular es $C_5H_{12}O_5$ (1,2,3,4,5-pentahidroxipentano) ,presenta una estructura abierta, tiene cinco grupos de hidroxilo(OH), cada uno de ellos están unidos a un átomo de carbono, además de ser un edulcorante capaz de reemplazar a la sacarosa, es tolerado por los diabéticos de tipo I o tipo II porque no depende de la insulina para ser metabolizado por el organismo. Despertó el interés de numerosos investigadores a nivel mundial, porque este presenta múltiples ventajas se usan en la industria de alimentos, farmacéutica y en la elaboración de productos de higiene oral. (65) (66) (67)

Su obtención por la hidrogenación de la D - xilosa presente en la materia vegetal, ya sea por vía química, o por vía biotecnológica. La producción de Xilitol por vía química en la escala industrial tuvo inicio en 1975, en Finlandia y es el único actualmente utilizado para la producción del Xilitol en gran escala. (68)

El Xilitol se presenta como un granulo sólido cristalino de color blanco, las partículas equidimensionales tienen un diámetro medio de aproximadamente 0,4 – 0,6 mm, se encuentra de manera natural en algunas frutas y vegetales. Ha sido aprobado en la dieta para el consumo humano en muchos países. Actualmente, se incorpora como edulcorante en varios productos: dulces, gomas de mascar, confitería, productos de higiene oral, cosméticos y medicamentos. (69)

El Xilitol es un componente natural de metabolismo diario del cuerpo humano, produciendo hasta 10 gr por día al ser metabolizados los hidratos de carbono, se encuentra en gran diversidad de verduras y frutas, alrededor de un tercio del xilitol ingerido es absorbido por el hígado, los otros dos tercios se dirigen al tracto intestinal donde las bacterias estomacales los degradan y los eliminan. Actualmente, se incorpora como edulcorante en varios productos: dulces, gomas de mascar, confitería, productos de higiene oral, cosméticos y medicamentos.(70) (69)

3.1Historia:

El descubrimiento del Xilitol se le atribuye al químico alemán, premio nobel de química, Emil Fisher y a su alumno Rudolf Stahel en 1891 y ha sido utilizado en la industria alimentaria como sustituto del azúcar desde finales de 1960 , durante la Segunda Guerra Mundial en Finlandia que al estar en guerra



con Rusia y Alemania no dispone de azúcar y finalmente recurre al descubrimiento de Fischer, para ello extrajeron el azúcar de madera o azúcar de abedul, que a través del uso de la hidracina, aislada de un compuesto al que llamaron Xilitol, como resultado de la investigación de los derivados de la xilosa. (70) (71)

Posteriormente, la producción de Xilitol se amplió con el uso de diversas plantas que contienen polisacárido Xilano. Con el proceso químico de elaboración de estas plantas se obtiene el mismo tipo de xilitol que produce el organismo, por lo tanto, es considerado un producto totalmente natural.(72) (73)

3.2 Descripción Y Etiología:

Según Cobos, afirma que el Xilitol proviene del griego “xylon”, que significa recipiente para transportar agua, refiriéndose el sufijo “ol” a la naturaleza química de la molécula. Desde el punto de vista químico, pertenece a los alcoholes de azúcar, que son alcoholes polioles o polivalentes, sin existir relación de este con el etanol u alcohol ordinario, al contrario, se refiere a la clasificación química de las moléculas. (69)

Según Bravo et, al afirman que el Xilitol es un alcohol con estructura de cinco átomos de carbono, llamado poliol, se encuentra presente en la corteza del árbol abedul, así como en distintas verduras y frutas, con un sabor dulce similar a la sacarosa y con solamente dos tercios de las calorías.(74)

3.3 Taxonomía:

Teniendo en cuenta que la principal fuente de producción del Xilitol es el abedul, la taxonomía es:

- **Reino:** Plantae
- **Subrieno:** Eukaryota
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Subclase:** Magnoliosida
- **Orden:** Falages
- **Familia:** Betulaceae
- **Género:** Betula



- **Especie:** Betula alba L. (70)

3.4 Propiedades:

3.4.1 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS:

Soumitra (1998), menciona que las propiedades físicas y químicas del Xilitol son:

- **Fórmula empírica:** C₅H₁₂O₅
- **Masa molar:** 152.15 g / mol
- **Apariencia:** Polvo cristalino
- **Color:** Blanco
- **Sabor:** Dulce
- **Olor:** Ninguno
- **Punto de fusión:** 92-96 ° C
- **Punto de ebullición:** 216 ° C (a 760 mmHg)
- **pH en agua (1g/10ml):** 5 a 7
- **Densidad:** 1,03 g / ml
- **Solubilidad:** 63 g / 100 g
- **Viscosidad:** 1,23 (a 20 ° C)
- **Calor de la solución:** 34,8 cal / g
- **Valor Calórico:** 4,06 cal / g
- **Índice de refracción (25° C):** 1.3471
- **Estabilidad:** Estable a 120 ° C (no carameliza)
- **Poder edulcorante:** Similar a la sacarosa, superior al del sorbitol y al manitol (75)

Químicamente el Xilitol es un polialcohol de cinco átomos de carbono que posee características que lo convierten en elemento de beneficio para la salud integral. Este contiene un nivel edulcorante similar a la sacarosa, con la ventaja que el contenido calórico es inferior con respecto a esta. Se encuentra en cantidades mínimas, especialmente en frutas y vegetales, aunque es obtenido de manera industrial por hidrogenación química de la xilosa, conteniendo calor de disolución negativo, lo que origina la sensación refrescante cuando es ingerido por vía oral. (69) (65) (73)

Las propiedades químicas más importantes del Xilitol en relación a la caries dental son:

1. Estimulación de la secreción salival: Estudios realizados sugieren que el Xilitol en la cavidad oral aumenta la secreción del ácido



sialico o sialoproteínas y el sulfato en saliva, compuestos que proporcionan viscoelasticidad y lubricación a la saliva. Aumentan la actividad de la Lactoperoxidasa como mecanismo de defensa. Estudios indican que el consumo de grandes dosis de Xilitol está asociado con el incremento de ion tiocianato en saliva aumentando de esta manera las defensas salivales. El Xilitol aumenta la producción de Bicarbonato en la saliva completa, debido a que tiene un efecto favorable en la producción, actividad y estabilidad de la anhidrasa carbónica. El Bicarbonato eleva los niveles de pH de la saliva disminuyendo su acidez.

2. Eleva la concentración de ciertos electrolitos en los fluidos orales
3. Incrementa el poder buffer de la saliva, regulando el PH tanto en la saliva como en la placa
4. Con el consumo del Xilitol el metabolismo proteínico aumenta significativamente el metabolismo del nitrógeno, elevándose la concentración de amonio, elemento que va a controlar el PH de la placa dental
5. El Xilitol interactúa con el Calcio (Ca) y otros cationes polivalentes formando complejos estables en saliva, placa dental y en lesiones cariosas, gobernando el destino del Ca en este entorno. Estos complejos se forman por el desplazamiento de las moléculas de agua en la solvatación (disolución de un sólido en un solvente) del Ca por grupos OH del Xilitol, así el Xilitol estabiliza el calcio formando compuestos Xilitol-Calcio en el medio oral, cumpliendo su función de remineralización.(76) (77)

3.4.3 PROPIEDADES TERAPEÚTICAS:

Entre las propiedades terapéuticas del Xilitol se pueden mencionar las siguientes:

Sus propiedades químicas más importantes en relación con la caries dental son:

1. Estructura de cadena abierta



2. Ausencia de grupos reductores de carbonilo, factor que confiere al Xilitol mayor estabilidad química que las aldosas y cetosas que contienen el mismo número de carbonos que el Xilitol.
3. Una molécula más corta comparada con los hexitoles
4. La similitud en la configuración en varios átomos de Carbono con los azúcares comunes
5. La capacidad del Xilitol para formar complejos con ciertos cationes metálicos (Ca^{2+} , por ejemplo) o compuestos que contienen estos átomos metálicos.(76)

La anticariogenicidad es uno de las principales propiedades del Xilitol, por la ausencia de fermentación por bacterias del género *Streptococcus*, mediante la inhibición del crecimiento bacteriano, presente en la saliva y la biopelícula que se forma en la superficie de los dientes. También evita la inflamación de las encías, minimiza el efecto adherente de los microorganismos y evita el proceso de desmineralización del esmalte dental mediante la reducción de la producción de los ácidos. (78)

Controla los niveles de glucosa en la sangre, el peso corporal y los lípidos, son las metas fundamentales para el tratamiento de la diabetes en la actualidad, por lo tanto, el Xilitol al no contener fructosa dentro de su composición no representa riesgo en los niveles de insulina y glucosa en sangre, evitando el riesgo de patologías metabólicas y auxiliando en la resistencia a la insulina. (79)

MECANISMO EN LA PREVENCIÓN DE CARIES

El Xilitol puede ser incorporado por el *Streptococcus mutans* y, a continuación, se puede inhibir el proceso del glicólisis de estos microorganismos por el uso del sistema de fosfotransferasa fructosa, lo que interfiere en su crecimiento y el metabolismo. Dentro de la célula de las bacterias, la molécula de este azúcar es fosforilada, lo que resulta en la producción de Xilitol-5-fosfato, que no puede ser metabolizado. La acumulación de este metabolito da como resultado la inhibición de la producción de la enzima glucolítica. Después de la administración de Xilitol a *Streptococcus mutans*. (68)



El principal objetivo en la Odontología moderna es la prevención de caries que empieza con los pacientes pediátricos, al ser un edulcorante el Xilitol produce la estimulación salival, por lo que aumenta los mecanismos de defensa frente a los iones ácidos de las bacterias, produciendo que su capacidad aumente, en cuanto a sus efectos microbiológicos actúa como bacteriostático frente al *streptococcus mutans*. (68)

El mecanismo de acción del Xilitol sobre *Streptococcus mutans*, estudios afirman que actúa inhibiendo el crecimiento del microorganismo en la saliva y en la placa basándose en el establecimiento de un ciclo estéril de consumo de energía intracelular que rompe la cadena energética del fosfato mediante la inhibición in vitro la producción de polisacáridos de las cepas, también actúa sobre el *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus salivares*(78)

BENEFICIOS DEL XILITOL

Los beneficios para la salud fue reconocida en Finlandia, en 1970, usando un modelo animal, la primera goma de mascar desarrollada con el objetivo de disminuir la caries y mejorar la salud bucal, gracias a sus propiedades químicas, contribuye a neutralizar los ácidos de la placa, ayuda a mantener a mantener la mineralización del esmalte y reduce la sensación de sequedad bucal al incrementar la secreción salival.(79)

De acuerdo a la literatura la dosis sugerida del Xilitol es de 5 a 6 gramos 3 veces al día para lograr un efecto clínico, es tolerado cuando se ingiere en dosis espaciadas de máximo de 20 gramos cada una llegando a un máximo de 60 gramos diarios.En niños,la AAPD(American Academy of Pediatric Dentistry) afirma que para obtener una evidencia clínica se requiere una dosis total de 3 a 8 gramos al día dividido en dos dosis disponible en el comercio:jarabe,chicle y pastillas.(79) (80)

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 AMBITO DE ESTUDIO:

3.1.1 Ámbito General:

La presente investigación se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano de la ciudad de Puno, Provincia de Puno y Región de Puno, que está ubicado al extremo sur este del Perú, entre los 13° 00' y 17° 08' latitud Sur y en los 71° 08' y 68° 50' longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a orillas del Lago Titicaca; cuenta con una extensión territorial de 71 999,0 km² (6 por ciento del territorio nacional) siendo el quinto departamento más grande en el ámbito nacional. Limita por el norte con la región Madre de Dios, por el este con la República de Bolivia, por el sur con la región Tacna y la República de Bolivia y por el oeste con las regiones de Moquegua, Arequipa y Cusco.



3.1.2 Ámbito Específico:

La investigación se realizó específicamente en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana, en la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.



3.2 TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACION:

Diseño de la Investigación:



- Cuasi experimental: porque tiene el mismo propósito que un estudio experimental probar la existencia de una relación causal entre dos o más variables, excepto que los sujetos no se asignó aleatoriamente a los grupos.

Tipo de Investigación:

- Según el número de mediciones: Longitudinal
- Según la cronología de la observación: Prospectiva
- Nivel de la Investigación:
 - Nivel aplicativo: Ya que hubo una intervención que plantea resolver problemas e intervenir en la historia natural de la enfermedad.
- Método: Deductivo analítico

3.3 GRUPO DE ESTUDIO:

3.3.1 Muestra: Cepas de *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, inoculadas en 30 placas Petri, con 21 repeticiones para cada grupo experimental y grupo control, haciendo un total de 210 muestreos. (81) (82)

a. Grupo Experimental:

- Grupo experimental 1 (GE₁): Xilitol al 25% sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*
- Grupo experimental 2 (GE₂): Xilitol al 50% sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*
- Grupo experimental 3 (GE₃): Xilitol al 75% sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*
- Grupo experimental 4 (GE₄): Xilitol al 100% sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*
- Grupo experimental 5 (GE₅): Xilitol al 25% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus*
- Grupo experimental 6 (GE₆): Xilitol al 50% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus*
- Grupo experimental 7 (GE₇): Xilitol al 75% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus*
- Grupo experimental 8 (GE₈): Xilitol al 100% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus*

b. Grupo Control:



- Grupo control 1 (GC₁): Clorhexidina al 0.12% sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*
- Grupo control 2 (GC₂): Clorhexidina al 0.12% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus*

➤ **Características del Grupo de Estudio:**

a. Criterios de inclusión

- Placas con siembra adecuada de Cepas de *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*.
- Placas que después del proceso de incubación no presenten contaminación
- Placas que después del proceso de incubación presenten halos de inhibición en óptimas condiciones.

b. Criterios de exclusión

- Presencia de otros microorganismos en las placas Petri
- Placas que presenten defectos por manejo de laboratorio

3.4 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES:

Variables	Definición	Indicadores	Sub indicadores	Instrumento	Tipo de variable
Variable Independiente					
XILITOL	Alcohol de azúcar del grupo pentitol, se obtiene por la hidrogenación (reducción) catalítica de la D-xilosa. Posee casi la misma dulzura de la sacarosa pero aporta un 40% menos de calorías.	Concentraciones	25%, 50%, 75%, 100%	Ficha de recolección de datos	Cuantitativo de razón.
Variable Dependiente					
Inhibición de crecimiento de <i>Streptococcus sanguinis</i> (ATCC 10556)	Microorganismo asociado al biofilm de placa saludable, colonizador pionero en la formación del biofilm por la cual su inhibición constituye una medida primaria de prevención.	Diámetros de halo de inhibición	Escala de Duraffourd. - Nula > 0 = a 8mm. - Sensible = a 9-14 mm. - Muy sensible = a 15 -19 mm. - Sumamente sensible =< 20mm.	Ficha de recolección de datos	Cuantitativo de razón.



Inhibición de crecimiento de <i>Actinomyces viscosus</i> (ATCC 15987)	Micorganismo pionero en la formación del biofilm, su inhibición constituye una medida preventiva ideal.	Diámetros de halos de Inhibición	Escala de Duraffourd. - Nula > 0 = a 8mm. - Sensible = a 9-14 mm. - Muy sensible = a 15 -19 mm. - Sumamente sensible =< 20mm.	Ficha de recolección de datos	Cuantitativo de razón.
Variable Interviniente					
Tiempo	Período determinado durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento.	Horas	- 24 y 48 hrs	Reloj	Cuantitativo de razón

3.5 TECNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS:

a) **Técnica:** Observación directa.

b) **Instrumentos:**

- Documental: Fichas de recolección de datos
- Mecánico: Vernier digital y/o regla milimetrada

3.6 MATERIALES:

a) **Equipos de Laboratorio:**

- Autoclave (horno a presión de calor húmedo)
- Estufa esterilizada de 5°C a 220°C
- Incubadora bacteriana.
- Jarra anaeróbica
- Contador de colonias.
- Cocina eléctrica
- Mechero Bunsen
- Balanza Electrónica
- Estufa

b) **Reactivos**

- Medios de cultivo (Agar Mitis Salivarius, Agar Base, Agar Mueller Hinton)
- Caldos (Trypticase de soya)
- 01 frasco de Clorhexidina al 0.12%



- Agua destilada y suero fisiológico
- Alcohol al 96%

c) Materiales de vidrio:

- Placas Petri
- Matraz Erlenmeyer de 250ml, 300ml y 500ml
- Tubos de ensayo
- Pipeta Calibrada

d) Materiales de Laboratorio:

- Regla metálica milimetrada para medir espacios
- Papel filtro
- Hisopos estériles
- Algodón
- Jeringas descartables de 5ml, 10ml y tuberculina
- Papel craft y papel aluminio
- Biofil (cinta para sellar placas)

e) Elementos de Bioseguridad:

- Guantes quirúrgicos estériles
- Anteojos transparentes
- Mandil color blanco
- Gorra color blanco
- Mascarilla desechable
- Detergente, desinfectantes y jabón carbólico.
- Escobilla para lavado de manos

f) Infraestructura:

- Laboratorio de Microbiología de la Facultad De Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

g) Elementos Auxiliares de registro

- Cámara fotográfica digital 7,5 mega píxeles y computadora
- Papel, lápiz y lapiceros

3.7 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCION DE DATOS:

3.7.1 Obtención de Bacterias:



Para la obtención de las bacterias para este estudio se asumió las indicaciones y recomendaciones del Laboratorio GenLab del Peru SAC, encargada de la importación de las bacterias, el cual envió también las especificaciones *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556 y *Actinomyces viscosus* ATCC 15987. Una vez recibidas se conservó a menos dos grados centígrados antes de su activación y replica.

3.7.2 Siembra y Activación de Bacterias:

- Para activación de las bacterias *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) se preparó los agares *Mitis salivarius* y agar Sangre para cada bacteria respectivamente
- Pesamos en la balanza de precisión 1.8 gr del agar *Mitis salivarius* en 20 ml de agua destilada por indicación del rotulo del agar; 0.8 gr de agar base más 0.04 gr de *Tripticasa* de soya (que representa el 5 %) para el Agar Sangre fórmula establecida para esta preparación con 20 ml de agua destilada.
- Posteriormente se preparó la solución en matraces *Erlenmeyer* disolviendo al calor en cocina eléctrica sellados con papel aluminio y papel craf. Para su esterilización y licuefacción a una temperatura de 120°C en 20 minutos en autoclave.
- Se procedió al plaqueo en las placas petri previamente esterilizadas. Dejar enfriar hasta el proceso de gelificación.
- Una vez listo los agares de cultivos se procedió a colocar la solución buffer en un tubo de ensayo estéril, esta solución buffer es proveída por el laboratorio
- Después de esto se procedió a retirar los microorganismos de su envase, para esto se debe tener todas las medidas de bioseguridad para evitar la contaminación de las bacterias
- Se procede a sembrar el microorganismo en el agar ya preparado
- Sellamos las placas Petri con biofil (cinta para sellar), rotulamos las placas
- Colocamos las placas Petri en un frasco de anaerobiosis y la llevamos a la incubadora a una temperatura de 37° por 24 horas.

3.7.3 Preparación de medios de cultivos:

a. Preparación del Agar Mitis Salivarius:



- Para la preparación del agar sacamos las proporciones con la regla de tres simple según las indicaciones del agar :

- Agar Base:

$$500\text{gr} \longrightarrow 12500\text{ml}$$

$$X \longrightarrow 300\text{ml}$$

$$X = 12 \text{ gr}$$

- Agar Mitis Salivarius (5%):

$$12\text{gr} \longrightarrow 100\%$$

$$X \longrightarrow 5\%$$

$$X = 0.6 \text{ gr}$$

Agar Base + Agar Mitis Salivarius (5%)

- En 300 ml de agua destilada en matraz Erlenmeyer se trasvasa para diluirlos en calor en la cocina eléctrica, previamente sellados con papel aluminio y papel craf.
- Una vez disueltos los agares se llevó al autoclave para su esterilización y licuefacción, a 120 ° por 20 min
- Se dejó enfriar a 45- 50° antes de colocarlos en las placas petri previamente esterilizadas. Al enfriar los agares toma un estado gelificado.

b. Preparación del Agar Sangre:

- Primero sacamos las proporciones con la regla de tres simple según las indicaciones del agar :

- Agar Base:

$$500\text{gr} \longrightarrow 12500\text{ml}$$

$$X \longrightarrow 300\text{ml}$$

$$X = 12 \text{ gr}$$

- Tripticasa de Soya (5%):

$$12\text{gr} \longrightarrow 100\%$$

$$X \longrightarrow 5\%$$

$$X = 0.6 \text{ gr}$$

- Medimos 300 ml de agua destilada en la probeta



- Colocamos los agares y el agua destilada en el matraz Erlenmeyer para posteriormente calentarlo en la cocina eléctrica, previamente sellados con papel aluminio y papel craf.
- Una vez disueltos los agares se llevó al autoclave para su esterilización y licuefacción, a 120 ° por 20 min
- Colocamos el 5% de sangre que según la regla de tres simple saldría de la siguiente manera

$$300\text{ml} \longrightarrow 100\%$$

$$X \longrightarrow 5\%$$

$$X = 15 \text{ ml}$$

- Una vez colocado 15 ml de sangre se dejó enfriar a 45- 50° antes de colocarlos en las placas petri previamente esterilizadas. Al enfriar los agares toma un estado gelificado.

3.7.4 Preparación de Xilitol:

- Según la normalidad (propiedad de una disolución) y las propiedades del xilitol se sacaron las proporciones de la siguiente manera:

$$\text{Peso mol del Xilitol} = 152.15 \text{ gr}$$

$$\text{Normalidad} = \frac{\text{peso mol}}{\text{1 L de solvente}}$$

$$= \frac{152.15 \text{ gr}}{\text{1 L (agua destilada)}}$$

$$= 152.15 \text{ gr}$$

$$\text{1 L (agua destilada)}$$

- Solo se necesitó 100 ml de disolución y según la regla de tres simple:

$$152.15 \text{ gr} \longrightarrow 1000 \text{ ml (1L)}$$

$$X \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

$$X = 15.215 \text{ gr}$$

- Se disolvió el Xilitol en agua destilada en un matraz Erlenmeyer según la proporción.
- Procedimos a colocar las disoluciones en tubos de prueba y estériles previamente rotulados de la siguiente manera:
 - ✓ La primera concentración es al 100%, sacamos 10 ml con una jeringa descartable del matraz que contiene el Xilitol disuelto.
 - ✓ La concentración al 75 % se obtuvo agregando 7.5 ml del matraz (con el Xilitol disuelto al 100%) y 2.5 ml de agua destilada pura.



- ✓ La concentración al 50 % se obtuvo agregando 5 ml del matraz (con el Xilitol disuelto al 100%) y 5 ml de agua destilada pura
- ✓ La concentración al 25 % se obtuvo agregando 2.5 ml del matraz (con el Xilitol disuelto al 100%) y 7.5 ml de agua destilada pura

3.7.5 Prueba de Susceptibilidad Microbiana por el Método de Difusión en Agar Según Kirby Bauer

a. PREPARACIÓN DEL ESTANDAR 0.5 MC FARLAND PARA EL INOCULO:

- El inóculo del *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus*, fue preparado extrayendo las colonias de sus respectivas placas con hisopo estéril, para la muestra en 10 ml de suero fisiológico.
- Se repartió la muestra de 1 ml en tubo de 9 ml de suero fisiológico denominado tubo de 10^{-1}
- Del tubo de 10^{-1} se trasvaso 1 ml a un tubo de 9 ml de suero fisiológico denominado tubo 10^{-2}
- Del tubo de 10^{-2} se trasvaso 1 ml a un tubo de 9 ml de suero fisiológico denominado tubo 10^{-3}
- Del tubo de 10^{-3} se trasvaso 1 ml a un tubo de 9 ml de suero fisiológico denominado tubo 10^{-4}
- Se midió todos los tubos en espectrofotómetro, el tubo que marcaba una turbidez de 0.5 de Mac Farland, es el que corresponde a una concentración de 1.5×10^3 alfa unidades formadoras de colonias

b. INOCULACIÓN DE LAS PLACAS POR EL METODO DE ESTRÍAS POR AGOTAMIENTO

Se inoculó con el contenido de ambos tubos de ensayo, con las cepas de *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* distribuyéndolos en a las placas Petri con el agar *Mitis salivarius* y Agar sangre respectivamente, siendo la siembra por agotamiento con hisopado en tres direcciones para asegurar la distribución uniforme, repitiendo el procedimiento en las 30 placas Petri.

c. APLICACIÓN DE LOS DISCOS POR EL METODO DE KIRBY BAUER (83)



- Primeramente se rotulo las placas separándolas por bacterias (*S. sanguinis* y *A. viscosus*) y concentraciones (100%,75%, 50% y 25%)
- Se realizó siete pocillos separados uniformemente, se colocó los discos de papel filtro ya esterilizados, dentro de los pocillos con la ayuda de una pinza estéril.
- Seguidamente con una pipeta automática se suministró 10 μ l del Xilitol en sus diferentes concentraciones 100%,75%, 50% y 25% dentro de los pocillos con papel filtro, en 3 placas Petri para cada concentración y bacteria.

d. INCUBACIÓN

- Antes de llevar a la incubadora se sellaron todas las placas Petri biofil (cinta para sellar)
- Se tuvo en reposo por 30 minutos todas las placas.
- Pasado el tiempo se colocó las placas Petri en posición invertida a 37°C en la incubadora.
- Después de las 24 y 48 horas de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

3.7.6 Recolección de Datos

- Pasados las 24 y 48 horas se registró los datos observados en la ficha de recolección de datos. Utilizando vernier y contador de colonias para medir el halo de inhibición.
- El efecto inhibitorio se consideró en base al diámetro de los halos de inhibición según la escala de Durafford:
 - ✓ Nula > 0 = a 8 mm.
 - ✓ Sensible = a 9-14 mm.
 - ✓ Muy sensible = a 15 -19 mm.
 - ✓ Sumamente sensible =< 20 mm.
- Para el procesamiento de los datos se hizo uso del programa Excel.
- Para la realización de cuadros y gráficos estadísticos se usó el programa de Infostat (versión estudiantil).

3.7.7 Análisis Estadístico:



Para interpretar los resultados en el presente estudio, en concordancia con los objetivos e hipótesis; se utilizó la prueba de t, para calcular la diferencia entre la media de los promedios de halo de inhibición de los diferentes tratamientos y la media hipotética en relación a la variabilidad de los halos de inhibición; la prueba de TUKEY entre los grupos de estudio para establecer si hay diferencias significativas entre los tiempos; el Análisis de Varianza de ANDEVA para evaluar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de halo de inhibición y para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones independientes, con distribución normal con un valor de $P < 0.05$ considerado estadísticamente significativo, con un nivel de confianza al 95%.

Prueba de t: Prueba estadística para evaluar la hipótesis nula de la media de halo de inhibición (diámetro de halo en mm de *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*) es igual a un valor específico, con la siguiente fórmula:

$$t^* = \frac{\bar{X} - \mu}{\frac{S_x}{\sqrt{n}}}$$

- t = prueba t de muestra única
- x = media muestral
- S = Desviación estándar
- n = tamaño de repeticiones (mm)

Análisis de varianza: Es la prueba estadística de significancia que analiza la hipótesis de las medias de dos o más repeticiones son iguales, asimismo evalúa la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de distintos tratamientos

$$Y_{ij} = \mu + t_j + E_{ij}$$

- Y_{ij} : variable objeto de estudio (mm)
- μ : Constante que indica la respuesta media de cada nivel
- t_j : Efecto diferencial de nivel “j” recoge información de cada tratamiento. Que es el objetivo del análisis.
- E_{ij} : Terminó error considerado, como variable aleatoria.



Contraste de Tukey: Prueba todas las diferencias entre medias de tratamiento, la única exigencia es que el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos.

$$W = q_{(t,gle,\alpha)}\chi\sqrt{CMee}/r$$

- Q = Amplitud total estandarizada. Valor encontrado.
- α = Nivel de significancia.
- t = Número de tratamientos.
- Glee: Grado de libertad del error experimental.
- CMee: Cuadro medio del error experimental.
- r: Número de repeticiones de las medidas de los tratamientos.

3.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS:

Se consideró todas las medidas de bioseguridad para el manejo de microorganismos, así también las indicaciones del laboratorio proveedor de las cepas bacterianas. Se pidieron los respectivos permisos y certificaciones del trabajo de investigación:

- a. Solicitud dirigida al Decano de la Facultad de Medicina Humana para el uso del Laboratorio de Microbiología.
- b. Constancia de haber ejecutado el proyecto en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana
- c. Certificado de análisis: especificación de microorganismos liofilizados y rendimiento, otorgado por el laboratorio proveedor.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 RESULTADOS:

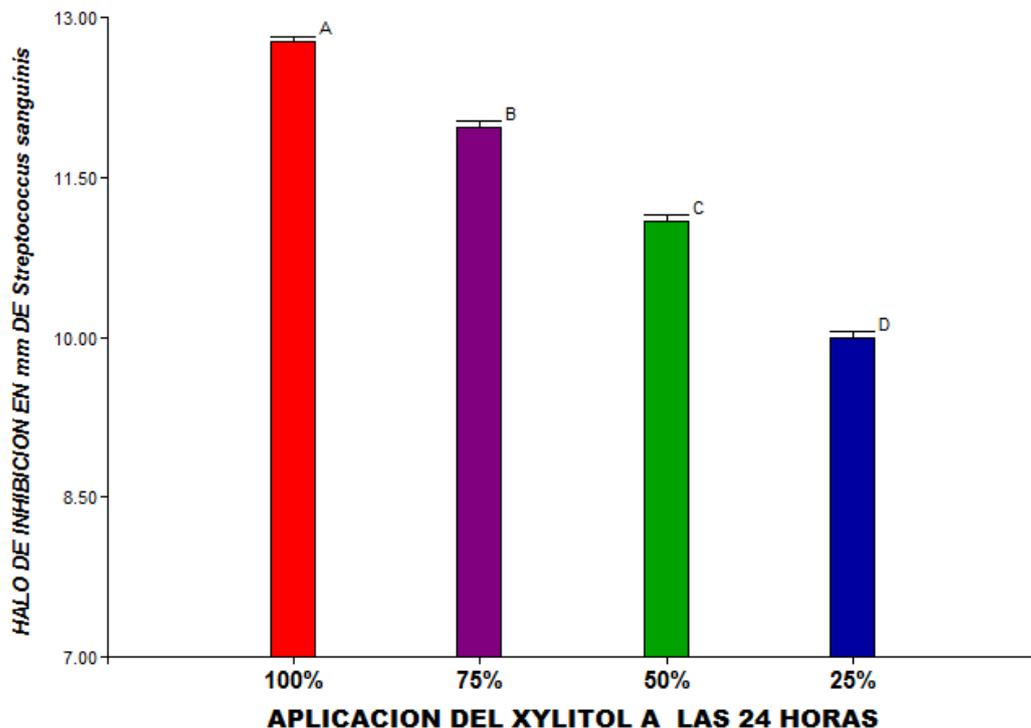
TABLA N°1: EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% SOBRE *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556) A LAS 24 HORAS.

PRUEBA ESTADISTICA DE t	EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% FRENTE A LA BACTERIA <i>STREPTOCOCCUS SANGUINIS</i> (ATCC 10556) A LAS 24 HORAS			
	100%	75%	50%	25%
PROMEDIO	12.77 mm	11.97 mm	11.09 mm	9.99 mm
DE	± 0.28	± 0.28	± 0.23	± 0.23
LI	12.64 mm	11.84 mm	10.99 mm	9.89 mm
LS	12.89 mm	12.09 mm	11.19 mm	10.09 mm
T_{Calculada}	209.03	195.93	223.08	200.95
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En el análisis de la tabla 1 podemos mencionar que, la técnica utilizada para la interpretación del efecto inhibitorio del Xilitol al 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) pionera en la formación del biofilm dental, se fundamenta en la presencia de halos de inhibición que son expresados en mm, observado *in vitro* a las 24 horas, los resultados obtenidos podemos afirmar que $t_{calculada}$ es mayor que $t_{tabulada}$ por lo tanto son homogéneos y no dispersos los datos, con valor de la media bajo la hipótesis nula, los resultados nos demuestran que el mayor promedio de halo de inhibición para *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), se registra con la aplicación de Xilitol al 100% con 12.77 mm por lo que tiene un mejor efecto inhibitorio, el menor promedio se da con la aplicación del Xilitol al 25% con 9.99 mm. Por lo que se concluye que a mayor concentración con la aplicación del Xilitol mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) a las 24 horas.

FIGURA N° 1: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACIÓN DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556) A LAS 24 HORAS



INTERPRETACIÓN: Sometidos los datos de halo de inhibición a la prueba estadístico de análisis de varianza (ANDEVA), se observa que la $F_{calculada}$ es mayor que la $F_{tabular}$, por lo tanto la variable aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100% tiene una diferencia significativa con un C.V. de 2.23 y una probabilidad de 0.05. Por lo que se sometió a la prueba estadística de contraste de Tukey con $\alpha = 0.05$, $DMS = 0.20663$ y $gl = 80$ entre las medias de la zona de inhibición con la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), siendo el resultado marcadamente diferente entre las zonas de inhibición en favor a la concentración del 100% del Xilitol frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) en relación a las demás concentraciones, seguida de la concentración del 75% del Xilitol que es diferente y significativo en relación a las concentraciones de 50% y 25%, por ultimo existe diferencia significativa entre la aplicación de las concentraciones de 50% y 25% del Xilitol, en conclusión existe relación entre las variables de concentración del Xilitol frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556).

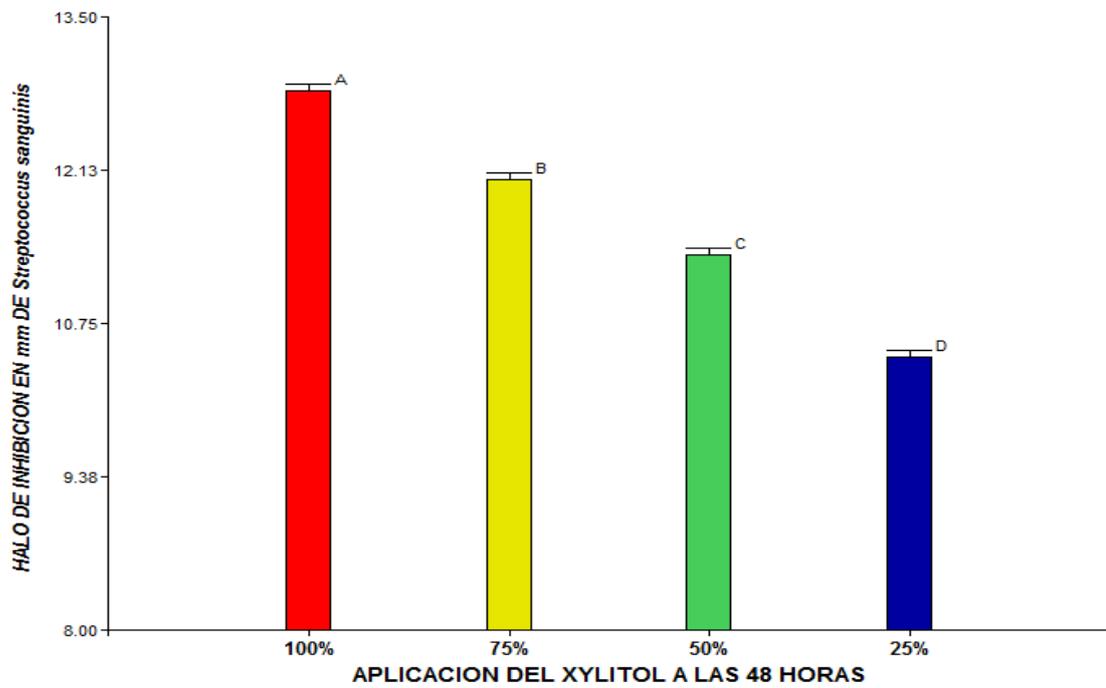
TABLA N°2: EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% *SOBRE STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556) A LAS 48 HORAS.

PRUEBA ESTADISTICA DE t	EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% FRENTE A LA BACTERIA <i>STREPTOCOCCUS SANGUINIS</i> (ATCC 10556) A LAS 48 HORAS			
	100%	75%	50%	25%
PROMEDIO	13.31 mm	12.51 mm	11.82 mm	10.95 mm
DE	±0.30	±0.30	± 0.28	±0.22
LI	13.18 mm	12.38 mm	11.69 mm	10.85 mm
LS	13.45 mm	12.65 mm	11.95 mm	11.05 mm
T_{Calculada}	206.52	194.11	194.41	222.98
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En la tabla 2 podemos observar el análisis estadístico de la prueba de t de los datos obtenidos del halo de inhibición de las concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% del Xilitol a la aplicación in vitro de 48 horas frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) que está presente en la actividad cariogénica, con los resultados obtenidos mostrados en la tabla podemos mencionar que $t_{calculada}$ es mayor que $t_{tabular}$ por lo que afirmamos que no existe dispersión de los datos siendo estos homogéneos con el valor de la media bajo la hipótesis nula, resultando el mayor promedio de halo de inhibición para la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) con la aplicación de Xilitol al 100% con un promedio de 13.31 mm, el menor promedio se da con la aplicación del Xilitol al 25% con 10.95mm. Por lo que se concluye que a mayor concentración con la aplicación del Xilitol es mejor el efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) a las 48 horas.

FIGURA N° 2: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACIÓN DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556) A LAS 48 HORAS



INTERPRETACIÓN: En la prueba estadístico de análisis de varianza (ANDEVA) de los datos del efecto inhibitorio a las 48 horas, se observa que la $F_{calculada}$ es mayor que la $F_{tabular}$, por lo que con la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100% existe una diferencia significativa sobre el efecto inhibitorio, frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) con un C.V. 2.35 y una probabilidad de 0.05, por lo que se sometió a la prueba estadística de contraste de Tukey $\alpha = 0.05$, DMS = 0.22177 y $gl = 80$ entre las medias de la zona de inhibición con la aplicación del Xilitol en los diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), siendo el resultado marcadamente diferente entre la zona de inhibición al 100% del Xilitol a las 48 horas con relación a los demás concentraciones, seguida mejor efecto inhibitorio con la concentración *del 75% de Xilitol* a las 48 horas en relación a las concentraciones de 50% y 25%, por ultimo existe diferencia significativa entre el tratamiento de concentraciones de 50% y 25%, en tal sentido existe relación entre las variables frente a la bacteria de *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), en sus concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 48 horas.

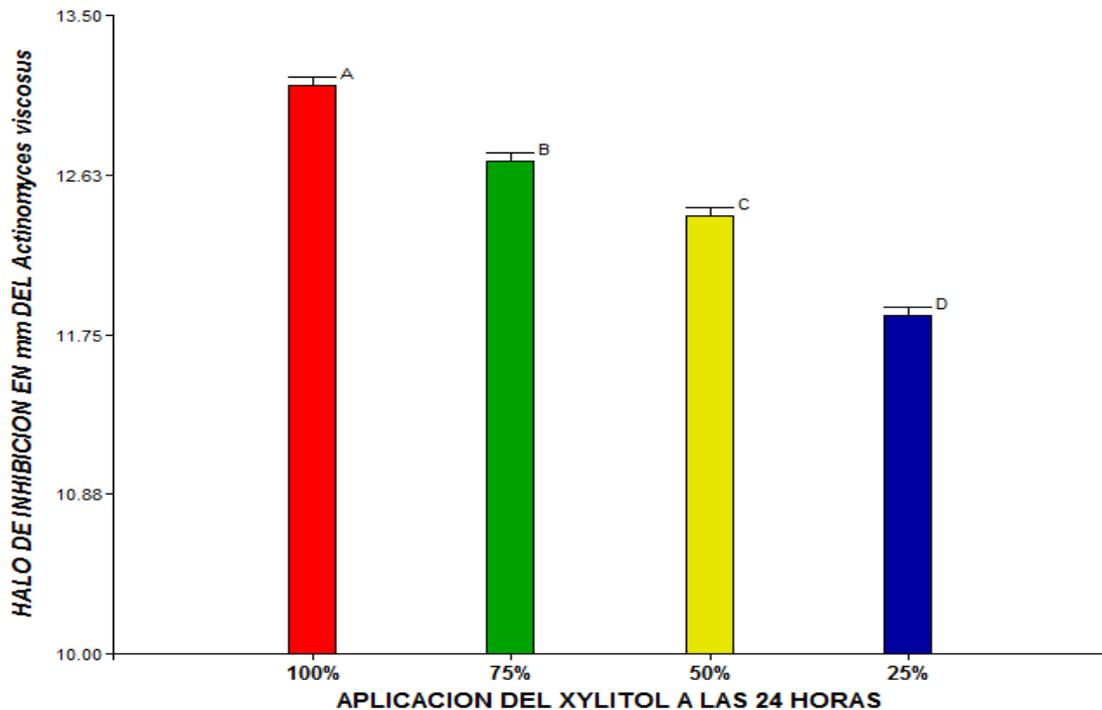
TABLA N°3: EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% SOBRE *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987) A LAS 24 HORAS.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE t	EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% FRENTE A LA BACTERIA <i>ACTINOMYCES VISCOSUS</i> (ATCC 15987) A LAS 24 HORAS			
	100%	75%	50%	25%
PROMEDIO	13.11 mm	12.70 mm	12.40 mm	11.85 mm
DE	± 0.20	± 0.17	± 0.17	± 0.26
LI	13.02 mm	12.62 mm	12.32 mm	11.73 mm
LS	13.20 mm	12.78 mm	12.48 mm	11.97 mm
T Calculada	303.21	347.80	339.59	303.21
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En el cálculo de datos del halo de inhibición con la prueba estadística de t se observa en la tabla 3, los resultados obtenidos con la técnica utilizada para la interpretación de la zona de inhibición del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), microorganismo que forma parte de la cavidad oral, los halos de inhibición son expresados en mm, observado *in vitro* a las 24 horas, en los resultados obtenidos podemos mencionar que $t_{calculada}$ es mayor que $t_{tabular}$ en tal razón no existe dispersión de los datos siendo estos homogéneos, el valor de la media bajo la hipótesis nula, resultando el mayor promedio de halo de inhibición con la aplicación del Xilitol a una concentración de 100% con un promedio de 13.11 mm, el menor promedio se da con la aplicación del Xilitol al 25% con 11.85mm. Por lo que se concluye que a mayor concentración del Xilitol mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (15987) a las 24 horas.

FIGURA N° 3: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACIÓN DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A LA BACTERIA *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987) A LAS 24 HORAS



INTERPRETACIÓN: En la prueba estadística de análisis de varianza de los datos del efecto inhibitorio a las 24 horas, se observa que la F calculada es mayor que la F tabulada, con la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100% existe una diferencia significativa en el efecto inhibitorio con un C.V. 1.62 con una probabilidad de 0.05, se sometió a la prueba estadística de contraste de Tukey $\alpha = 0.05$, $DMS = 0.16391$ y $gl = 80$ entre la zona de inhibición con la aplicación del Xilitol en sus diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), fue marcadamente diferente entre la zona de inhibición, en favor al tratamiento con Xilitol al 100% a las 48 horas, en relación a los demás aplicaciones; seguida la diferencia significativo con Xilitol al 75% a concentraciones de 50% y 25%, por ultimo existe diferencia significativa entre el tratamiento de concentraciones de 50% y 25%, en tal sentido existe relación entre las variables en sus concentraciones frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 24 horas.

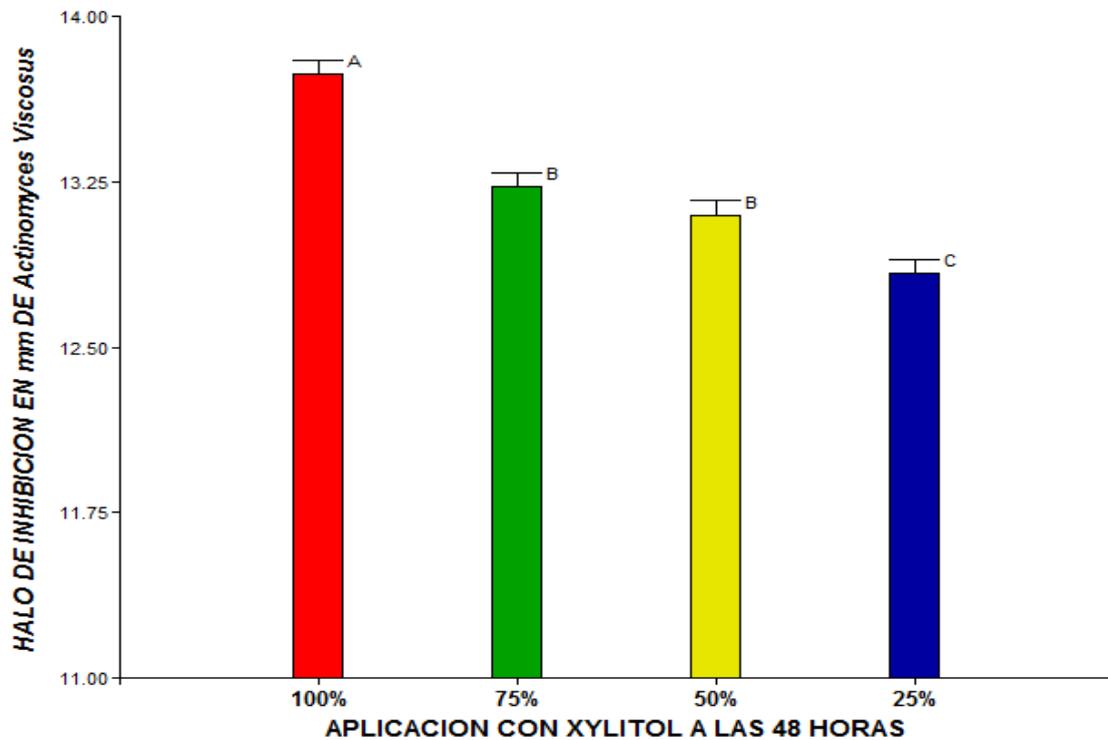
TABLA N°4: EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% SOBRE *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987) A LAS 24 HORAS.

PRUEBA ESTADISTICA DE t	EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% FRENTE A LA BACTERIA <i>ACTINOMYCES VISCOSUS</i> (ATCC 15987) A LAS 48 HORAS			
	100%	75%	50%	25%
PROMEDIO	13.74 mm	13.23 mm	13.10 mm	12.83 mm
DE	± 0.27	± 0.29	± 0.29	± 0.30
LI	13.61 mm	13.09 mm	12.97 mm	12.70 mm
LS	13.86 mm	13.36 mm	13.23 mm	12.97 mm
T_{Calculada}	229.16	206.54	205.91	194.60
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En la tabla 4 se observa los resultados obtenidos del efecto inhibitorio del Xilitol al 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Actinomyces viscosus*(ATCC 15987), bacteria que inicia la formación del biofilm, los halos de inhibición son expresados en mm, observado *in vitro* a las 48 horas, en los resultados obtenidos podemos mencionar que $t_{calculada}$ es mayor que $t_{tabular}$ indica que no existe dispersión de los datos siendo homogéneos, el valor de la media bajo la hipótesis nula, teniendo el mayor promedio de halo de inhibición para *Actinomyces viscosus*(ATCC 15987), se registra con la aplicación de Xilitol al 100% con 13.74 mm, el menor promedio con la aplicación del Xilitol al 25% con 12.83 mm. Por lo que se concluye que a mayor concentración con la aplicación del Xilitol mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 48 horas.

FIGURA N° 4: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACIÓN DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A LA BACTERIA *ACTINOMYCES VISCOSUS* A LAS 48 HORAS



INTERPRETACIÓN: Sometidos los datos del halo de inhibición a la prueba estadístico de ANDEVA del efecto inhibitorio a las 48 horas, se observa que la $F_{calculada}$ es mayor que la $F_{tabulada}$, por consiguiente con la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100% existe una diferencia significativa en el efecto inhibitorio con un C.V. 2.20 y una probabilidad de 0.05 a las 48 horas, se sometió a la prueba estadística de comparación de medias de Tukey alfa = 0.05, DMS = 0.23537 y gl = 80 entre la zona de inhibición con la aplicación del Xilitol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), fue marcadamente diferente entre la zona de inhibición a la aplicación con Xilitol al 100% a las 48 horas frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), en relación a los demás aplicaciones, seguida la diferencia significativo con la aplicación con Xilitol al 75% a las 48 horas, en relaciones a las concentraciones de 50% y 25%, por ultimo existe diferencia significativa entre el tratamiento de concentraciones de 50% y 25%, en tal sentido existe relación entre las variables en sus cuatro concentraciones frente a la bacteria *Actinomyces viscosus*(ATTCC 15987) a las 48 horas.

TABLA N°5: COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% A LAS 24 Y 48 HORAS Y CONTROL POSITIVO (CLORHEXIDINA 0.12%) SOBRE LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556)

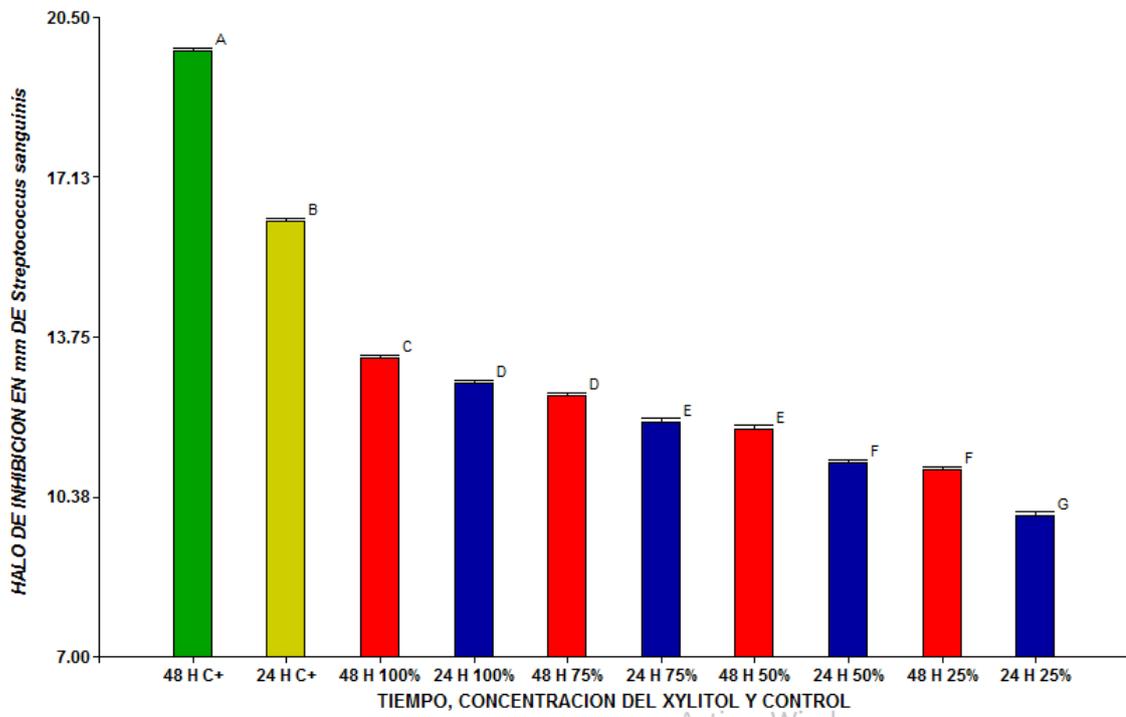
COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL CONTROL POSITIVO (CLORHEXIDINA 0.12%) SOBRE LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 10556)

TIEMPO	24 HORAS					48 HORAS				
	C+	100	75	50	25	C+	100	75	50	25
CONCENTRACION	% % % % %					% % % % %				
PROMEDIO	16.19	12.77	11.97	11.09	9.99	19.80	13.31	12.51	11.82	10.95
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
PORCENTAJE	100	78.87	73.93	68.49	61.70	100	67.22	63.18	59.6	55.30
	%	%	%	%	%	%	%	%	9%	%

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En el análisis de la tabla 5 son los resultados obtenidos del efecto de inhibición del Xilitol al 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 y 48 horas frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), siendo el control positivo (clorhexidina 0.12%) con mejor efecto y de mayor halo de inhibición con un promedio de 19.80 mm a las 48 horas, que representa el 100% de la actividad inhibitoria, en relación a la aplicación del Xilitol al 100% tiene mejor actividad inhibitorio de 13.31 mm de promedio, con 67.22% de efectividad en relación al control positivo. El menor efecto inhibitorio tiene la aplicación del Xilitol al 25% a las 24 horas con un promedio de 9.99 mm y un 61.70% de efectividad en relación al control positivo a las 24 horas; Por lo que se concluye que a mayor concentración con la aplicación del Xilitol al 100% a las 48 horas mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), y tiene mejor porcentaje de efectividad en relación al control positivo.

FIGURA N° 5: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACION DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% Y CONTROL POSITIVO FRENTE A LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS SANGUINIS* (ATCC 15987) A LAS 24 Y 48 HORAS.



INTERPRETACIÓN: Sometidos los datos del halo inhibitorio a la prueba estadístico de varianza (ANDEVA) se observa la $F_{calculada}$ es mayor que la $F_{tabular}$ por lo tanto la aplicación de Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100%, tiene una diferencia significativa en el efecto inhibitorio con un C.V. 2.18 y una probabilidad de 0.05, por lo que se sometió a la prueba estadística de contraste de Tukey con $\alpha = 0.05$, $DMS = 0.27757$ y $gl = 200$ entre la zona de inhibición con la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y el Control positivo (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) fue marcadamente diferente entre la zona de inhibición, en favor del control positivo seguido de la aplicación con Xilitol al 100% a las 48 horas, en relación a las demás aplicaciones, seguida de la aplicación con Xilitol al 100% a las 24 horas con la del Xilitol al 75% a las 48 horas, y las aplicaciones del Xilitol al 75% a las 24 horas con la del Xilitol al 50% a las 48 horas así también la aplicación del Xilitol al 50% a las 24 horas con la aplicación del Xilitol al 25% a las 48 horas.

TABLA N°6: COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 100%, 75%, 50%, 25% A LAS 24 Y 48 HORAS Y CONTROL POSITIVO (CLORHEXIDINA 0.12%) SOBRE LA BACTERIA *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987).

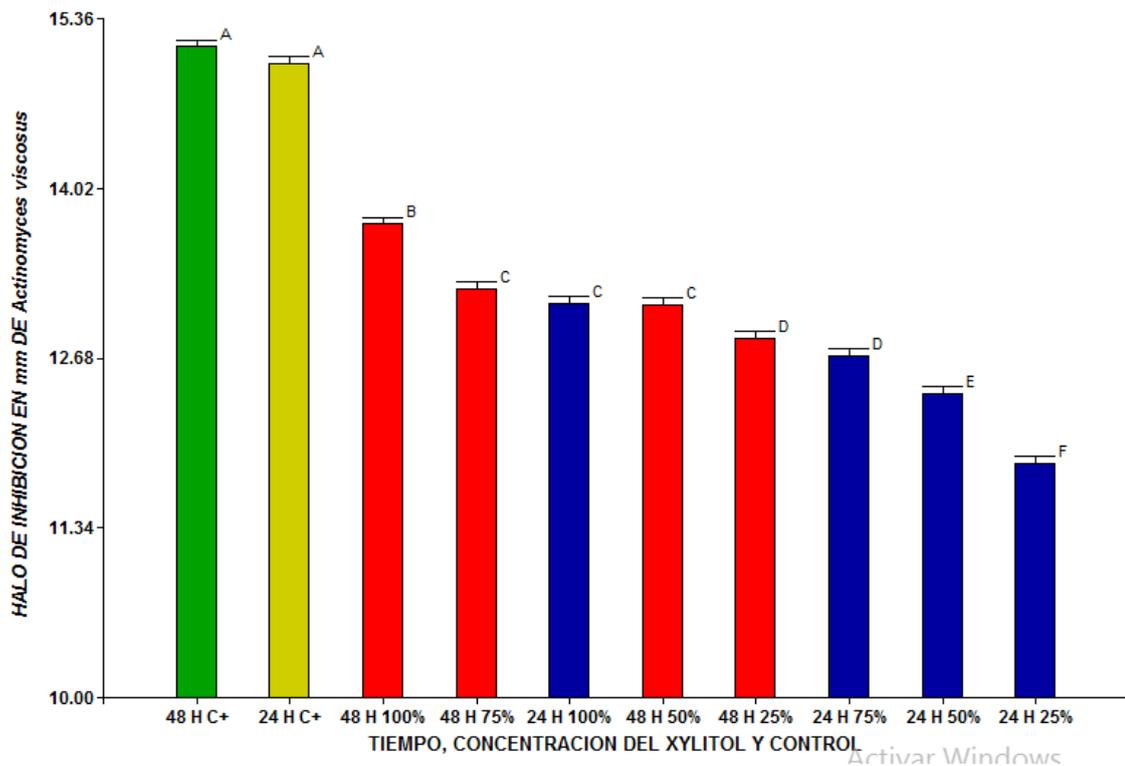
COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL CON EL CONTROL POSITIVO (CLORHEXIDINA 0.12%) SOBRE LA BACTERIA *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987)

TIEMPO	24 HORAS					48 HORAS				
	C+	100	75	50	25	C+	100	75	50	25%
CONCENTRACIONES		%	%	%	%		%	%	%	
PROMEDIO	15.00	13.11	12.70	12.40	11.85	15.14	13.74	13.23	13.10	12.83
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
PORCENTAJE	100	87.40	84.6	82.6	79.0	100%	90.7	87.3	86.5	84.74
	%	%	6%	6%	0%		5%	8%	2%	%

Fuente: los investigadores.

INTERPRETACIÓN: En la tabla 6 los resultados del efecto de inhibición del Xilitol al 25%, 50%, 75%, 100% y control positivos a las 24 y 48 horas, frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), teniendo el mayor halo de inhibición con el control positivo con un promedio de 15.14 mm a las 48 horas que representa el 100% , en relación de la aplicación del Xilitol al 100% tiene mejor efecto inhibitorio; siendo su halo de inhibición de 13.74 mm de promedio, con 90.75% de efectividad en relación al control positivo (clorhexidina 0.12%). El menor efecto inhibitorio tiene la aplicación del Xilitol al 25% a las 24 horas con un promedio de 11.85 mm y un 79% de efectividad en relación al control positivo a las 24 horas; por lo que se concluye que a mayor concentración con la aplicación del Xilitol al 100% a las 48 horas mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria de *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987).

FIGURA N° 6: PRUEBA ESTADÍSTICA DE COMPARACION DE TUKEY DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON XILITOL EN CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100% Y CONTROL POSITIVO FRENTE A LA BACTERIA *ACTINOMYCES VISCOSUS* (ATCC 15987) A LAS 24 Y 48 HORAS.



INTERPRETACION: Sometidos los datos a la prueba Estadística de ANDEVA que la $F_{calculada}$ es mayor que la $F_{tabular}$ por consiguiente la aplicación del Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% y control positivo (clorhexidina 0.12%) tiene una diferencia significativa en el efecto inhibitorio con un C.V. 1.79 y una probabilidad de 0.05, por lo que se sometió a la prueba estadística Xilitol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y Control positivo frente a la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), fue marcadamente diferente entre la zona de inhibición, en favor del control positivo, seguido de la aplicación con Xilitol al 100% a las 48 en relación a los demás aplicaciones; seguida la diferencia significativo con la aplicación con Xilitol al 75% a las 48 horas, teniendo el mismo efecto inhibitorio la aplicación del Xilitol al 75% a las 48 horas con la del Xilitol al 100% a las 24 horas y también la del Xilitol al 50% a las 48 horas, por último se tiene el mismo efecto con las aplicaciones del Xilitol al 25% a las 48 horas y la aplicación del Xilitol al 75% a las 24 horas.



4.2 DISCUSIONES:

La caries y la enfermedad periodontal se relacionan directamente con la presencia de placa bacteriana. El *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, son las bacterias más importantes en la formación de la placa bacteriana; razón por la que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto inhibitorio del Xilitol sobre dichas bacterias.

Este estudio tuvo como resultados que el Xilitol inhibe la formación y desarrollo de estas bacterias; resultados que son similares a los reportados por Saheer y colaboradores,(6) quienes demostraron que las gomas de mascar con Xilitol tiene un efecto directo sobre la placa bacteriana puesto que reduce su formación.

Las diferentes investigaciones del Xilitol realizados a cepas del género *Streptococcus*, demuestran también el efecto que este tiene sobre este tipo de bacterias; como el estudio de Salli y colaboradores,(7) quienes compararon los efectos de la sacarosa, el Xilitol y su combinación en tres cepas de *Streptococcus mutans* y una cepa de *Streptococcus sobrinus* demostrando que dentro de una biopelícula joven, la sacarosa promueve significativamente la colonización y proliferación bacteriana mientras que el Xilitol lo reduce, afirmando que el consumo de Xilitol disminuye la incidencia de caries y reduce la cantidad de placa; así también Orellana(9) evaluó el mejor efecto inhibitorio del Xilitol en diferentes concentraciones y en dos períodos de tiempo de exposición, sobre *Streptococcus* cuyos resultados determinaron que el Xilitol mostró efecto inhibitorio en la mayoría de concentraciones a las 24 horas; el estudio de Trahan (10) explico cómo el Xilitol, interfiere con el crecimiento de *Streptococcus mutans*; el Xilitol fue transportado y fosforilado por un sistema constitutivo de fosfoenol piruvato: fructosa fosfotransferasa en *S. mutans*. Los resultados de nuestro estudios son similares a los estudios anteriores ya que se comprobó que el Xilitol si tiene efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus sanguinis* bacteria perteneciente a la misma familia de las cepas estudiadas por Orellana y Trahan, tanto a las 24 horas como a las 48 horas; ya que el Xilitol actúa inhibiendo el crecimiento de estos microorganismos en base al establecimiento de un ciclo estéril de consumo de energía intracelular que rompe la cadena energética del fosfato mediante la inhibición de la producción de polisacáridos de las cepas.

Así también concordamos con el estudio de Ghzelbash y colaboradores(8), quienes comprobaron que tanto el Xilitol como el eritrol (otro poliol usado



también como edulcorante) inhibieron el crecimiento de los *Streptococcus* (*S. sanguinis*, *S. sobrinus* y *S. mutans*), sin embargo sus conclusiones fueron que el eritritol es más eficaz que el Xilitol.

Con respecto a las bacterias usadas en nuestro estudio, algunos autores también las estudiaron junto a otros edulcorantes, Brañez(12) determino el efecto antibacteriano del extracto de *Stevia rebaudiana* frente a *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*; en donde la *Stevia* hizo más efecto en la bacteria de *A. viscosus* que en *S. sanguinis*, en nuestro estudio con el Xilitol también se vio que el Xilitol tuvo mayor efecto inhibitorio en *Actinomyces viscosus* en comparación al *Streptococcus sanguinis*, esto puede ser debido a que el Xilitol se metaboliza de forma diferentes en ambas bacterias; el *Streptococcus sanguinis* como ya sabemos, metaboliza al xilitol a través del sistema fosfotransferasa al igual que el *Streptococcus mutans* como lo explica el estudio de Trahan, en cambio el *Actinomyces viscosus* no fosforilan estos polioles y se oxida a fructosa por una deshidrogenasa inducible y la fosforilación adicional a fosfato de fructosa 6 es catalizada por una enzima dependiente de GTP, debido a esto podríamos sugerir el estudio de los efectos de la *Stevia* y el Xilitol frente a las bacterias *S. sanguinis* y *A. viscosus* ya que parecen tener similar efecto sobre estas bacterias; sin embargo el estudio de Tovar Huaynate(11) comparo el efectos antibacteriano de la *Stevia* con el Xilitol frente a los *Streptococcus mutans*, concluyendo que la *Stevia* tiene mejor efecto inhibitorio frente al *Streptococcus mutans*, por otro lado Sihuinta(13) comparo el efecto del Xilitol y *Stevia* sobre el pH salival tratando de establecer cuál de los dos mantiene el pH salival más alcalino, y sus resultados demostraron que ambos edulcorantes producen una variación a los 15 y 30 minutos de aplicado, el Xilitol fue ligeramente mejor en comparación a la *Stevia* pero al comparar el efecto de ambos edulcorantes, no encontraron diferencias estadísticamente significativa, por tanto concluyeron que el uso de ambos edulcorantes es beneficioso para las personas que los consumen.

Otros estudios realizados en gomas de mascar, pastas dentales con el Xilitol como edulcorante también demostraron el efecto inhibitorio del Xilitol; Bocanegra(5) por un lado comparo el efecto de una goma de mascar cuyo principio activo también fue el Xilitol sobre los *Streptococcus mutans*, a las 24 y 72 horas las UFC disminuyeron significativamente sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans*, demostrando que el Xilitol si muestra su efecto aun como edulcorante en



gomas de mascar; en nuestro estudio el Xilitol se estudió como un endulzante natural que según los resultados, si presentaron efectos de inhibición frente a las bacterias estudiadas viéndose también que los halos de inhibición en relación a la concentración de Xilitol en ambas bacterias son inversamente proporcionales, es decir conforme va aumentando la concentración de aplicación del Xilitol, fue disminuyendo los halos de inhibición; así también en nuestra región Padilla en el 2012(14) determino el efecto del Xilitol sobre las UFC de *Streptococcus mutans* en saliva, utilizando como vehículo la pasta dental, luego de la aplicación durante 5 semanas, en sus resultados se vieron que disminuye desde un nivel 2 de *Streptococcus mutans* hasta un nivel 0 a diferencia del grupo control, y en el 2017(4) comparó el efecto de una pasta dental con Xilitol y una convencional en el recuento de *Streptococcus mutans* evaluando también el pH salival, todo ello en pacientes con aparatología ortodóntica fija, demostrando también que existe mayor efectividad de la pasta dental con Xilitol en relación a la pasta dental convencional en el recuento de *Streptococcus mutans* y pH salival. De este modo llegamos a la conclusión, en el presente estudio se acepta la hipótesis propuesta al inicio de la investigación, pudiendo afirmar que el Xilitol si tiene efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, a mayor concentración del tratamiento mejor efecto; tanto a las 24 y 48 horas.



V. CONCLUSIONES

1. El Xilitol, presenta efecto inhibitorio en sus diferentes concentraciones sobre las cepas de las bacterias *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) en las 24 y 48 horas, teniendo su mayor efecto en las concentraciones del 100% a las 48 horas en ambas bacterias.
2. El Xilitol a diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) en 24 y 48 horas, siendo mejor su efecto a las 48 horas a una concentración de 100 %.
3. El Xilitol a diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) en 24 y 48 horas, siendo mejor su efecto a las 48 horas a una concentración de 100 %.
4. El tamaño del halo de inhibición del grupo control positivo (Clorhexidina al 0,12%) fue mayor a las 48 horas al comparar con las diferentes concentraciones de Xilitol, sobre las cepas de *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556).
5. El tamaño del halo de inhibición del grupo control positivo (Clorhexidina al 0,12%) fue mayor a las 48 horas al comparar con las diferentes concentraciones de Xilitol, sobre las cepas de *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987)



VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda hacer estudios del Xilitol para determinar su concentración mínima inhibitoria; así también hacer estudios a mayor tiempo.
2. Se recomienda hacer estudios del Xilitol, frente a otros microorganismos patógenos de la cavidad bucal y así determinar la capacidad inhibitoria.
3. Se recomienda realizar estudios con bacterias nativas de Puno, para comparar el efecto.
4. Se recomienda a los pacientes utilizar el Xilitol con mayor frecuencia como medidas preventivas; dentífricos con xilitol u otros productos que contuviesen Xilitol (caramelos, chicles).



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramos D, Brañez K. Streptococcus Sanguinis Y Actinomyces Viscosus Bacterias Pioneras En La Formación Del Biofilm Dental. Rev Kiru. 2016;13(2):179–84.
2. Janakiram C, Deepan C, Joseph J. Xylitol in preventing dental caries: A systematic review and meta-analyses. J Nat Sci Biol Med. 2017;8(1):16.
3. Brambilla E, Ionescu A, Cazzaniga G, Ottobelli M, Samaranayake L. Levorotatory carbohydrates and Xylitol subdue Streptococcus mutans and Candida albicans adhesion and biofilm formation. J Basic Microbiol. mayo de 2016;56(5):480–92.
4. Padilla T. Efecto de la pasta dental con Xilitol y pasta dental convencional en el recuento de Stretococcus Mutans y Ph salival en paciente con Aparatologia Ortodontica que acuden a la consulta privada Puno 2017. Universidad Católica de Santa María; 2018.
5. Bocanegra Y. “Efecto de una goma de mascar conteniendo Xilitol sobre los niveles salivales de Streptococcus Mutans. Universidad Privada Antenor Orrego; 2015.
6. Saheer P, Parmar P, Majid S, Bashyam M, Kousalya P, Marriette T. Effect of sugar-free chewing gum on plaque and gingivitis among 14-15-year-old school children: A randomized controlled trial. Indian J Dent Res. 2019;30(1):61–6.
7. Salli K, Forssten S, Lahtinen S, Ouwehand A. Influence of sucrose and xylitol on an early Streptococcus mutans biofilm in a dental simulator. Arch Oral Biol. octubre de 2016;70:39–46.
8. Reza G, Nahvi I, Rabbani M. Comparative inhibitory effect of xylitol and erythritol on the growth and biofilm formation of oral Streptococci. African J Microbiol Res. 2012;6(20):4404–8.
9. Orellana C. Efecto inhibitori del xilitol a diferentes concentraciones sobre el Streptococcus Mutans aislado de la saliva de niños (as) de 6 a 7 años de la Unidad Educativa Municipal “ San Francisco de Quito”: Estudio in Vitro. Universidad Central del Ecuador; 2016.
10. Trahan L, Néron S, Bareil M. Intracellular xylitol-phosphate hydrolysis and efflux of xylitol in Streptococcus sobrinus. Oral Microbiol Immunol. febrero de 1991;6(1):41–50.
11. Tovar G, Cupé A. Actividad Antimicrobiana de la Stevia en comparacion con el xilitol, frente a los Streptococcus Mutans- Un estudio In Vitro. OActiva UC. 2016;1(2):51–4.



12. Brañez K, Ramos D, Castro A, Piscoche C, Dávila D, Ruiz J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de Stevia rebaudiana sobre Streptococcus sanguinis y Actinomyces viscosus, bacterias iniciadoras en la formación de biopelícula dental. *Odontol Sanmarquina*. 21 de marzo de 2018;21(1):21.
13. Sihuinta M. Efecto del Xilitol y stevia sobre el Ph salival de estudiantes del primer semestre de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas, Arequipa – 2016. Universidad Alas Peruanas; 2016.
14. Padilla T, Castillo J, Catacora P. Efecto de la Pasta Dental con Xylitol en el recuento de Streptococcus Mutans en niños de 7 a 9 años. Estudio Piloto. *Rev Investig Altoandinas - J High Andean Res*. 28 de junio de 2013;15(01).
15. Liébana Ureña J. *Microbiología Oral*. 2.a Edició. España: McGraw-Hill; 2002.
16. Caufield P, Dasanayake A, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin J. Natural history of Streptococcus sanguinis in the oral cavity of infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun*. 1 de julio de 2000;68(7):4018–23.
17. Catalina F, Rosa L, Luis B. Película adquirida salival: revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venez*. 2007;45(3):479–86.
18. Sarkonen N. Oral Actinomyces Species in Health and Disease: Identification, Occurrence and Importance of Early Colonization. National Public Health Institute. 2007;
19. Bernimoulin J. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol*. 2003;30 Suppl 5:7–9.
20. Serrano J, Herrera D. La palca dental como biofilm. como eliminarlo. *Rcoe*. 2005;10:431–9.
21. Costerton J, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol*. abril de 1994;176(8):2137–42.
22. Costerton J, Cheng K, Geesey G, Ladd T, Nickel J, Dasgupta M, et al. Bacterial Biofilms in Nature and Disease. *Annu Rev Microbiol*. 28 de octubre de 1987;41(1):435–64.
23. Nyvad B, Kilian M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Eur J Oral Sci*. 1987;95(5):369–80.
24. Bourgeau G, McBride B. Dextran-Mediated Interbacterial Aggregation Between Dextran-Synthesizing Streptococci and Actinomyces viscosus. Vol. 13, *Infection and Immunity*. 1976.
25. Socransky S, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent R. Microbial complexes in



- subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134–44.
26. Zhu B, Macleod L, Kitten T, Xu P. Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiol.* 2018;13(8):915–32.
 27. Negroni M. *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.* 2da Edicio. Microbiología Estomatológica. Buenos Aires: Medica Panamerican; 2009. 638 p.
 28. Xu P, Alves J, Kitten T, Brown A, Chen Z, Ozaki L, et al. Genome of the opportunistic pathogen Streptococcus sanguinis. *J Bacteriol.* abril de 2007;189(8):3166–75.
 29. Okahashi N, Nakata M, Terao Y, Isoda R, Sakurai A, Sumitomo T, et al. Pili of oral Streptococcus sanguinis bind to salivary amylase and promote the biofilm formation. *Microb Pathog.* marzo de 2011;50(3–4):148–54.
 30. Ganeshkumar N, Song M, McBride B. Cloning of a Streptococcus sanguis adhesin which mediates binding to saliva-coated hydroxyapatite. *Infect Immun.* 1988;56(5):1150.
 31. Loukachevitch L, Bensing B, Yu H, Zeng J, Chen X, Sullam P, et al. Structures of the Streptococcus sanguinis SrpA Binding Region with Human Sialoglycans Suggest Features of the Physiological Ligand. *Biochemistry.* 25 de octubre de 2016;55(42):5927–37.
 32. Bensing B, Loukachevitch L, Mcculloch K, Yu H, Vann K, Wawrzak Z, et al. Structural basis for sialoglycan binding by the streptococcus sanguinis SrpA adhesin. *J Biol Chem.* 1 de abril de 2016;291(14):7230–40.
 33. Xu P, Alves J, Kitten T, Brown A, Chen Z, Ozaki L, et al. Genome of the opportunistic pathogen Streptococcus sanguinis. *J Bacteriol.* abril de 2007;189(8):3166–75.
 34. Ge X, Kitten T, Chen Z, Lee S, Munro C, Xu P. Identification of Streptococcus sanguinis genes required for biofilm formation and examination of their role in endocarditis virulence. *Infect Immun.* junio de 2008;76(6):2551–9.
 35. Kopec L, Vacca A, Wunder D, Ng-Evans L, Bowen W. Properties of Streptococcus sanguinis Glucans Formed under Various Conditions. *Caries Res.* enero de 2001;35(1):67–74.
 36. Kreth J, Vu H, Zhang Y, Herzberg M. Characterization of hydrogen peroxide-induced DNA release by Streptococcus sanguinis and Streptococcus gordonii. *J Bacteriol.* octubre de 2009;191(20):6281–91.



37. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol.* noviembre de 2005;187(21):7193–203.
38. Chen L, Ge X, Dou Y, Wang X, Patel J, Xu P. Identification of hydrogen peroxide production related genes in *Streptococcus sanguinis* and their functional relationship with pyruvate oxidase. *Microbiology.* enero de 2011;157(1):13–20.
39. Yoshida A, Niki M, Yamamoto Y, Yasunaga A, Ansai T. Proteome Analysis Identifies the Dpr Protein of *Streptococcus mutans* as an Important Factor in the Presence of Early Streptococcal Colonizers of Tooth Surfaces. Biswas I, editor. *PLoS One.* 27 de marzo de 2015;10(3):e0121176.
40. Wang B, Kuramitsu H. Interactions between oral bacteria: Inhibition of *Streptococcus mutans* bacteriocin production by *Streptococcus gordonii*. *Appl Environ Microbiol.* enero de 2005;71(1):354–62.
41. Xiao J, Klein M, Falsetta M, Lu B, Delahunty C, Yates J, et al. The exopolysaccharide matrix modulates the interaction between 3D architecture and virulence of a mixed-species oral biofilm. *PloS Pathog.* abril de 2012;8(4):e1002623.
42. Burne R, Marquis R. Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. *FEMS Microbiol Lett.* diciembre de 2000;193(1):1–6.
43. Huang X, Zhang K, Deng M, Exterkate R, Liu C, Zhou X, et al. Effect of arginine on the growth and biofilm formation of oral bacteria. *Arch Oral Biol.* 1 de octubre de 2017;82:256–62.
44. Hajishengallis G, Lamont R. Beyond the red complex and into more complexity: The polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* diciembre de 2012;27(6):409–19.
45. Marsh P. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Vol. 8, *Advances in dental research.* 1994. p. 263–71.
46. How K, Song K, Chan K. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. Vol. 7, *Frontiers in Microbiology.* Frontiers Media S.A.; 2016.
47. He X, Hu W, Kaplan C, Guo L, Shi W, Lux R. Adherence to Streptococci Facilitates *Fusobacterium nucleatum* Integration into an Oral Microbial Community. *Microb Ecol.* abril de 2012;63(3):532–42.
48. Sliopen I, Van M, Loozen G, Van J, Quirynen M, Teughels W. Interference with



- Aggregatibacter actinomycetemcomitans: Colonization of epithelial cells under hydrodynamic conditions. *Oral Microbiol Immunol.* octubre de 2009;24(5):390–5.
49. Welch J, Rossetti B, Rieken C, Dewhirst F, Borisy G. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 de febrero de 2016;113(6):E791–800.
 50. Hajishengallis G. Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. Vol. 15, *Nature Reviews Immunology.* Nature Publishing Group; 2015. p. 30–44.
 51. Moser C, Pedersen H, Lerche C, Kolpen M, Line L, Thomsen K, et al. Biofilms and host response – helpful or harmful. Vol. 125, *APMIS.* Blackwell Munksgaard; 2017. p. 320–38.
 52. Johnson J, Moore L, Kanek B, Moore W. Inclusion of *A. naeslundii* serotypes I1 and I11 and *Actinomyces viscosus* serotype I1 in *A. naeslundii* Genospecies 2. *Int J.* 1990;(July):273–86.
 53. Gerencser M, Slack J. Identification of human strains of *Actinomyces viscosus*. *Appl Microbiol.* julio de 1969;18(1):80–7.
 54. Brailsford S, Tregaskis R, Leftwich H, Beighton D. The Predominant *Actinomyces* spp. Isolated from Infected Dentin of Active Root Caries Lesions. *J Dent Res.* 8 de septiembre de 1999;78(9):1525–34.
 55. Cisar J, Sandberg A, Mergenhagen S. The function and distribution of different fimbriae on strains of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii*. *J Dent Res.* 8 de marzo de 1984;63(3):393–6.
 56. Quirynen M, Bollen C. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man: A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 1995;22(1):1–14.
 57. Whittaker C, Klier C, Kolenbrander P. Mechanism of Adhesion by Oral Bacteria. *Annu Rev Microbiol.* octubre de 1996;50(1):513–52.
 58. Kolenbrander P. Oral Microbial Communities: Biofilms, Interactions, and Genetic Systems. *Annu Rev Microbiol.* octubre de 2000;54(1):413–37.
 59. Jordan H, Keyes P, Bellack S. Periodontal lesions in hamsters and gnotobiotic rats infected with actinomyces of human origin. *J Periodontal Res.* 1972;7(1):21–8.
 60. Syed S, Loesche W, Pape H, Grenier E. Predominant cultivable flora isolated from human root surface caries plaque. *Infect Immun.* 1975;11(4):727–31.



61. Moore W, Moore L. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1994;5(1):66–77.
62. Xia T, Baumgartner J. Occurrence of Actinomyces in infections of endodontic origin. *J Endod*. septiembre de 2003;29(9):549–52.
63. Ximenez L, Almaguer A, Jacobo V, Lara M, Sanchez L, Alcantara E. Description of the Subgingival Microbiota of Periodontally Untreated Mexican Subjects: Chronic Periodontitis and Periodontal Health. *J Periodontol*. 1 de marzo de 2006;77(3):460–71.
64. Schaal K, Lee H. Actinomycete infections in humans--a review. *Gene*. 15 de junio de 1992;115(1–2):201–11.
65. Vanegas I, Yepes M, Ruiz O. Producción de xilitol a partir de levaduras nativas colombianas. *Rev Colomb Biotecnol*. 2004;VI:31–6.
66. Inês S, Inês R. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. Vol. 38, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2002.
67. Martinez E, Villareal M, Almeida J, Solenzal A, Canilha L, Mussatto S. Uso de diferentes materias primas par la produccion biotecnologica de XilitoUSE. *Cienc y Tecnol Aliment*. 2002;
68. Ly K, Milgrom P, Rothen M. Xylitol, Sweeteners, and Dental Caries. 2006;
69. Cobos C, Valenzuela E, Araiza M. Influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol en la remineralización in vitro del esmalte en dientes temporales. *Rev Odontológica Mex*. 1 de octubre de 2013;17(4):204–9.
70. Melo C. Efectividad de Inhibicion de la Fusion entre el Xilitol y el Aceite Esencial del Schinus Molle al 50% sobre el Streptococo Mutans. estudio in Vitro. Universidad Central del Ecuador; 2017.
71. Figueroa P. Efecto del uso de productos dentales que contienen xilitol durante ocho semanas en el número de unidades formadoras de colonias de estreptococos del grupo mutans en saliva de niños y niñas del Patronato Municipal “San Pedro de Riobamba”. Universidad San Francisco de Quito; 2008.
72. Mäkinen K. Sugar alcohols and prevention of oral diseases—comments and rectifications. *Oral Heal Care*. 2017;2(4):1–8.
73. Ramirez K, Rojas O, Alvarador P, Vega J. Obtencion de la Xilosa a partir de desechos lignocelulosicos de la produccion y proceo industrial de la piña (Ananascomusus). *Uniciencia*. 2012;75–89.



74. Bravo G, Aguirre N, Bahamonde H. Xilitol y prevención de otitis media aguda. *Revista Otorrinolaringología*. 2012;96–7.
75. Rivera H. “Produccion de Xilitol a partir de Cascaras de Camu Camu (*Myrciaria dubia* HBK Me Vough) por fermentacion sumergida”. Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2002.
76. Makinen K, Scheinin A. *Xylitol and Dental Caries*. Turku, Finland; 1982.
77. Ubidia M. Xilitol como agente Anticaries [Internet]. [citado 7 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://pedia-gess.com/archivos1pdf/Xilitol.pdf>
78. Panesso E, Calle M, Meneses E. Salud bucal y xilitol: usos y posibilidades en caries y enfermedad periodontal en poblaciones “PEPE” Xylitol. *Rev Univ y Salud*. 2012;14(2):205–2015.
79. Herrero P, Rodríguez G, Silvestre I, Casado V. El xilitol como prevención de la caries dental: dónde obtenerlo y cómo consumirlo. *Labor Dental*. 2018;
80. Escalante R, Asmat S, Ruiz M. Efecto de una Pasta Dental Comercial Conteniendo Xilitol Sobre el Recuento de *Streptococcus Mutans* en Saliva de Gestantes: Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado Effect of a Commercial Toothpaste Containing Xylitol on the Count of *Streptococcus Mutans* in. Vol. 13, *Int. J. Odontostomat*. 2019.
81. Fernández P, Vallejo G, Livacic P, Tuero E. Validez Estructurada para una investigación cuasi-experimental de calidad. Se cumplen 50 años de la presentación en sociedad de los diseños cuasi-experimentales. Vol. 30, *Anales de Psicología*. 2014.
82. White H, Sabarwal S. *Diseño y métodos cuasiexperimentales*. Florencia; 2014.
83. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *SciELO Anal*. 1999;34.



ANEXOS

ANEXO 1

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) a las 24 horas.

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25%	21	9.99	0.23	9.89	10.09	200.95	<0.0001
50%	21	11.09	0.23	10.99	11.19	223.08	<0.0001
75%	21	11.97	0.28	11.84	12.09	195.93	<0.0001
100%	21	12.77	0.28	12.64	12.89	209.03	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.94	0.94	2.23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	89.46	3	29.82	457.93	<0.0001
APLICACION	89.46	3	29.82	457.93	<0.0001
Error	5.21	80	0.07		
Total	94.67	83			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.20663

Error: 0.0651 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
XYLITOL 100%	12.77	21	0.06	A
XYLITOL 75%	11.97	21	0.06	B
XYLITOL 50%	11.09	21	0.06	C
XYLITOL 25%	9.99	21	0.06	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre *Streptococcus Sanguinis* (ATCC 10556) a las 48 horas.



Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25%	21	10.45	0.20	10.36	10.54	243.63	<0.0001
50%	21	11.36	0.21	11.27	11.46	246.89	<0.0001
75%	21	12.04	0.33	11.89	12.19	167.49	<0.0001
100%	21	12.84	0.33	12.69	12.99	178.63	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.92	0.91	2.35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	64.87	3	21.62	288.27	<0.0001
APLICACION	64.87	3	21.62	288.27	<0.0001
Error	6.00	80	0.08		
Total	70.87	83			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.22177

Error: 0.0750 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
XYLITOL 100%	12.84	21	0.06	A
XYLITOL 75%	12.04	21	0.06	B
XYLITOL 50%	11.36	21	0.06	C
XYLITOL 25%	10.45	21	0.06	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 24 horas.

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25%	21	11.85	0.26	11.73	11.97	207.34	<0.0001
50%	21	12.40	0.17	12.32	12.48	339.59	<0.0001
75%	21	12.70	0.17	12.62	12.78	347.80	<0.0001
100%	21	13.11	0.20	13.02	13.20	303.21	<0.0001



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.84	0.84	1.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	17.76	3	5.92	144.46	<0.0001
APLICACION	17.76	3	5.92	144.46	<0.0001
Error	3.28	80	0.04		
Total	21.04	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.16391

Error: 0.0410 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.
XYLITOL 100%	13.11	21	0.04 A
XYLITOL 75%	12.70	21	0.04 B
XYLITOL 50%	12.40	21	0.04 C
XYLITOL 25%	11.85	21	0.04 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% sobre la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987) a las 48 horas.

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
25%	21	12.83	0.30	12.70	12.97	194.60	<0.0001
50%	21	13.10	0.29	12.97	13.23	205.91	<0.0001
75%	21	13.23	0.29	13.09	13.36	206.54	<0.0001
100%	21	13.74	0.27	13.61	13.86	229.16	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.57	0.56	2.20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9.08	3	3.03	35.82	<0.0001
APLICACION	9.08	3	3.03	35.82	<0.0001
Error	6.76	80	0.08		
Total	15.84	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23537

Error: 0.0845 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.
XYLITOL 100%	13.74	21	0.06 A
XYLITOL 75%	13.23	21	0.06 B
XYLITOL 50%	13.10	21	0.06 B
XYLITOL 25%	12.83	21	0.06 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% a las 24 y 48 horas y control positivo (clorhexidina 0.12%) sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
48 HORAS 25%	21	10.95	0.22	10.85	11.05	222.98	<0.0001
48 HORAS 50%	21	11.82	0.28	11.69	11.95	194.41	<0.0001
48 HORAS 75%	21	12.51	0.30	12.38	12.65	194.11	<0.0001
48 HORAS 100%	21	13.31	0.30	13.18	13.45	206.52	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	210	0.99	0.99	2.18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1598.95	9	177.66	2208.15	<0.0001
TIEMPO	1598.95	9	177.66	2208.15	<0.0001
Error	16.09	200	0.08		
Total	1615.04	209			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.27757

Error: 0.0805 gl: 200

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
48 H C+	19.80	21	0.06	A
24 H C+	16.19	21	0.06	B
48 H 100%	13.31	21	0.06	C
24 H 100%	12.77	21	0.06	D
48 H 75%	12.51	21	0.06	D
24 H 75%	11.97	21	0.06	E
48 H 50%	11.82	21	0.06	E
24 H 50%	11.09	21	0.06	F
48 H 25%	10.95	21	0.06	F
24 H 25%	9.99	21	0.06	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Comparación del efecto inhibitorio del Xilitol en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% a las 24 y 48 horas y control positivo (clorhexidina 0.12%) sobre la bacteria *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987).



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	210	0.95	0.95	1.79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	210.81	9	23.42	410.35	<0.0001
TIEMPO	210.81	9	23.42	410.35	<0.0001
Error	11.42	200	0.06		
Total	222.22	209			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23379

Error: 0.0571 gl: 200

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
48 H C+	15.14	21	0.05	A
24 H C+	15.00	21	0.05	A
48 H 100%	13.74	21	0.05	B
48 H 75%	13.23	21	0.05	C
24 H 100%	13.11	21	0.05	C
48 H 50%	13.10	21	0.05	C
48 H 25%	12.83	21	0.05	D
24 H 75%	12.70	21	0.05	D
24 H 50%	12.40	21	0.05	E
24 H 25%	11.85	21	0.05	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.65	0.64	2.00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10.36	3	3.45	49.26	<0.0001
APLICACION	10.36	3	3.45	49.26	<0.0001
Error	5.61	80	0.07		
Total	15.97	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.21438

Error: 0.0701 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
48 H Av	13.74	21	0.06	A
48 H Ss	13.31	21	0.06	B
24 H Av	13.11	21	0.06	B
24 H Ss	12.77	21	0.06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)



Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.75	0.74	2.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	17.08	3	5.69	81.42	<0.0001
APLICACION	17.08	3	5.69	81.42	<0.0001
Error	5.60	80	0.07		
Total	22.68	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.21415

Error: 0.0699 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
48 H Av	13.23	21	0.06	A
24 H Av	12.70	21	0.06	B
48 H Ss	12.51	21	0.06	B
24 H Ss	11.97	21	0.06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.90	0.90	2.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	45.95	3	15.32	252.62	<0.0001
APLICACION	45.95	3	15.32	252.62	<0.0001
Error	4.85	80	0.06		
Total	50.80	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.19939

Error: 0.0606 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
48 H Av	13.10	21	0.05	A
24 H Av	12.40	21	0.05	B
48 H Ss	11.82	21	0.05	C
24 H Ss	11.09	21	0.05	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION	84	0.95	0.94	2.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	93.46	3	31.15	474.75	<0.0001
APLICACION	93.46	3	31.15	474.75	<0.0001
Error	5.25	80	0.07		
Total	98.71	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.20743

Error: 0.0656 gl: 80

APLICACION	Medias	n	E.E.	
48 H Av	12.83	21	0.06	A
24 H Av	11.85	21	0.06	B
48 H Ss	10.95	21	0.06	C
24 H Ss	9.99	21	0.06	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)



ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

<i>STREPTOCOCCUS SANGUINIS</i>										
N°	HALOS DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS				HALOS DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS				24 H	48 H
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	C+	C+
1	9.80	10.90	11.80	12.60	10.50	11.70	12.00	12.80	16.40	19.20
2	9.90	11.00	11.90	12.70	10.90	11.80	12.10	12.90	16.30	19.40
3	10.10	11.20	12.10	12.90	11.10	11.70	12.60	13.40	16.40	19.30
4	10.40	11.50	12.40	13.20	11.00	11.00	12.80	13.60	16.50	19.40
5	9.90	11.00	11.90	12.70	10.80	11.60	12.40	13.20	16.60	19.50
6	10.10	11.20	12.10	12.90	10.90	11.80	12.70	13.50	16.70	19.70
7	10.30	11.40	12.30	13.10	11.20	11.50	12.30	13.10	16.60	19.60
8	9.70	10.80	11.70	12.50	11.30	12.00	11.90	12.70	15.80	20.10
9	9.90	11.00	11.90	12.70	11.10	12.20	12.70	13.50	15.90	20.30
10	9.80	10.90	11.80	12.60	11.00	11.90	12.20	13.00	15.70	20.20
11	9.90	11.00	11.90	12.70	10.90	11.80	12.40	13.20	15.90	20.10
12	10.10	11.20	12.10	12.90	11.20	12.00	12.30	13.10	15.80	20.30
13	10.20	11.30	12.20	13.00	11.30	11.80	12.60	13.40	15.70	20.20
14	10.40	11.50	12.40	13.20	11.20	11.90	12.70	13.50	15.60	20.40
15	9.90	11.00	11.90	12.70	10.80	11.60	12.40	13.20	16.40	19.90
16	9.80	10.90	11.80	12.60	10.70	11.80	12.60	13.40	16.30	19.80
17	10.20	11.30	12.20	13.00	10.90	11.90	12.70	13.50	16.10	19.70
18	10.10	11.20	12.10	12.90	11.00	12.00	12.80	13.60	16.30	19.60
19	10.00	11.10	12.00	12.80	10.80	11.70	12.90	13.70	16.40	19.90
20	9.60	10.70	11.60	12.40	10.70	12.30	12.80	13.60	16.20	19.70
21	9.70	10.80	11.20	12.00	10.60	12.20	12.90	13.70	16.30	19.50



ACTINOMYCES VISCOSUS

N°	HALOS DE INHIBICIÓN A LAS				HALOS DE NHIBICIÓN A				24 H	48 H
	24 HORAS				LAS 48 HORAS					
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	C+	C+
1	12.20	12.60	12.90	13.20	13.10	13.20	13.40	13.90	15.10	15.40
2	12.10	12.50	12.80	13.10	13.20	13.40	13.20	14.00	15.00	15.30
3	11.70	12.10	12.40	12.70	13.00	13.30	13.50	14.10	14.90	15.00
4	12.20	12.60	12.90	12.60	12.90	13.10	13.20	13.70	14.80	15.30
5	12.10	12.50	12.80	13.20	13.30	13.50	13.70	13.60	15.00	15.20
6	11.90	12.30	12.60	13.20	13.10	13.20	13.40	13.70	14.90	15.00
7	11.60	12.40	12.70	13.00	13.30	13.40	13.20	13.90	15.20	15.30
8	11.80	12.20	12.50	13.10	12.70	12.90	13.30	13.60	14.90	15.20
9	12.30	12.70	13.00	13.50	12.60	12.80	13.00	13.50	14.80	14.90
10	12.00	12.40	12.70	13.30	12.50	12.70	12.80	13.40	14.70	15.30
11	12.00	12.40	12.70	13.10	12.70	12.50	12.90	13.30	15.10	15.30
12	11.90	12.30	12.60	13.20	12.40	12.60	12.70	13.70	14.90	15.30
13	11.50	12.40	12.70	13.00	12.50	12.80	12.60	13.50	15.00	14.80
14	11.50	12.30	12.60	13.10	12.20	13.10	13.30	13.20	15.10	15.10
15	11.60	12.60	12.90	13.20	13.00	13.40	13.20	13.50	15.30	14.70
16	11.40	12.50	12.80	13.10	12.90	13.50	13.60	13.90	15.40	14.90
17	11.90	12.30	12.60	13.10	12.70	13.10	13.40	14.00	15.20	15.00
18	11.80	12.20	12.50	13.40	12.60	13.00	13.60	13.80	15.10	15.20
19	12.10	12.50	12.80	13.20	12.80	13.10	13.20	14.00	15.00	15.30
20	11.60	12.50	12.80	13.10	12.90	13.20	13.40	14.20	14.90	15.20
21	11.70	12.10	12.40	13.00	13.10	13.30	13.20	14.00	14.80	15.20

ANEXO 3

GALERIA DE FOTOS



Medición del peso del agar



Balanza para pesar los agares



Adición de agua destilada



Ebullición del Agar



Esterilización de los Agares



Autoclave encendida



Agares preparados para la activación de cepas



Presentación de las cepas



Cepas al sacar de su envase



Cepas en envase



Activación de las cepas



Cepas en placas Petri



Colocación de placas Petri en frasco de anaerobiosis



Frasco de Anaerobiosis



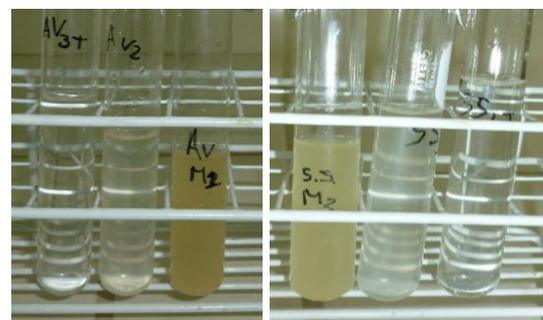
Incubación de Cepas



Dilución del Xilitol



Concentraciones del Xilitol



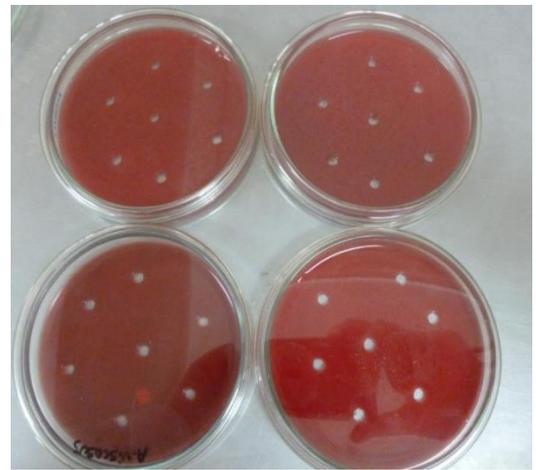
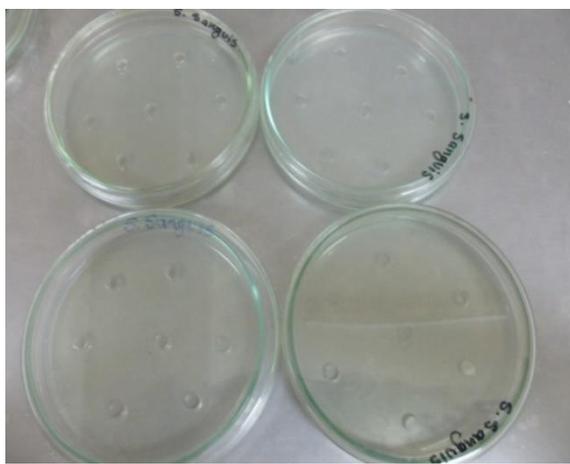
Estandarización de McFarland



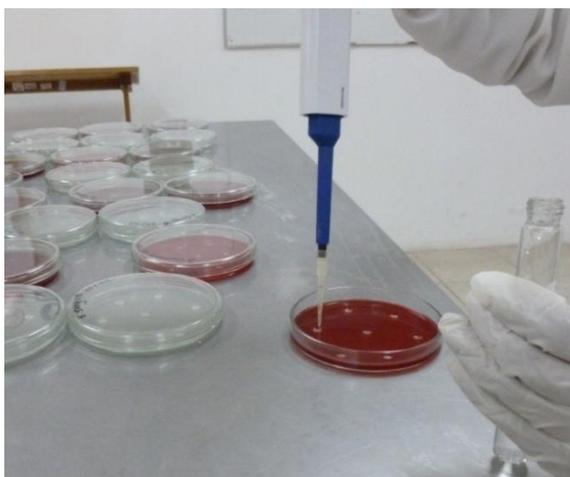
Sembrado de bacterias en el medio cultivo



Realizando pocillos en la placa Petri



Incubación de las placas Petri a 37°C

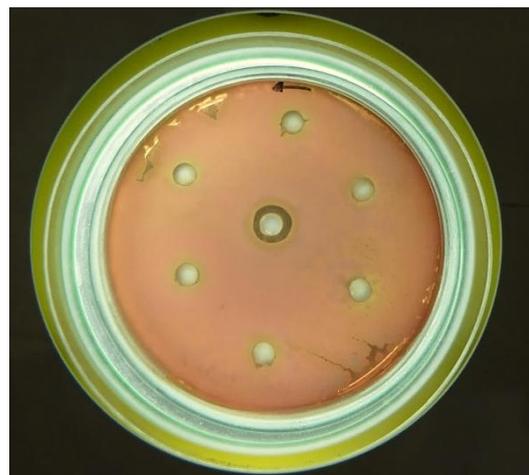
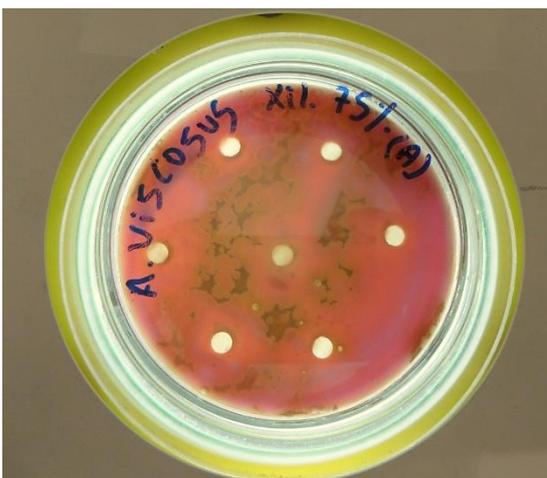
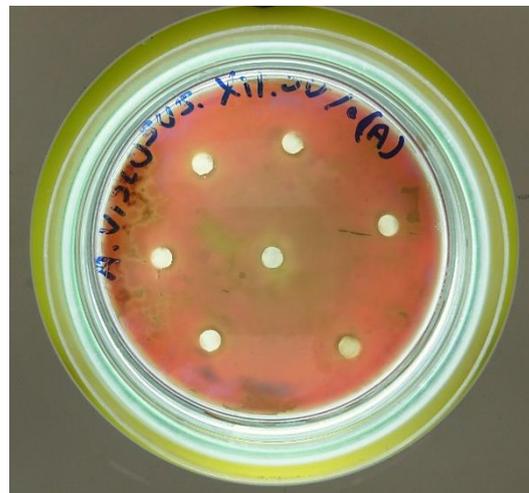
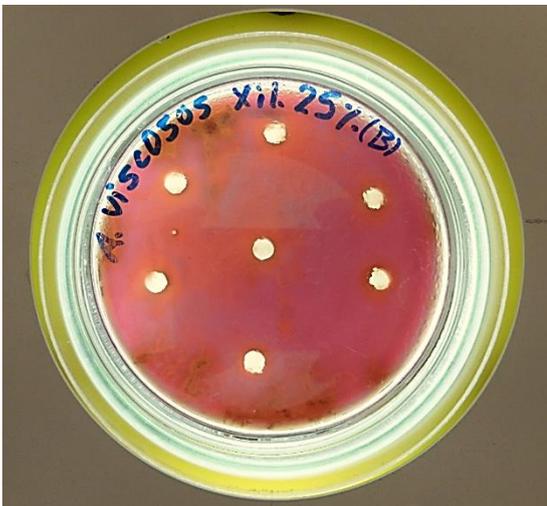


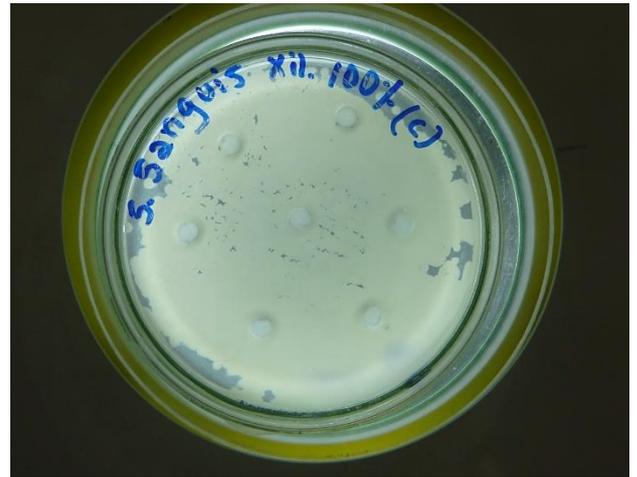
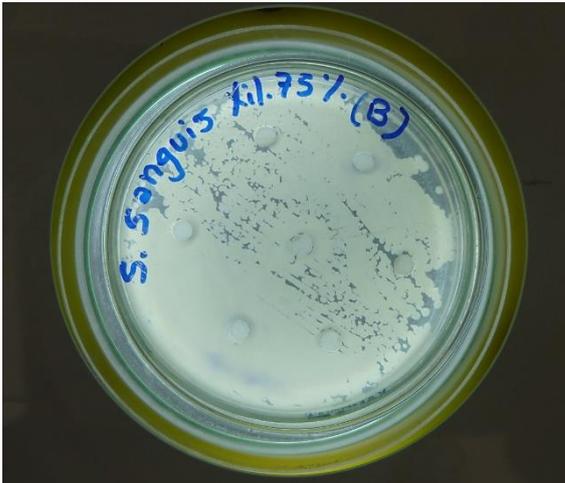
Aplicación de los tratamientos con una pipeta de 10 μ l





Medición de los halos de inhibición







ANEXO 4



COMUNICACIÓN IMPORTANTE PRODUCTOS SENSIBLES A TEMPERATURA

Por medio de la presente, les comunicamos que en atención a su Orden de Compra, hacemos el envío de los productos solicitados, los mismos que por su naturaleza y composición, son altamente sensibles a los efectos de variación de la temperatura de su entorno.

La temperatura requerida para cada uno de los productos se indica en detalle en el rotulado de su empaque.

Por lo expresado recomendamos a ustedes, que en cuanto dichos bienes sean recibidos, deben ser inmediatamente almacenados según la condición de temperatura indicada en cada empaque.

Hacemos presente que GEN LAB DEL PERU S.A.C. se responsabiliza del mantenimiento de la cadena de frío solamente hasta la entrega en la dirección o punto convenido según la Orden de Compra.

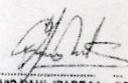
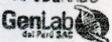
Una vez recepcionada la mercadería y firmada la recepción mediante la guía de remisión, se estará dando la conformidad de las condiciones adecuadas en las que hemos entregado los productos.

Hacemos presente que a partir de la entrega del producto conforme se expresa en el párrafo precedente, la adecuada conservación y almacenamiento es entera responsabilidad del área que ha recibido los bienes. Por lo que no se aceptarán cambios ni devoluciones.

Para cualquier consulta pueden contactarnos.

GEN LAB DEL PERU S.A.C.: 203-7500 (Anexo 232) / 966988434

Saludos Cordiales,


DAVID PAUL IPARRAGUIRRE HARDEES
APODERADO




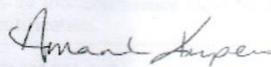
ANEXO 5

CERTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS

Microbiologics®

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Streptococcus sanguinis Catalog Number: 0858 Lot Number: 858-48** Reference Number: ATCC® 10556™* Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2021/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2019/6/19</p>
---	--

<p>Macroscopic Features: Small, gray/green, translucent, alpha hemolytic colonies.</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci in medium or long chains.</p>	<p style="text-align: center;">Performance</p> <p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.


REFERENCE MATERIAL PRODUCER
CERT #2655.02

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


TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Streptococcus sanguinis
 Sample Description: 0858
 Sample ID: 858-48
 Sample Creation Date/Time: 2019-06-14T09:14:16.571 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G9 (+++)(A)	858-48	Streptococcus sanguinis	2.56

Comments:

N/A



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Actinomyces viscosus Catalog Number: 0750 Lot Number: 750-34** Reference Number: ATCC® 15987™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kassandra L Hall Release Date: 2019/6/7
Performance	
Macroscopic Features: Two colony types: small, circular, convex, entire edge, pale white, shiny, translucent; and small to large, circular, dome, entire, white, dull, opaque.	Medium: A/R SBAP
Microscopic Features: Straight to slightly curved gram positive rods and slender filaments, also some short rods; branching may be observed.	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	



ANEXO 6



Universidad Nacional del Altiplano - Puno
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DEL LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE
HUMANA

HACE CONSTAR:

Que, la Srta. **ROTCIV ANGINOVI APAZA APAZA**, identificado con DNI. 70166756, con código de matrícula N° 111123, y Srta. **SHANGHAINESA ASILLO CHOQUEHUANCA**, identificada con DNI. 46405936, código de matrícula N° 104931, estudiantes de la Escuela Profesional de Odontología Facultad de Ciencias de la Salud de la UNA- PUNO, quienes han realizado su Proyecto de Tesis titulado: "EFECTO INHIBITORIO DEL XILITOL A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE *Streptococcus sanguinis* Y *Actinomyces viscosus* PUNO 2019", en el Laboratorio de Microbiología de esta Facultad, en las fecha del 12 de Noviembre al 21 de Diciembre del 2019.

Se expide la presente a solicitud escrita de los interesados, para los fines que estime conveniente.

Puno, 30 de junio del 2020

LIC. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO