



Universidad Autónoma de Querétaro



Facultad de Medicina

“Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de pastas dentales con aloe vera, nano partículas de plata, quitosano y fluoruro como ingrediente activo contra *Streptococcus mutans*.”

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER DIPLOMADE LA
ESPECIALIDAD EN ODONTOPEDIATRÍA

PRESENTA:
C.D ZELTZIN JOCELYN CRUZ RAMÍREZ

CU. QURÉTARO, QR. JUNIO, 2021



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Odontopediatría



“Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de pastas dentales con aloe vera, nano partículas de plata, quitosano y fluoruro como ingrediente activo contra *Streptococcus mutans*.”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la
Especialidad en Odontopediatría

Presenta:

C.D Zeltzin Jocelyn Cruz Ramírez

Dirigido por:

D. C.S. Guillermo Ortiz Villagómez

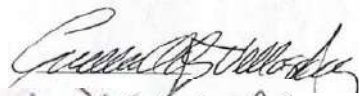
D. en C.S. Guillermo Ortiz Villagómez
Presidente

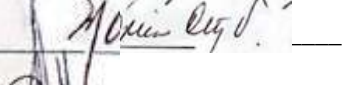
C.D.M.O Mónica Clarisa Ortiz Villagómez
Secretario


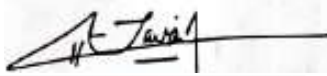
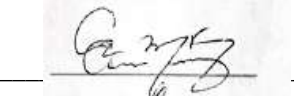
C.D.E.O. Ana Liz Yáñez Gutiérrez
Vocal

C.D.E.O. Laura Celeste Herrera Alaníz
Suplente

L.O.E.O. Cynthia Castro Martínez
Suplente






_____
_____

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Abril 2021
México

Resumen

Introducción: La caries dental es un problema grave de salud pública; ya que la mayor parte de la población en nuestro país la padece, en ella influyen diversos factores; principalmente la mala higiene y el alto consumo de carbohidratos que ayudan a la colonización de microorganismos. El *Streptococcus mutans* es el principal responsable del proceso de desmineralización dental ya que produce polisacáridos extracelulares tomando como base la sacarosa, sin embargo, se puede prevenir desde el hogar, con hábitos de higiene; como el uso de hilo dental, una buena técnica de cepillado, el uso de enjuagues dentales y pastas que contengan ingredientes activos que ayuden a crear un efecto antimicrobiano.

Objetivo: Valorar los diferentes ingredientes activos presentes en las pastas dentales, para determinar cuál logra un mejor efecto antimicrobiano contra el *Streptococcus mutans* y así utilizarlas para disminuir el riesgo a caries.

Material y métodos: Diseño experimental *in vitro*, en 10 cajas Petri con agar TYS20B inoculadas con *Streptococcus mutans*, con sensidiscos impregnados; cada uno, con pasta dental la cual contiene aloe vera, nano partículas de plata, quitosan o flúor. Control positivo clorhexidina al 0.12% y agua bidestilada como control negativo. Variables cuantitativas, continua y se utilizó el software IMAGEJ para medir en mm los halos de inhibición. Se realiza un análisis estadístico descriptivo mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov determinando una distribución normal, los datos se sometieron a la prueba ANOVA y Tukey. Obteniendo como diferencia estadísticamente significativa $p < 0.0001$.

Resultados: Al medir los halos de inhibición de cada caja Petri que previamente fueron inoculados con *Streptococcus mutans*, pudimos obtener como resultado que los sensidiscos impregnados con pasta dental la cual contenía aloe vera fueron los que crearon mayor halo de inhibición seguidos de los sensidiscos impregnados con pasta dental con nano partículas de plata.

Conclusiones: Las pastas dentales que contienen algunos otros ingredientes activos independientemente a las que conocemos comúnmente que contienen flúor, son eficaces ya que nos ayudan a inhibir el efecto antimicrobiano del *Streptococcus mutans*; el principal microorganismo involucrado en la patología de la caries.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, caries, pasta dental.

Summary

Dental caries is a serious public health problem since most of the population in our country suffers from it, various factors influence it; mainly poor hygiene and high consumption of carbohydrates that help the colonization of microorganisms. *Streptococcus mutans* is the main responsible for the dental demineralization process since it produces extracellular polysaccharides based on sucrose, however, it can be prevented from home with hygiene habits, such as the use of dental floss, a good brushing technique, the use of tooth rinses and pastes that contain active ingredients that help create an antimicrobial effect.

Objective: Evaluate the different active ingredients present in toothpastes, to determine which one achieves a better antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* and thus use them to reduce the risk of cavities.

Materials and methods: In vitro experimental design, in 10 Petri dishes with TYS20B agar inoculated with *Streptococcus mutans*, impregnated sensidisks were placed; each one, with toothpaste which contains aloe vera, nano silver particles, chitosan or fluoride. Chlorhexidine 0.12% positive control and double distilled water as negative control. Petri dishes that did not show alterations in their shape were included and those that presented fractures, irregularities in their surface or any alteration during the process were excluded. Quantitative variables, continuous and the IMAGEJ software was used to measure the inhibition halos in mm. A descriptive statistical analysis is carried out.

Results: By measuring the inhibition halos of each Petri dish that were previously inoculated with *Streptococcus mutans*, we were able to obtain as a result that the sensidisks impregnated with toothpaste which contained aloe vera were the ones that created the greatest inhibition halo, followed by sensidisks impregnated with toothpaste with nano silver particles.

Conclusions: Toothpastes that contain some other active ingredients, independently of those that we commonly know to contain fluoride, are effective as they help us to inhibit the antimicrobial effect of *Streptococcus mutans*; the main microorganism involved in caries pathology.

Key words: *Streptococcus mutans*, tooth decay, toothpaste.

Dedicatorias

A mis padres, mi motor más grande. Por darme las herramientas necesarias, el amor y apoyo para lograr esta meta.

A mi hermano y familia que siempre estuvieron presentes con una palabra de aliento o un abrazo.

A mi novio que recorrió este camino conmigo, que a pesar de la distancia y tiempo nunca dudo de mi ni un instante.

A mis maestros que compartieron todos sus conocimientos conmigo, formando la persona que soy hoy. Los llevo en mi corazón, mente y alma.

Dirección General de Bibliotecas UAO

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a todos mis docentes los conocimientos compartidos, el apoyo brindado y sobre todo su paciencia. Ser un catedrático de excelencia como lo son ustedes, no es fácil, ni se encuentra en cualquier lugar.

Agradezco a mi asesor de tesis el Dr. Guillermo Ortiz Villagómez quien independientemente de ser mi Coordinador y profesor, siempre estuvo en la mejor disponibilidad para resolver todas mis dudas, mostrándome la mejor manera de resolverlas.

Agradezco al Doctor Rubén Domínguez Pérez por su paciencia, accesibilidad y por brindarnos todas las herramientas para trabajar en laboratorio.

Agradezco a mis compañeros, quienes me enseñaron el verdadero significado de la palabra amistad y compañerismo; por siempre compartir sus risas, preocupaciones, dudas y experiencias clínicas para que todos aprendiéramos de ello.

Agradezco a mi universidad por recibirme y mostrarme lo increíble que es formar parte de ella, lo afortunada que soy por haber estado en sus instalaciones y haber hecho uso de su infraestructura. La responsabilidad y orgullo que siento al decir que soy orgullosamente UAQ no se puede explicar.

Índice

Contenido	Página
Resumen	I
Summary	II
Dedicatorias	III
Agradecimientos	IV
Índice	V
Índice de cuadros	VI
I. Introducción	1
II. Antecedentes/estado del arte	4
II.1	
III. Fundamentación teórica	7
III.1	
IV. Hipótesis o supuestos	11
V. Objetivos	12
V.1 General	12
V.2 Específicos	12
VI. Material y métodos	13
VI.1 Tipo de investigación	13
VI.2 Población o unidad de análisis	13
VI.3 Muestra y tipo de muestra	13
VI. Técnicas e instrumentos	17
VI. Procedimientos	17
VII. Resultados	24
VIII. Discusión	28
IX. Conclusiones	31
X. Propuestas	31

XI. Bibliografía

32

XII. Anexos

Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla 1	24
Tabla 2	24
Tabla 3	25
Tabla 4	26
Tabla 5	26
Tabla 6	27

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Dirección General de Bibliotecas UAQ

I. Introducción

La salud oral es de suma importancia para el desarrollo óptimo del ser humano, ya que la boca es la principal entrada al cuerpo; mediante ella podemos desarrollar diversas funciones como; respirar, hablar, masticar entre otras. Es por eso que acudir a citas consecutivas con el dentista nos ayudara a mantener una buena salud bucodental y libre de caries, puesto que esta enfermedad es la principal causante de la pérdida de algún órgano dental, cuando esto sucede la armonía que existe en la cavidad oral se altera.

La caries dental aparece en la superficie dental como una lesión blanca debido a un proceso de desmineralización que es ocasionado por ciertos microorganismos que se alimentan de los residuos de alimentos ricos en carbohidratos que dejamos al no realizar una correcta técnica de cepillado; uno de ellos y el principal causante es el *Streptococcus mutans* el cual produce polisacáridos extracelulares mediante la sacarosa por medio de dos enzimas la glucosiltransferasa y la fructosiltransferasa. El *Streptococcus mutans* es una bacteria de tipo anaerobica facultativa; esto quiere decir que logra un desarrollo óptimo en presencia de oxígeno, pero también puede lograrlo si no existe.

La cantidad de productos dentales como hilo dental, enjuagues y pastas que existe en el mercado es muy diversa ya que la población así lo demanda, por lo tanto, para una oportunidad de vida saludable, los productos naturales de higiene bucodental que existen son recomendables para usarlos de manera cotidiana, sin embargo, es importante saber si los ingredientes activos que contienen las pastas dentales tienen un efecto antimicrobiano eficaz. Sabemos que el cepillado por si solo es capaz de remover de manera mecánica todos los restos de alimentos, solo si se hace de manera correcta. La mayoría de la población no destina ni el tiempo ni forma adecuada de hacerlo; es por eso que agregar pasta dental nos ayuda a proteger los dientes, puesto que sus ingredientes logran neutralizar el ph; de esta manera las bacterias no puedan tener un medio oral óptimo para desarrollarse.

Los ingredientes de las pastas dentales brindan un efecto anticariogénico, por lo tanto, deben de ser incluidos para el control de la placa en niños, ya que en ellos la remoción mecánica de los alimentos es difícil, debido a su poca destreza en los movimientos motrices. Regularmente la formulación de dentífricos contiene una combinación de fluoruros y detergentes, principalmente el dodecil sulfato de sodio que sirve para mejorar el cepillado y, por lo tanto, prevenir enfermedades. Sin embargo, en la mayoría de los individuos, el cepillado por sí solo es inadecuado para eliminar la placa dentobacteriana hasta el punto de prevenir el desarrollo de enfermedades como la caries.

Existe una sociedad creciente con deseo de encontrar y confiar en los compuestos naturales para cuidar su salud y la de sus hijos; ya que la difusión de agentes patógenos ha creado resistencia a los medicamentos y esto significa una amenaza; es por eso que nos preguntamos cual pasta dental es más eficiente ante la eliminación de microorganismos productores de caries.

Los ingredientes activos que elegimos para nuestro estudio son: aloe vera, nano partículas de plata, quitosan y flúor. Evaluamos el halo de inhibición que crean contra *Streptococcus mutans* haciendo una investigación exhaustiva y nuestro propio estudio.

JUSTIFICACIÓN.

Le permitirá al clínico corroborar que el efecto antimicrobiano de las pastas dentales con otros ingredientes activos; aparte del flúor, son eficaces para la eliminación del *Streptococcus mutans* como coadyuvantes del cepillado dental, esto le permitirá al odontólogo y al paciente tener más opciones acordes a sus necesidades y gustos.

Dirección General de Bibliotecas UAO

II. Antecedentes

La cavidad bucal es la principal vía de acceso al organismo; si la alimentación e higiene oral no son las correctas, el estado de salud en general se verá afectado. Los cuidados orales se pueden realizar desde casa, es por eso que en el mercado existen infinidad de productos, los cuales tienen diferentes compuestos e ingredientes activos con el fin principal de disminuir la reproducción de microorganismos patógenos productores de ácidos, que ayudan a la desmineralización, como lo es el *Streptococcus mutans*, el principal responsable de la caries.

Sondi y Salopek-Sondi (2004) hablaron sobre actividad antimicrobiana de las nanopartículas de Ag en las bacterias gramnegativas, esto dependió de la concentración de nanopartículas de Ag y se asoció con la formación de "picaduras" en la pared celular de las bacterias. Luego, las nanopartículas de Ag acumuladas en la membrana bacteriana causaron la permeabilidad y muerte celular. Sin embargo, dado que esos estudios incluyeron iones Ag con carga positiva y nanopartículas de Ag con carga negativa, no es suficiente para explicar el mecanismo antimicrobiano de carga positiva de los iones Ag.

Dilip et al (2008) realizó un estudio preliminar *in vitro* comparando tres dentífricos y demostró que el gel dental de aloe vera fue tan efectivo como dos pastas dentales populares en el mercado para controlar los diversos microorganismos utilizados en su estudio. Además, demostró que el gel tiene un efecto antibacteriano superior contra *Streptococcus mitis* a pesar de la ausencia de fluoruro adicional. Sin embargo, para garantizar sus resultados y la efectividad de los productos para el cuidado de los dientes, se deben realizar ensayos clínicos adicionales a largo plazo que incorporen más aislamientos de muestras clínicas.

Tsai y Su (2009) han verificado que la actividad antimicrobiana del quitosano está directamente relacionada con la absorción del polisacárido en la

bacteria, lo que causará alteraciones en la estructura de la pared celular, en consecuencia, en la permeabilidad de la membrana celular.

Prabhu y Poulouse (2012) han revisado la eficacia y la utilidad de las nanopartículas de plata (Ag) en las industrias del área de la salud. El mecanismo de los efectos inhibitorios de los iones Ag sobre los microorganismos es parcialmente conocido. Algunos estudios han informado que la carga positiva en el ion es crucial para su actividad antimicrobiana a través de la atracción electrostática entre la membrana de carga negativa del microorganismo y las nanopartículas cargadas positivamente.

Chi et al (2014) realizó un estudio en donde se informó que el método tradicional de cepillarse los dientes con una pasta dental con xilitol / fluoruro suave no se considera más influyente en la disminución de la caries del nivel del *Streptococcus mutans* en comparación con el uso de pasta dental con fluoruro solamente en niños con mayor riesgo. Se ha demostrado en varios estudios in vitro y en los estudios realizados en animales que el fluoruro es efectivo en la pasta dental con xilitol / fluoruro contra *Streptococcus mutans*.

Santos et al. (2014) evaluaron el efecto antimicrobiano y actividad citotóxica del fluoruro de nanopartículas de plata contra *Streptococcus mutans* en comparación con la clorhexidina y la diamina de plata fluoruro. Se descubrió que el NSF es bacteriostático y compuesto bactericida y los valores de MIC y MBC para las cepas ATCC (25,175) fueron 33.54 14.52 mg / mL y 50.32 mg /mL, respectivamente. La diferencia entre los valores de MIC ($p = 0.032$) y el MBC ($p = 0.035$) de las sustancias analizadas fueron evaluados por significación estadística.

Por otro lado, Randall et al (2015) declaró que las pastas dentales fluoradas y otros componentes de las pastas dentales como el triclosán y el laurilsulfato de sodio produjeron actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

Kurian and Geetha (2015) mencionan que el recuento bacteriano es una de las principales razones para el comienzo de la caries dental. La sacarosa es utilizada por *Streptococcus mutans* que producen un polisacárido adhesivo, extracelular, a base de dextrano que les permite cohesionarse, formando placa dentobacteriana, al utilizar pasta de dientes a base de hiervas y una pasta de dientes a base de fluoruro se utilizó para su estudio. El efecto de estas dos pastas de dientes en el *Streptococcus mutans* fueron estudiados por la técnica de difusión de agar agar y los resultados se compararon entre los mismos grupos.

Gaillet y Rouanet (2015) indicaron que las nanopartículas de Ag en la pasta de dientes y otros productos pueden estar asociadas con el desarrollo de inflamaciones del tracto gastrointestinal. Sin embargo, debido a que la pasta dental está indicada para uso tópico en lugar de sistémico y también en pequeñas cantidades, las reacciones adversas son poco probables.

Villalobos et al. (2018) observaron una reducción significativa en la placa y gingivitis después de uso de enjuagues bucales de 30 días con aloe vera asociado con el cepillado de dientes. Además, de Oliveira et al (2019) encontraron que tanto el dentífrico que contenía Aloe vera como el dentífrico que contenía fluoruro produjeron una reducción significativa de la placa dentobacteriana y la gingivitis, pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Aunque se ha demostrado claramente que el control mecánico de la placa dental retrasa el avance de la gingivitis y la enfermedad periodontal.

III. Fundamentación teórica

El *Streptococcus mutans* produce polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa a causa de dos enzimas: la glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF). La GTF sintetiza glucano mediante la glucosa, y la FTF, fructano a partir de la fructosa (Loesche, 1986).

Las pastas dentales están hechas mediante una combinación de fluoruros y detergentes, principalmente dodecil sulfato de sodio que mejoran la eficacia del cepillado y, por lo tanto, previenen enfermedades. Sin embargo, en la mayoría de las personas, el cepillado por sí solo es inadecuado para eliminar la biopelícula oral hasta el punto de prevenir el desarrollo de enfermedades como la caries (Davies, 2008).

La *Barbadensis miller* o comúnmente conocida como aloe vera, es un remedio casero conveniente que se puede usar como agente humectante y para tratar quemaduras menores y abrasiones en la piel. Es una planta tipo cactus, pero pertenece a la familia de los lirios. Hay más de 300 variedades de la planta de aloe, pero la variedad de *Aloe barbadensis* exhibe las mejores propiedades medicinales. El uso moderno del aloe vera se documentó por primera vez en la década de 1930 para curar las quemaduras por radiación (Crewe, 1939).

La eficacia del *Aloe barbadensis miller* aumenta cuando la planta se cosecha después de tres años de desarrollo, pero su potencia nutritiva disminuye después de 12 años de crecimiento (Korkmaz et al., 2019).

El gel de aloe perderá su potencia completa si se expone a la luz solar durante más de dos horas, ya que fácilmente se oxida; en consecuencia, es necesario estabilizarlo bajo estándares farmacéuticos para un uso inmediato y una vida útil más larga. Organizaciones sin fines de lucro como el International Aloe Science Council han establecido estándares para la aprobación del aloe vera y

otorgan su sello de calidad para los productos de aloe. Dichos productos son más beneficiosos, ya que el sello se otorga solo a aquellos productos con beneficios terapéuticos establecidos (Dintenfass and Sharp, 1969).

El quitosano es un compuesto natural derivado del biopolisacárido quitina y tiene una estructura de carbohidrato policationico. La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza y se puede encontrar en conchas de crustáceos, exoesqueletos de artrópodos y las cutículas de los insectos. El quitosano tiene muchas propiedades, entre las que se encuentran la actividad antimicrobiana y la no toxicidad (Kittur et al., 2005).

Se obtiene de la desacetilación alcalina de la quitina, no existe una nomenclatura que garantice definitivamente una diferencia entre quitina y quitosano, el término quitosano generalmente representa copolímeros catiónicos que consisten en 2-amino-2-desoxi- β -D-glucosa (60-100%) y 2-acetamino -2-desoxi- β -D glucósido (0-50%), unidos juntos por enlaces β (1 \rightarrow 4). 14–17 El quitosano es el derivado principal de la quitina. Desacetilación en la que el grado medio de desacetilación que representa el porcentaje de grupos NH₂ libres es superior al 60% (M, 2017).

El grado promedio de acetilación de quitosano es una medida del número promedio de 2 acetamida-2-dexosi-D-glucopiranosas y unidades de 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosas. El porcentaje relativo de estas unidades tienen una influencia directa sobre la solubilidad del quitosano y es un parámetro importante que determina el grado promedio de acetilación o indirectamente el grado promedio de desacetilación, de esta manera representa la concentración de grupos amino, además de ejercer una gran influencia en las propiedades físicas, químicas y biológicas (M, 2017).

Los grupos amino del quitosano son más reactivos con respecto a los grupos acetamido de quitina. El par de electrones libres de nitrógeno en los grupos

amino son responsables de la adsorción de los cationes metálicos. El grado promedio de desacetilación determina la fracción de amino grupos que están disponibles para la interacción con metales. La protonación de grupos amino en soluciones ácidas es responsable de la electrostática atracción de aniones (Kmiec, 2017).

A diferencia de la quitina, el quitosano es soluble en medio ácido diluido, el cual forma un polímero catiónico que confiere propiedades especiales diferenciadas con respecto a las fibras vegetales (Kmiec, 2017).

Los iones de plata (Ag^+ / Ag^{++}) son reconocidos generalmente como el agente bioactivo, suministrado para diversas aplicaciones clínicas que contienen plata formulaciones que comprenden sales de plata, óxido de plata, plata metálica, quelatos de plata y partículas de plata (Panpaliya et al., 2019).

Los compuestos a base de plata se han usado ampliamente en muchas aplicaciones bactericidas debido a su fuerte toxicidad a un amplio gama de microorganismos (Morones et al., 2005).

Iones de plata y / o nanopartículas modulan el perfil de fosfotirosina de péptidos bacterianos putativos que afectan la señal bacteriana transducción e inhibición del crecimiento del organismo y lisis celular (García-Contreras et al., 2011).

La plata tiene una alta afinidad química por los compuestos que contienen nitrógeno, azufre y fósforo, por lo que se ha sugerido que el poder inhibitorio de los iones de plata se debe a su interacción con los grupos tiol de proteínas y la porción de fosfolípidos de la membrana bacteriana (Liza Barreto et al., 2005).

Cuando se forma en nanopartículas, la plata interactúa más intensamente con otras moléculas orgánicas e inorgánicas debido a su mayor área superficial y actúa sobre la membrana bacteriana para alterar su permeabilidad, causando su ruptura. Dentro

de la célula, la plata interactúa con los ácidos nucleicos para evitar la replicación de las células (Liza Barreto et al., 2005).

La plata induce principalmente la desnaturalización y la oxidación de la pared celular, lo que provoca la ruptura de orgánulos celulares internos provocando la muerte de las bacterias (Lara et al., 2010).

Dirección General de Bibliotecas UAG

IV. Hipótesis

Hipótesis de trabajo

Las pastas dentales con nano partículas de plata como ingrediente activo producen mayor halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* en comparación con la aplicación de pastas con Aloe Vera, Quitosano y fluoruro.

Hipótesis nula Las pastas dentales con fluoruro como ingrediente activo producen mayor halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* en comparación con la aplicación de pastas con Aloe Vera, Quitosano y fluoruro.

Dirección General de Bibliotecas UAO

V. Objetivos

V.1 Objetivo general

Determinar que pasta dental con ingrediente activo: Aloe vera, Nano partículas de plata, Quitosano o fluoruro produce mayor halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* in vitro.

V.2 Objetivos específicos

1. Medir el halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* posterior a la aplicación de pasta dental con Aloe Vera como ingrediente activo después de 24 hrs.
2. Medir el halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* posterior a la aplicación de pasta dental con Nanopartículas de plata como ingrediente activo después de 24 hrs.
3. Medir el halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* posterior a la aplicación de pasta dental con Quitosano como ingrediente activo después de 24 hrs.
4. Medir el halo de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* posterior a la aplicación de pasta dental con fluoruro como ingrediente activo después de 24 hrs.

Comparar la medida de los halos de inhibición en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus Mutans* después de la aplicación de pasta dental con Aloe vera, Nano partículas de plata, Quitosano y flúor como ingredientes activos después de 24hrs.

VI. Material y métodos

VI.1 Tipo de investigación

Experimental in vitro

VI.2 Población o unidad de análisis

Cultivos en cajas Petri con agar TYS20B inoculadas con *Streptococcus mutans*.

VI.3 Muestra y tipo de muestra

10 cajas Petri con agar TYS20B inoculadas con *Streptococcus mutans*.

Pozos con pasta dental con aloe vera, Nano partículas de plata, quitosano y fluoruro como ingrediente activo en 10 cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*.

Grupo control positivo: 10 pozos con pasta dental con clorhexidina al 0.12% en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*.

Grupo control negativo: 30 pozos con agua bidestilada en cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans*

VI.3.1 Criterios de selección

Cajas Petri con agar TYS20B inoculadas con *Streptococcus mutans* sin alteraciones.

Criterios de exclusión: Cajas Petri con agar TYS20B con fracturas e irregularidades en su superficie.

Criterios de eliminación: Cajas Petri con agar TYS20B que sufran algún accidente o se contamine el medio de cultivo, durante el proceso.

VI.3.2 Variables estudiadas

Variable dependiente.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Halo de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i>	Zona formada alrededor de un pozo con pasta dental que inhibe y detiene el crecimiento bacteriano	Midiendo en mm. el halo de inhibición	Cuantitativa	Continua	milímetros
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Pasta dental con aloe vera como ingrediente activo.	Pasta dental libre de fluoruro que se utiliza como coadyuvante en la higiene oral con propiedades, Analgésicas, antibacterianas, antigungicas y antivirales, no toxico.	evaluada en intervalos de tiempo de 24 horas.	Cuantitativa	Continua	milímetros

<p>Pasta dental con quitosano como ingrediente activo.</p>	<p>Es una pasta dental utilizada como coadyuvante en la higiene oral; derivada de un polisacárido natural no tóxico, biocompatible, biodegradable con propiedades antibacterianas.</p>	<p>evaluada en intervalos de tiempo de 24 horas.</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Continua</p>	<p>milímetros</p>
<p>Pasta dental con nanopartículas de plata como ingrediente activo.</p>	<p>Pasta dental con propiedades antibacterianas, utilizada como coadyuvante en la higiene oral. Dentro de la célula, la plata interactúa con los ácidos nucleicos para evitar la replicación celular.</p>	<p>evaluada en intervalos de tiempo de 24 horas.</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Continua</p>	<p>milímetros</p>
<p>Pasta dental con fluoruro como ingrediente activo.</p>	<p>Pasta dental que contiene flúor que actúa como auxiliar químico en la prevención de la caries dental. Actúa en el proceso de desmineralización y remineralización del esmalte reduciendo la solubilidad</p>	<p>evaluada en intervalos de tiempo de 24 horas.</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Continua</p>	<p>milímetros</p>

--	--	--	--	--	--

Dirección General de Bibliotecas UAQ

VI.4 Técnicas e instrumentos

Se midió el halo de inhibición con el software “IMAGEJ” el cual arrojó una medida en milímetros, posteriormente se hizo la recolección de datos mediante tablas de Excel y un análisis estadístico mediante un software específico llamado SPSS; como último paso se graficó para obtener valores que se evaluaron en nuestro estudio.

VI.5 Procedimientos

Preparación de agar TYS20B

Se contactó a proveedores específicos de pastas dentales, ingredientes para medio de cultivo Agar TYS20B (figura 1) bacterias y cajas Petri, al revisarse estuvieron en condiciones óptimas, completamente selladas.



Figura 1: Materiales adquiridos con distribuidor.

Se preparó el agar para el cual se necesitó seguir las indicaciones del fabricante, dosificando 10 gr de Agar TRYS20B, 2.5 gr de extracto de levadura, 50 gr de sucrosa y 250 ml de agua bidestilada (figura 2a), posterior a esto se colocó en

un recipiente con las medidas señaladas y se puso en un agitador magnético el cual calienta y diluye la solución (figura 2b).



Figura 2: preparación de agar TYS20R

La solución se coloca en la autoclave para esterilizarse durante 15 min a 121 C°, (figura 3) una vez esterilizados los medios de cultivo con agar, se enfrió el recipiente en el chorro de agua teniendo cuidado de no mojar la boca de los frascos. Se agrega 61 μ L la bacitracina



Figura 3: autoclave

Se limpió la superficie de trabajo con alcohol (figura 4a) se prendió el mechero y se trabajó cerca de la flama, aproximadamente entre 10-15 cm en el área aséptica. Para verter el medio en las cajas Petri, se abrió la botella y las cajas en

condiciones asépticas y se vertió aproximadamente 30mL de medio por caja (figura 4b), se tapó y dejó solidificar. Se realizaron pruebas de contaminación para comprobar la esterilización y manipulación correcta de los medios de cultivo preparados:

- a. Se colocaron las cajas de Petri en posición invertida en la incubadora a 35oC durante 24 a 48 horas.
- b. Se revisaron las cajas para detectar la presencia de contaminantes: con la aparición de colonias en la superficie de los medios sólidos.

Al finalizar el tiempo de esterilización, se apagó el botón de encendido y se dejó enfriar hasta que la presión haya bajado totalmente. La aguja del manómetro indico cero. Se abrió la autoclave, verificando previamente que estuviera apagada, se abrió la válvula de presión completamente y luego las llaves de seguridad. Se utilizaron guantes de asbesto para introducir o sacar el material de la autoclave. El interior, la tapa, así como las paredes de la autoclave, están calientes.



Figura 4: mesa de trabajo donde se vertió el agar en las cajas Petri de manera aséptica

Inoculación de agar con *Streptococcus mutans*

Se aseó el área de trabajo antes y después de la sesión de laboratorio con solución sanitizante. Se tomaron las bacterias con una probeta (figura 5a) y se inoculó el agar con *Streptococcus mutans* mediante técnica de estrías. Nos colocamos en un lugar iluminado, evitando corrientes de aire, cerca de la flama del mechero. Esta flama crea a su alrededor una atmósfera estéril y además se utilizó para esterilizar o flamear el material usado durante la siembra.

Las cajas Petri se manipularon semiabiertas, siempre orientando la abertura hacia la llama del mechero en zona aséptica. Las tapas de las placas de Petri nunca se colocaron sobre la mesa de trabajo.

Se tomó la placa Petri con la mano izquierda por la base con los dedos medio a meñique y la tapa con los dedos pulgar e índice (figura 5b). Se abrió la placa cerca del mechero. Se esterilizó el asa de siembra a través de la flama y se dejó enfriar por unos segundos. Se tomó una muestra de cultivo líquido diluido con ayuda del asa de siembra. Se extendió a partir de un punto en la periferia de una placa de medio sólido en tres sectores de la placa formando estrías o líneas sobre la superficie, siguiendo un patrón definido. El asa de siembra se esterilizó y enfrió en el agar entre cada sector. Este proceso se repitió dos veces más para tener un triplicado.

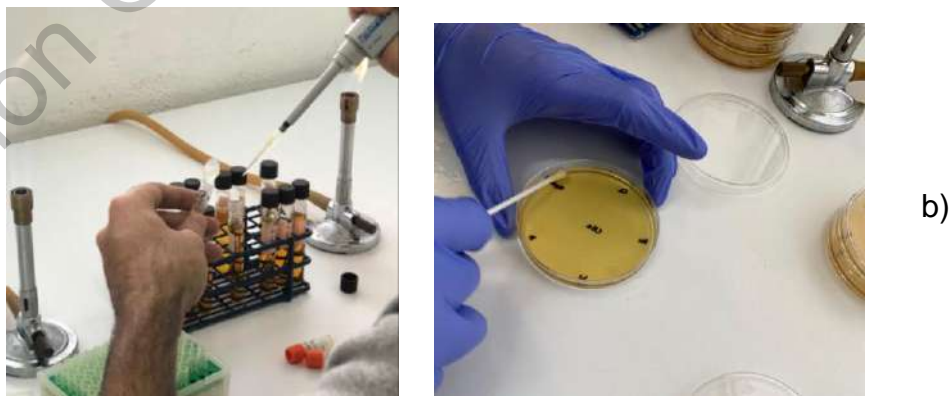


Figura 5: inoculación de agar con bacterias (*Streptococcus mutans*)

Se marcaron las cajas Petri con un marcador indeleble y con las iniciales de cada pasta para no confundirlo y las pastas dentales se colocaron directamente en los sensidiscos (figura 6^a)

- a) Sensidisco impregnado con pasta de aloe vera.
- b) Sensidisco impregnado con pasta de nanopartículas de plata.
- c) Sensidisco impregnado con pasta de quitosano.
- d) Sensidisco impregnado con pasta de flúor.
- e) Sensidisco impregnado con clorhexidina al 2 % (control positivo).
- f) Sensidisco impregnado con solución fisiológica (como control negativo).

Se colocó el sensidisco impregnado con la pasta dental correspondiente sobre el agar inoculado con *Streptococcus mutans*, 5 sensidiscos por caja Petri y se dejó actuar durante 24hrs a 37° en una cámara de incubación (figura 6b)



Figura 6: colocación de sensidiscos sobre agar inoculado con *Streptococcus mutans*.

Medición de halos de inhibición

1.-Se midieron los halos de inhibición de los sensidiscos en cajas Petri que contenían pasta dental con aloe vera mediante Software "Imagej".

- 2.-Se midieron los halos de inhibición de los sensidiscos en caja Petri que contenían pasta dental con nanopartículas de plata mediante Software "Imagej".
- 3.-Se midieron los halos de inhibición de los sensidiscos en cajas Petri que contenían pasta dental con quitosano mediante Software "Imagej".
- 4.-Se midieron los halos de inhibición de los sensidisco en cajas Petri que contenían pastas dentales con flúor mediante Software "Imagej".
- 5.- Se midieron los halos de inhibición de los sensidiscos en cajas Petri que contenían Clorhexidina al 2% mediante software "Imagej" el cual se consideró como control positivo del estudio.
- 6.-Se midieron los halos de inhibición de los sensidiscos en cajas Petri que contenían solución fisiológica mediante Software "Imagej" el cual se consideró como control negativo del estudio.
- 7.- Se compararon las medidas de los halos de inhibición de cada sensidisco en cajas Petri.



Figura 7: Halo de inhibición posterior a colocación de sensidiscos con pastas dentales

VI.5.1 Análisis estadístico

- 1.-Se hizo la recolección de datos en Tablas de Excel.
- 2.- Se realizó un análisis estadístico mediante software SPSS (V.25) y fabricación de gráficas.
- 3.- El valor de p fue significativo en las pastas con quitosan y las pastas con flúor que fueron evaluadas, obteniendo una diferencia estadísticamente significativa $P < 0.0001$.

Se realizó la prueba Post Hoc de Tukey.

VI.5.2 Consideraciones éticas

Todas las prácticas del laboratorio de Microbiología General I en las que se trabaja con microorganismos generan Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (R.P.B.I.), estos residuos son aquellos materiales generados que contengan agentes biológico-infecciosos o sus productos (como los cultivos de microorganismos) y que pueden causar efectos nocivos a la salud y al ambiente. Los R.P.B.I. deberán ser tratados, con base en lo que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSAI-2002 y el MANUAL DE PROCEDIMIENTOS EN MANEJO DE R.P.B.I. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos deberán ser tratados.

VII. Resultados

Se realizó la recopilación de datos, en donde se midió en milímetros cada halo de inhibición que se creó alrededor de los sensidiscos impregnados con pastas dentales cada una con su ingrediente activo a evaluar, posterior a esto se hizo una recopilación de todos los datos (tabla no.1)

Tabla no.1 Diámetro de la zona de inhibición (en milímetros)

N Cajas	1AloeVera	2Nano Plata	3Quitosan	4Fluoruro	5Control
1	15.89	15.69	8.44	13.45	8.1
2	15.02	16.48	8.23	13.52	8.23
3	16.2	16.6	8.05	13.23	8.53
4	15.7	15.2	8.13	13.38	8.22
5	15.61	14.54	8.06	12.35	8.37
6	15.23	15.68	8.12	13.15	8.64
7	15.44	15.2	9.11	13.35	8.27
8	16.12	16.15	9.02	13.3	8.3
9	15.41	15.1	8.16	12.95	8.42
10	16.22	15.21	8.32	13.6	8.55

La puntuación media más alta se registro en las pastas de aloe vera, seguida de las pastas con nanopartículas de plata, las pastas con flúor y al final las pastas de quitosan. (Tabla no. 2- figura. A)

Tabla no. 2 puntuación media

Valores medios de los diámetros de las zonas de inhibición con la Desviación estándar

Pasta	Medias (mm)	Desv. Estandar
Aloe Vera	15.68	0.4181
Nano Plata	15.59	0.6612
Quitosan	8.364	0.3887
Fluorada	13.23	0.3606
Control	8.36	0.1709

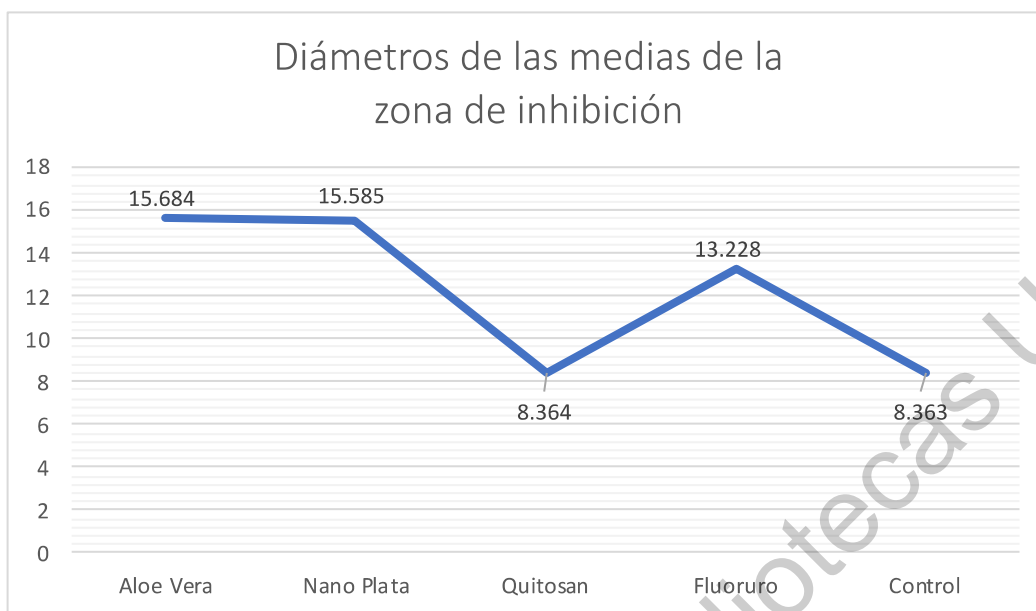


Figura A

Se utilizó la prueba T para datos no apareados para la comparación entre muestras emparejadas de pastas.

La diferencia de puntuación media calculada fue de 0.24. con valor de $p < 0.0001$

Este resultado sugiere que hubo una estadística significativa entre muestras emparejadas del grupo 1 y 2 (Tabla no.3- Figura. B)

Tabla no. 3 diferencias entre en Grupo 1 y Grupo 3 con respecto a la medida principal.

Estadísticas de muestras emparejadas	Grupo 1 -2					
		Media	N	Desv. Estandar	t	p
Par 1	Nano plata	15.585	10	0.66122	42.0	< 0.0001
	Aloevera	15.684	10	0.41812	30.6	

La diferencia de puntuación media calculada fue de 0.66. con valor de $p < 0.0001$
 Este resultado sugiere que hubo una estadística significativa entre muestras emparejadas del grupo 1 y 3 (Tabla no.4- Figura. C)

Tabla no. 4 diferencias entre en Grupo 1 y Grupo 3 con respecto a la medida principal.

Estadísticas de muestras emparejadas	Grupo 1 -3					
		Media	N	Desv. Estandar	t	p
Par 2	Nano plata	15.585	10	0.66122	42.0	< 0.0001
	Quitosan	8.36	10	0.74451	30.6	

La diferencia de puntuación media calculada fue de 0.30 con valor de $p < 0.0001$
 Este resultado sugiere que hubo una estadística significativa entre muestras emparejadas del grupo 1 y 4 (Tabla no.5- Figura. D)

Tabla no. 5 diferencias entre en Grupo 1 y Grupo 4 con respecto a la medida principal.

Estadísticas de muestras emparejadas	Grupo 1 -4					
		Media	N	Desv. Estandar	t	p
Par 3	Nano plata	15.585	10	0.66122	42.0	< 0.0001
	Fluoruro	13.22	10	0.36061	13.24	

La diferencia de puntuación media calculada fue de 0.49 con valor de $p < 0.0001$
 Este resultado sugiere que hubo una estadística significativa entre muestras emparejadas del grupo 1 y grupo control (Tabla no.6)

Tabla no. 6 Diferencias entre el Grupo 1 y Grupo control con respecto a la medida principal.

Estadísticas de muestras emparejadas	Grupo 1 - control					
		Media	N	Desv. Estandar	t	p
Par 3	Nano plata	15.585	10	0.66122	42.0	< 0.0001
	Control	8.3631	10	0.17088	33.436	

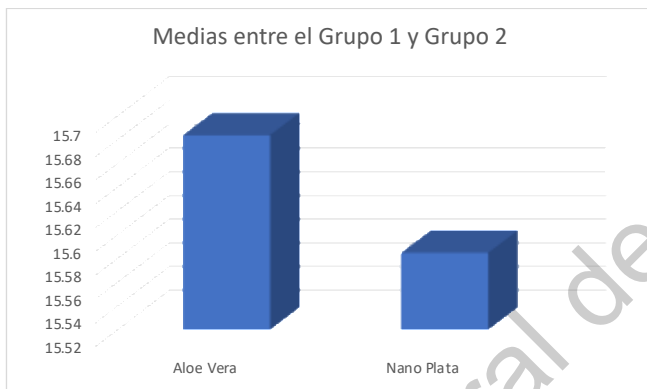


Figura. B

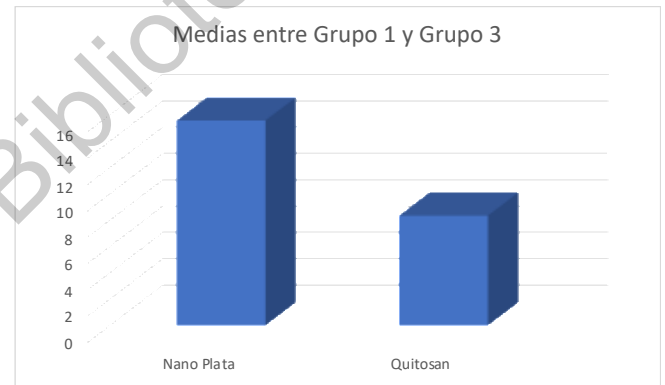


Figura. C

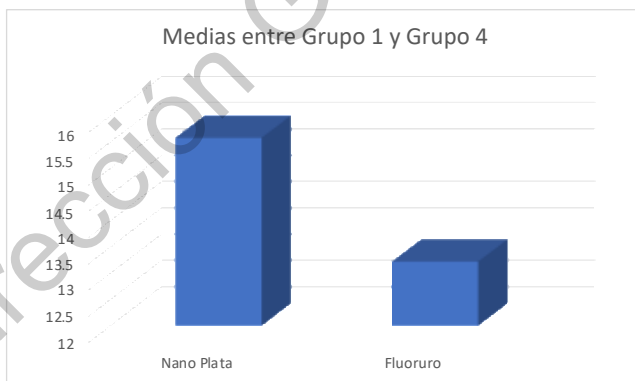


Figura. D

VIII. Discusión

La buena higiene es la clave del éxito para evitar enfermedades bucodentales. La placa dental es el principal causante de un desequilibrio a nivel oral ya que se caracteriza por adherirse a la superficie del diente, en donde se alojan diversos microorganismos patógenos y precursores de la caries.

El *Streptococcus mutans* es el principal odontopatógeno en la etiología de la caries, es por eso que se eligió como organismo de prueba en el estudio. La colonización de este microorganismo se da a la aparición del primer órgano dental en boca, si coloniza en las partes más ocultas como en fosetas y fisuras; entonces el problema de desmineralización puede ser inevitable. La comprensión de cómo se maneja este microorganismo sugiere intervenir al momento de su desarrollo mediante el cepillado dental y así disminuir la incidencia de caries dental en la mayoría de la población.

En 2008 Dilip et al realizaron un estudio preliminar *in vitro* en donde se compararon tres pastas dentales y demostraron que el gel dental de aloe vera fue tan efectivo como dos pastas dentales comercialmente populares para controlar todos los diversos microorganismos utilizados en su estudio.

Todas las pastas dentales que se probaron (Grupo 1, 2, 3 y el control positivo) mostraron halo de inhibición mayor a 2mm lo cual es considerado positivo, al contrario del control negativo con agua bidestilada que no mostro halo de inhibición.

Al seleccionar los dentífricos que se utilizaron en la investigación se corroboró que su formulación e ingredientes fueran lo más similares posibles para que no existieran alteraciones y así evitar cualquier desviación de la acción antimicrobiana pretendida de los ingredientes activos que se probaron. Las pastas

dentales de aloe vera, nano partículas de plata, quitosan no contenían flúor. Por lo tanto, la evaluación del efecto antimicrobiano se considera más preciso.

Los datos del presente estudio afirman que las pastas que contienen aloe vera (Grupo 1) son las que lograron mayor halo de inhibición contra los microorganismos de prueba, en este caso el *Streptococcus mutans*. El promedio del diámetro del halo de inhibición fue de 15.68 mm. Esto podría deberse a las antraquinonas las cuales son los principales compuestos químicos del aloe vera que actúan directamente sobre las bacterias impidiendo la adsorción y replicación Reynolds, (2004).

Villalobos et al. (2018) observaron una reducción significativa en la placa y gingivitis después del uso de enjuagues bucales de aloe vera posterior a 30 días asociado con el cepillado de dientes. Además, de Oliveira et al (2019) encontraron que tanto el dentífrico que contenía aloe vera como el dentífrico que contenía fluoruro produjeron una reducción significativa de la placa dentobacteriana y la gingivitis

Las pastas que contienen nano partículas de plata (Grupo 2) son las que siguen con un promedio de 15.58 mm en el halo de inhibición del *S. mutans* el cual se debe a la carga positiva del ion Ag que actúa directamente sobre la membrana celular de la bacteria. Sondi y Salopek-Sondi (2004) explicaron que existe acumulación de nanopartículas de Ag en la pared celular de las bacterias causando muerte celular. Al evaluar cualquier dentífrico se debe tener en cuenta sus efectos adversos. Gaillet y Rouanet indicaron que las nanopartículas de Ag en la pasta de dientes y otros productos pueden tener relación con el desarrollo de inflamación del tracto digestivo. Sin embargo, la pasta dental está indicada para uso tópico en lugar de sistémico y en pequeñas cantidades por lo tanto las reacciones adversas son muy poco probables.

Junto al quitosano, el grupo 3 mostro el menor efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans* mostrando un promedio de 8.36 mm en el halo de inhibición en comparación con las otras pastas, pero aun mostrando una ventaja en comparación del grupo control (grupo 5). La posible explicación del efecto bajo en este ingrediente activo puede ser la interacción química que existe entre el quitosano y un detergente formador de aniónicos, ya que el quitosano en si es un es un compuesto multicationico. Tsai y Su en 2009 estudiaron la actividad antimicrobiana del quitosano y concluyeron que está directamente relacionada con la absorción del polisacárido en la bacteria, lo que causará alteraciones en la estructura de la pared celular, en consecuencia, en la permeabilidad de la membrana celular.

El grupo 4 representa a las pastas con flúor las cuales crearon un efecto antimicrobiano con un promedio de 13.22mm de halo de inhibición; el dentífrico que se utilizo tiene una concentración de fluoruro de sodio 1100 (ppm) como ingrediente activo. En los productos de salud oral, los fluoruros son el ingrediente activo que se utiliza de manera más abundante ya que su capacidad de inhibir o hasta revertir el inicio de la caries dental ha sido documentado. En estudios realizados con anterioridad, Jenkins afirmó que los productos de higiene oral que contienen flúor han demostrado reducir la caries entre un 30% y un 70% en comparación a los productos que no lo contienen.

IX. Conclusiones

Este estudio comparativo in vitro evaluó el efecto antimicrobiano de pastas con aloe vera, nano partículas de plata, quitosan y flúor contra el *Streptococcus mutans* a través de sensidiscos impregnados con pastas dentales, por lo tanto, se concluyó que:

-Se encontró que todos los grupos experimentales probados tienen una eficacia antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

-La pasta con aloe vera tuvo la mayor eficacia antibacteriana contra *S. mutans* seguido de pasta dental con nano partículas de plata, flúor y quitosano; respetando ese orden.

-El control positivo con clorhexidina mostro una inhibición bacteriana significativa.

-El control negativo (agua bidestilada) mostro un halo de inhibición negativo ya que no creo halo de inhibición.

IX. Propuestas

Se recomienda seguir haciendo más estudios con los mismos ingredientes activos, pero con otras marcas de pasta dental que contengan ingredientes coadyuvantes similares para verificar si el efecto antimicrobiano depende de la concentración que maneje cada marca comercial o de alguna variante en los ingredientes extras que contengan.

X. Bibliografía

- Crewe, J E. 1939. "Aloes in the Treatment of Burns and Scalds." *Minnesota Medicine*, no. August: 537–39.
- Davies, Robin M. 2008. "Toothpaste in the Control of Plaque/Gingivitis and Periodontitis." *Periodontology 2000* 48 (1): 23–30.
- Dintenfass, Leopold, and Alan Sharp. 1969. "An In Vitro Study." *Annals of Surgery* 170 (6): 984–95.
- Gaillet, Sylvie, and Jean Max Rouanet. 2015. "Silver Nanoparticles: Their Potential Toxic Effects after Oral Exposure and Underlying Mechanisms - A Review." *Food and Chemical Toxicology* 77: 58–63.
- García-Contreras, René, Liliana Argueta-Figueroa, Cynthia Mejía-Rubalcava, Rocio Jiménez-Martínez, Sahamanta Cuevas-Guajardo, Paola Ariselda Sánchez-Reyna, and Hugo Mendieta-Zeron. 2011. "Perspectives for the Use of Silver Nanoparticles in Dental Practice." *International Dental Journal* 61 (6): 297–301.
- Kittur, Farooqahamed S., Acharya B. Vishu Kumar, Mandyam C. Varadaraj, and Rudrapatnam N. Tharanathan. 2005. "Chitooligosaccharides - Preparation with the Aid of Pectinase Isozyme from *Aspergillus Niger* and Their Antibacterial Activity." *Carbohydrate Research* 340 (6): 1239–45.
- Kmiec M, 2017. "Chitosan-Properties and Applications in Dentistry." *Advances in Tissue Engineering & Regenerative Medicine: Open Access* 2 (4): 205–11.
- Korkmaz, F., M. Ozel, T. Tuzuner, B. Korkmaz, and N. Yayli. 2019. "Antimicrobial Activity and Volatile Constituent Analysis of Three Commercial Herbal Toothpastes Containing *Aloe Vera L.* and *Fragaria Vesca L.* Extracts." *Nigerian Journal of Clinical Practice* 22 (5): 718–26.

- Kurian, Maria, and R. V. Geetha. 2015. "Effect of Herbal and Fluoride Toothpaste on Streptococcus Mutans – A Comparative Study." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 7 (10): 864–65.
- Lara, Humberto H., Liliana Ixtepan-Turrent, Elsa N. Garza-Treviño, and Cristina Rodriguez-Padilla. 2010. "PVP-Coated Silver Nanoparticles Block the Transmission of Cell-Free and Cell-Associated HIV-1 in Human Cervical Culture." *Journal of Nanobiotechnology* 8: 1–11.
- Liza Barreto, V., A. M. Do Socorro Costa Feitosa, T. Joás De Araújo, F. Karine Chagas, and L. Kenio Costa. 2005. "Acción Antimicrobiana in Vitro de Dentífricos Conteniendo Fitoterápicos." *Avances En Odontoestomatología* 21 (4): 195–201.
- Loesche, W. J. 1986. "Role of Streptococcus Mutans in Human Dental Decay." *Microbiological Reviews* 50 (4): 353–80.
- Morones, Jose Ruben, Jose Luis Elechiguerra, Alejandra Camacho, Katherine Holt, Juan B. Kouri, Jose Tapia Ramírez, and Miguel Jose Yacaman. 2005. "The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles." *Nanotechnology* 16 (10): 2346–53.
- Prabhu, Sukumaran, and Eldho K Poulouse. 2012. "Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial." *Int. Nano Lett.* 2: 32–41.
- Santos, Valdeci Elias dos, Arnaldo Vasconcelos Filho, Andrea Gadelha Ribeiro Targino, Miguel Angel Pelagio Flores, André Galembeck, Arnaldo França Caldas, and Aronita Rosenblatt. 2014. "A New 'Silver-Bullet' to Treat Caries in Children--Nano Silver Fluoride: A Randomised Clinical Trial." *Journal of Dentistry* 42 (8): 945–51.
- Sondi, Ivan, and Branka Salopek-Sondi. 2004. "Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: A Case Study on E. Coli as a Model for Gram-Negative Bacteria." *Journal of Colloid and Interface Science* 275 (1): 177–82.
- Tsai, Guo Jane, and Wen Huey Su. 1999. "Antibacterial Activity of Shrimp Chitosan

against Escherichia Coli." *Journal of Food Protection* 62 (3): 239–43.

XI. Anexos

X1.1 Hoja de recolección de datos

Streptococcus mutans						
Cajas	Pasta Aloe vera	Pasta Plata	Pasta Qitosan	Pasta flúor	Control +	Control -
Promedio						
Desviación estándar						
Rango						

XI.2 Instrumentos

1. Cajas Petri (Senna®, 60 x 15, producto previamente estéril)
2. Agar TYS20B
3. Levadura
4. Sucrosa
5. Bacitracina
6. Clorhexidina al 2%
7. Pasta dental con Aloe vera (Forever Brigh®)
8. Pasta dental con Quitosano (ConyBio plus ®)
9. Pasta con Nano Partículas de plata (NanoSilver®)
10. Pasta dental con Fluoruro (Oral B pro salud®)
11. Agua bidestilada estéril
12. Matraz Erlenmeyer
13. Hisopos estériles
14. Agua bidestilada
15. Espátula
16. Loseta de vidrio
17. Guantes y cubrebocas
18. Lentes de protección
19. Micropipeta
20. Puntas de micropipeta
21. Plumón indeleble
22. Báscula analítica
23. Incubadora
24. Auto clave
25. Cepas inoculadas de *Streptococcus mutans*
26. Asa bacteriológica
27. Mechero bunsen
28. Cuchara dosificadora
29. Campos estériles
30. Bata de algodón
31. Papel
32. Parrilla eléctrica
33. Papel filtro estéril
34. Regla

- 35. Pinzas curación estéril
- 36. Papel parafilm "M"
- 37. Cámara de anaerobios

Dirección General de Bibliotecas UAQ