



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Odontopediatría

“Estudio del efecto inhibitorio del *Sacharomyces Boulardii* CNCM I-745 en *Streptococo Mutans* y *Candida Albicans* para aplicación en Pediatría y Odontopediatría”

Tesis

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

Presenta:

Lic. En Odontología Luis Guillermo Monreal Obregón

Dirigido por:

Dr. Marco Antonio Vargas Jiménez

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Septiembre 2021
México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad en Odontopediatría

“Estudio del efecto inhibitorio del *Sacharomyces Boulardii* CNCM I-745 en *Streptococo Mutans* y *Candida Albicans* para aplicación en Pediatría y Odontopediatría”

Tesis

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

Presenta:

Lic. En Odontología Luis Guillermo Monreal Obregón

Dirigido por:

Dr. Marco Antonio Vargas Jiménez

Dr. Marco Antonio Vargas Jiménez
Presidente

CDEO. Mauricio López Jiménez
Secretario

LOEO Claudia Mérida Ruiz
Vocal

Dr. En C. Claudia Verónica Cabeza Cabrera
Suplente

CDMO. Luis Andrés Vázquez Landaverde
Suplente

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Septiembre 2021
México

Resumen

Introducción: La Microbiota permanente de la boca, se establece en la primera infancia; los estudios sobre las comunidades bacterianas orales nocivas se han dirigido principalmente a *Streptococcus Mutans* y *Candida Albicans* asociados a la caries y patologías orales. Los resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles (SIVEPAB) muestran que actualmente 70% de cada 100 preescolares padecen caries dental, teniendo 75% de niños y adolescentes de 2 a 19 años de edad, con lesiones por caries dental, lo que ha llevado al desarrollo de un nuevo enfoque terapéutico para prevenir las afecciones microbianas (como la caries dental) denominada Terapia de Reemplazo Probiótica, donde se ha intentado intervenir en las interacciones bacterianas. **Objetivos:** Específicamente se pretende medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus Mutans* y *Candida Albicans* con sensidisco impregnado de Floratil® (*Sacharomyces Boulardii*). **Material y Métodos:** El procesamiento se realizó con cultivo TYS20B (Agar Trypticasa Soya-Llevadura-Sucrosa-Bacitracina) para *Streptococcus Mutans* y agar cerebro-corazón para *Candida Albicans*, posteriormente se colocaron sensidiscos impregnados con solución de *S. Boulardii* CNCM I-745 con 4 concentraciones diferentes. Los resultados se estandarizaron y fueron expresados en Mm. **Consideraciones Éticas:** Ningún conflicto de interés o Bioético incluido. **Resultados:** Para análisis estadístico se aplicó la prueba de T student y Desviación Estándar obteniendo significancia estadística de $P=0.19$ con Intervalo de Confianza de 91%, finalmente, se realizaron análisis de correlación lineal entre los diámetros de inhibición a cuatro concentraciones (125mg, 250mg, 500mg, y 750 mg/100ml) comprobando una inhibición de efecto máximo en concentración de 500mg, durante tres días similar al NaOCL. **Discusión:** *Sacharomyces Boulardii* en este caso, mostró su capacidad para inhibir cepas patógenas nativas (*Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*), aún en condiciones poco favorables para él mismo, por lo cual se proyecta un efecto aún mayor en las condiciones naturales de la cavidad oral teniendo 2 usos: -Terapia de Reemplazo de Microbiota Oral y –Terapia de Choque en Odontopediatría.

Conclusiones: Incluyendo éste, diversos estudios demuestran los posibles efectos benéficos en infantes, directamente en prevención y tratamiento de Caries/Candidiasis, utilizando como vehículo fórmulas lácteas, solución tópica y colutorios, así como su inclusión en la Microbiota de Pacientes Pediátricos.

Palabras clave: Caries Dental, Probióticos, Inhibición, *Sacharomyces Boulardii*, *Streptococcus mutans*, *Candida Albicans*.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Summary

Introduction: The permanent microbiota of the mouth is established in early childhood; Studies on harmful oral bacterial communities have focused mainly on Streptococcus Mutans and Candida Albicans associated with oral caries and pathologies. The results of the Oral Pathologies Epidemiological Surveillance System (SIVEPAB) show that currently 70% of every 100 preschoolers suffer from dental caries, with 75% of children and adolescents from 2 to 19 years of age, with dental caries lesions, which has led to the development of a new therapeutic approach to prevent microbial conditions (such as dental caries) called Probiotic Replacement Therapy, where attempts have been made to intervene in bacterial interactions. **Objectives:** Specifically, it is intended to measure the inhibition halo in culture of Streptococcus Mutans and Candida Albicans with sensidisk impregnated with Floratil® (Sacharomyces Boulardii). **Material and Methods:** The processing was carried out with culture TYS20B (Agar Tryticasa Soya-Llevadura-Sucrosa-Bacitracina) for Streptococcus Mutans and brain-heart agar for Candida Albicans, later sensidisks impregnated with solution of S. Boulardii CNCM I-745 with 4 different concentrations. The results were standardized and were expressed in Mm. **Ethical Considerations:** No conflict of interest or Bioethics included. **Results:** For statistical analysis, the student's T test and Standard Deviation were applied, obtaining statistical significance of $P = 0.19$ with a Confidence Interval of 91%, finally, linear correlation analyzes were performed between the inhibition diameters at four concentrations (125mg, 250mg, 500mg, and 750mg / 100ml), verifying a maximum effect inhibition at a concentration of 500mg, for three days similar to NaOCL.

Discussion: Sacharomyces Boulardii in this case, showed its ability to inhibit native pathogenic strains (Streptococcus mutans and Candida Albicans), even in unfavorable conditions for itself, for which an even greater effect is projected in the natural conditions of the oral cavity. having 2 uses: -Oral Microbiota Replacement Therapy and -Shock Therapy in Pediatric Dentistry. **Conclusions:** Including this, several studies demonstrate the possible beneficial effects in infants, directly in the prevention and treatment of Caries / Candidiasis, using milk formulas, topical solution and mouthwashes as a vehicle, as well as their inclusion in the Microbiota of Pediatric Patients.

Keywords: Dental Caries, Probiotics, Inhibition, Sacharomyces Boulardii, Streptococcus mutans, Candida Albicans.

Dedicatorias

A mis Padres, los Doctores que siempre me han respaldado y mostrado el camino hacia adelante.

A mi hermana, la pequeña, ahora crecida, que nunca ha dejado de apoyarme y creer en mí.

Por Gisselle y para los niños como ella.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Agradecimientos

A mi Familia, por darme lo mejor y permitirme disfrutar del Amor y la Disciplina que conlleva una vida profesional.

A mis Maestros y Amigos que me han ayudado a expresar mi mejor versión.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Índice

Contenido	Página
Resumen	i
Summary	iii
Dedicatorias	v
Agradecimientos	vi
Índice	vii
Índice de cuadros	viii
Abreviaturas y siglas	ix
I. Introducción	1
II. Antecedentes/estado del arte	6
III. Fundamentación teórica	7
IV. Hipótesis o supuestos	8
V. Objetivos	9
V.1 General	
V.2 Específicos	9
VI. Material y métodos	11
VI.1 Tipo de investigación	11
VI.2 Población o unidad de análisis	11
VI.3 Muestra y tipo de muestra	11
VI. Técnicas e instrumentos	15
VI. Procedimientos	16
VII. Resultados	20
VIII. Discusión	25
IX. Conclusiones	27
X. Propuestas	28

XI. Bibliografía

29

XII. Anexos

32

Índice de cuadros

Cuadro		Página
V1	Tabla Variables	14
T1	Porcentaje Efecto Inhibitorio de <i>Sacharomyces Boulardii</i> sobre <i>Streptococcus Mutans</i> con respecto a Control Positivo (NaOCL).	20
T2	Porcentaje Efecto Inhibitorio de <i>Sacharomyces Boulardii</i> sobre <i>Candida Albicans</i> con respecto a Control Positivo (NaOCL).	21
G1	Media Halo cultivo S. Mutans vs control positivo	22
G2	Media Halo cultivo <i>Candida Albicans</i> vs control positivo	22
G3	Análisis Discrepancia Dimensional Promedio	24
A1	Agrupación promedio de datos de las Series CI, CII y CIII del cultivo de <i>C. Albicans</i> y <i>Sacharomyces Boulardii</i> .	32

Abreviaturas y siglas

mg: miligramos.

ag: agar

mm: milímetros

S. mutans: Streptococo Mutans

C. albicans: Cándida Albicans

NaClO: Hipoclorito de Sodio

ml: mililitros

Dirección General de Bibliotecas UAQ

I. Introducción

Los "probióticos" nos acompañan desde el momento en que las personas comen leche fermentada; sin embargo, su relación con los beneficios para la salud llamó la atención solo cuando Metchnikoff en 1907 observó que las bacterias en la leche fermentada competían con los microorganismos que son nocivos para la salud. Lilley y Stillwell en 1965 describieron estos microorganismos beneficiosos en leche fermentada usando el término "probiótico". En 1989, Fuller los definió como un suplemento alimenticio microbiano vivo, que afecta beneficiosamente al animal huésped al mejorar su equilibrio microbiano. La primera especie probiótica introducida en la investigación fue *Lactobacillus Acidophilus* por Hull, et al. en 1984 y *Bifidobacterium Bifidum* por Holcomb, et al. en 1991 (Aritile, 2005)

Características de los probióticos.

Un buen agente probiótico debe ser no patogénico, no tóxico, resistente al ácido gástrico, adherirse al tejido epitelial intestinal y producir sustancias antibacterianas. Debe persistir, aunque sea por períodos cortos en el tracto gastrointestinal, lo que influye en las actividades metabólicas, como la asimilación del colesterol, la actividad de la lactosa y la producción de vitaminas (Zahradnik et al., 2009).

Los mecanismos de acción que explican los efectos probióticos beneficiosos incluyen la modulación de la respuesta inmune del huésped que conduce al fortalecimiento de la resistencia al desafío patogénico y la alteración de la composición y la actividad metabólica de la microflora del huésped en la ubicación específica. Entre los principales criterios de selección para los probióticos están:

1. Adhesión y colonización (al menos transitorias) en el cuerpo humano. La adhesión puede aumentar el tiempo de retención de un probiótico y colocar las bacterias y las superficies del huésped (fluidos corporales y células epiteliales) en contacto cercano, lo que facilita una mayor actividad probiótica.
2. Mejora de la respuesta inmune no específica y específica del huésped.
3. Producción de sustancias antimicrobianas y competencia con patógenos para sitios de unión.
4. Supervivencia y resistencia a los mecanismos de defensa humana durante el tránsito oro-gastrointestinal.
5. Seguridad para el macro-organismo (Kolenbrander et al. 2010)

La terapia probiótica usa interferencia bacteriana e inmunomodulación en el control de varias condiciones infecciosas, inflamatorias e inmunológicas (Parvez & Kim, 2006).

Probióticos y cavidad oral, control de infección periodontal y halitosis.

La periodontitis es una enfermedad multifactorial que abarca la colonización microbiana de tejidos duros y blandos (con o sin invasión), respuestas inflamatorias y respuestas inmunes adaptativas. El tratamiento de las enfermedades periodontales en los últimos años ha evolucionado hacia un modelo antibiótico / antimicrobiano para el manejo de la enfermedad. Los probióticos podrían ser un área prometedora de investigación en el tratamiento de la periodontitis. Los probióticos alteran el pH de la cavidad oral de modo que las bacterias de la placa no pueden formar placa dental y cálculo que causa la enfermedad periodontal. Son un excelente producto de mantenimiento porque producen antioxidantes. Los antioxidantes previenen la formación de placa al neutralizar los electrones libres que se necesitan para la formación de minerales. (Deshmukh & Karibasappa, 2017).

Los probióticos también pueden usarse en el tratamiento de la halitosis. Los probióticos generan una reducción significativa de los compuestos volátiles de azufre después de hacer gárgaras dos veces al día con 15 ml de CMU *Weissella Cibaria* durante 2 minutos, así mismo se identificaron reducciones significativas en compuestos de azufre volátiles para el grupo probiótico en comparación con el grupo placebo cuando se utilizó *Streptococcus* probiótico (Deshmukh & Karibasappa, 2017).

Papel de los probióticos en la caries dental.

En la caries, hay un aumento de especies acidógenas y tolerantes a los ácidos, como *Streptococcus Mutans* y lactobacilos, aunque también se pueden encontrar otras bacterias con propiedades similares, como *Bifidobacteria*, *Streptococcus* no mutans, *Actinomyces spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Veillonella spp.* y *Atopobium spp.* El uso de probióticos y genética molecular para reemplazar y desplazar a las bacterias cariogénicas con bacterias no cariogénicas ha mostrado resultados prometedores. Estos estudios han empleado diferentes enfoques. Los primeros estudios se centraron en la utilización de bacterias que expresaban bacteriocinas o sustancias inhibitoras similares a la bacteriocina que impedían específicamente el crecimiento de bacterias cariogénicas. Un enfoque ha sido identificar las bacterias probióticas de grado alimentario que tienen la capacidad de colonizar los dientes e influir en la placa supragingival. Además, las cepas se han cribado para una actividad antagonista adecuada contra bacterias orales relevantes. Otro enfoque utilizó una cepa recombinante de *Streptococcus Mutans* que expresaba ureasa, que se demostró que reducía la cariogenicidad de la placa en un modelo animal. Del mismo modo, se pueden desarrollar probióticos genéticamente modificados con propiedades mejoradas ("probióticos de diseño"). Por ejemplo, una cepa recombinante de *Lactobacillus* que expresaba anticuerpos dirigidos a una de las principales adhesiones de *S. mutans* (antígeno I / II) fue capaz de reducir tanto

los recuentos viables de *S. mutans* como la puntuación de caries en un modelo de rata (Kuramitsu & Shi, 2007).

Probióticos y candidiasis oral.

Las especies de *Candida* forman parte de la flora oral comensal en aproximadamente el 50% de los sujetos sanos, pero pueden causar una lesión clínicamente aparente si las defensas inmunes se rompen a nivel local o sistémico. Un estudio ha demostrado que los sujetos que consumieron queso que contenía el probiótico *L. Rhammnosus* exhibieron una reducción en la prevalencia de *Candida* oral que posteriormente puede conferir un efecto protector contra la candidiasis oral. Sin embargo, otros investigaron el efecto de varios lactobacilos y no pudieron encontrar un efecto sobre la *Candida* oral. Esto puede explicarse en parte por el hallazgo del experimento ex vivo que demostró una capacidad profunda pero variable de cepas de lactobacilos probióticos comercialmente disponibles para inhibir el crecimiento de *C. albicans* posiblemente debido al bajo pH producido por los lactobacilos. Relevante para esto es el estudio de laboratorio que demostró que los ratones infectados con *Candida* que fueron alimentados con *L. acidophilus* exhibieron una eliminación acelerada de *C. albicans* de la boca (Selecto & Hern, 2009).

Justificación

Darí la pauta para estudios in vivo sobre el efecto inhibitorio en cavidad oral de infantes, proveyendo una alternativa sustentable a la prevención y tratamiento de caries en infantes, utilizando un suplemento vía oral como vehículo (Floratil®).

Objetivo general.

Demostrar el efecto inhibitorio in vitro del *Sacharomyces boulardii* sobre *Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*.

II. Antecedentes

Algunos autores reportan que los probióticos son una nueva técnica en la prevención de la caries dental, y algunas otras enfermedades como por ejemplo la enfermedad de Crohn y CUCI. Específicamente de caries dental, diversos autores hablan acerca de algunos alimentos que ayudan a su prevención como los productos lácteos, y también chicles que no contengan azúcares. Así mismo se menciona que la terapia de reemplazo significa, sustituir un microorganismo acidogénico que produzca la caries dental, por un microorganismo probiótico, recordando que son microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del organismo, mediante la exclusión competitiva, o positiva de las bacterias patógenas. La colonización temprana de Probióticos en cavidad oral con objeto de disminuir patógenos cariogénicos, particularmente *Streptococcus mutans*, puede disminuir el riesgo a caries de la infancia (Romani &, Kressier, 2013).

Se ha demostrado que la capacidad de los *Streptococcus mutans* para producir polisacáridos extracelulares de carbohidratos de la dieta, mejora significativamente su carioactividad, a menos que se encuentre en competencia con otros organismos, Probióticos en este caso, pero hasta ahora sin considerar levaduras del tipo *Saccharomyces*. Para tener un efecto benéfico en la limitación o en la prevención de las caries dentales, un probiótico debe ser capaz de adherirse a las superficies dentales y de integrarse en las comunidades bacterianas que forman una biopelícula dental. Tal película retiene los patógenos de los tejidos orales llenando un espacio que en el futuro podría haber servido de nicho para patógenos, y también debe competir con las bacterias cariogénicas y antagonizarlas, y así prevenir su proliferación (Simonetti & Takebayashi 2009).

La capacidad de una bacteria dada para colonizar un huésped está determinada por una serie de factores, tales como las necesidades metabólicas de la bacteria y las

interacciones de la bacteria con la flora bacteriana preexistente. Hay muchas interacciones positivas y negativas entre las diferentes especies de bacterias que habitan el ecosistema oral. Las interacciones bacterianas pueden ser generalmente clasificadas como "positivas" o "negativas". En las interacciones positivas, una cepa bacteriana "efectora" altera el microambiente para promover la colonización de un segundo organismo "objetivo". En interacciones "negativas", la cepa efectora altera el microambiente de una manera que disminuye o impide completamente la colonización de bacterias diana. Las interacciones negativas entre bacterias competidoras durante la colonización del huésped se denomina comúnmente interferencia bacteriana (Hoare & Marsh, 2017).

Una consideración clave en la utilidad de las cepas de reemplazo es su capacidad para competir con cepas endógenas y el hecho de que la eliminación de actividades endógenas o la introducción de genes externos pueden comprometer la aptitud de una bacteria (Simonetti & Takebayashi 2009).

III. Fundamentación teórica

No hay estudios previos sobre el efecto inhibitorio del *Sacharomyces Boulardii* en *Streptococcus Mutans*, pues aunque se ha demostrado evidencia científica en la administración de probióticos en la odontología; concretamente en las enfermedades orales en las que existe disbiosis como caries, halitosis y periodontitis y que éstos microorganismos parecen reducir los niveles de *Streptococcus Mutans*, así como mejorar índices gingivales y periodontales; hasta ahora, se han evidenciado efectos terapéuticos de microorganismos probióticos, con excepción de Levaduras del tipo *Sacharomyces Boulardii*, cuyos efectos ya han sido investigados en tracto gastrointestinal pero sin determinar aún en cavidad oral. Por lo anterior no se ha evidenciado un consenso en cuanto a la pauta de administración y cepa más útil en el campo de la odontología.

Los mecanismos de acción que explican los efectos probióticos beneficiosos incluyen la modulación de la respuesta inmune del huésped que conduce al fortalecimiento de la resistencia al desafío patogénico y la alteración de la composición y la actividad metabólica de la microbiota del huésped en la ubicación específica

IV. Hipótesis.

Hipótesis Nula

“El *Sacharomyces Boulardii* inhibe el crecimiento del *Streptococcus Mutans* y *Candida Albicans* in vitro”

Hipótesis Alternativa

“El *Sacharomyces boulardii* no inhibe el crecimiento del *Streptococcus Mutans* y *Candida Albicans* in vitro”

V. Objetivos

V.1 Objetivo general

Demostrar el efecto inhibitorio in vitro del *Sacharomyces boulardii* sobre *Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*.

V.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco de *Sacharomyces boulardii*.
2. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco impregnado en solución de 125mg de *Sacharomyces boulardii*
3. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco impregnado en solución de 250mg de *Sacharomyces boulardii*
4. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco impregnado en solución de 500mg de *Sacharomyces boulardii*
5. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco impregnado en solución de 750mg de *Sacharomyces boulardii*
6. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Streptococcus mutans* con sensidisco impregnado en solución de 1000mg de *Sacharomyces boulardii*
7. Evaluar el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco de *Sacharomyces boulardii*.
8. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco impregnado en solución de 125mg de *Sacharomyces boulardii*
9. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco impregnado en solución de 250mg de *Sacharomyces boulardii*

10. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco impregnado en solución de 500mg de *Sacharomyces boulardii*
11. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco impregnado en solución de 750mg de *Sacharomyces boulardii*
12. Medir el halo de inhibición en cultivo de *Candida Albicans* con sensidisco impregnado en solución de 1000mg de *Sacharomyces boulardii*

Dirección General de Bibliotecas UFR

VI. Material y métodos

VI.1 Tipo de investigación

Experimental In Vitro.

VI.2 Población o unidad de análisis

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. Mutans* para cada concentración de *Sacharomyces boulardii* (125, 250, 500, 750 y 1000 mg), Agua bidestilada estéril (control negativo) y solución al 25% de Hipoclorito de Sodio (control positivo).

-60 cultivos en Cajas Petri CHROMA Agar con inoculación de *C. albicans* para cada concentración de *Sacharomyces boulardii* (125, 250, 500, 750 y 1000 mg), Agua bidestilada estéril (control negativo) y solución al 25% de Hipoclorito de Sodio (control positivo).

VI.3 Muestra y tipo de muestra

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución de 125 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución de 250 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución de 500 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución de 750 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución de 1000 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución de 125 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución de 250 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución de 500 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución de 750 mg de *Sacharomyces boulardii*.

-60 cultivos en Cajas de Petri CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución de 1000 mg de *Sacharomyces boulardii*.

VI.3.1 Criterios de selección

VI.3.1.1 Grupo Trabajo

-60 Cajas de Petri Tripticasa soya – levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en solución al 25% de Hipoclorito de Sodio, para cada concentración utilizada. (125, 250, 500, 750 y 1000 mg).

-60 Cajas de CHROMAgar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en solución al 25% de Hipoclorito de Sodio (control positivo) para cada concentración utilizada. (125, 250, 500, 750 y 1000 mg).

VI.3.1.2 Grupo Control

60 Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans* con sensidisco impregnado en Agua bidestilada estéril, una para cada concentración utilizada. (125, 250, 500, 750 y 1000 mg).

60 Cajas de Petri CHROMA Agar con inoculación de *C. albicans* con sensidisco impregnado en Agua bidestilada estéril (control negativo), para cada concentración utilizada. (125, 250, 500, 750 y 1000 mg).

VI.3.1.3 Criterios de inclusión

Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de *S. mutans*, que presenten las características específicas de colonización por *S. mutans*.

Cajas de Petri CHROMA Agar con inoculación de *C. Albicans*, que presenten las características específicas de colonización por *C Albicans*.

VI.3.1.4 Criterios de exclusión

Cajas de Petri Tripticasa soya – Levadura – Sucrosa - Bacitracina Agar con inoculación de otros patógenos diferentes a *S. mutans*.

Cajas de Petri CHROMA Agar con inoculación de otros patógenos diferentes a *C. Albicans*..

VI.3.1.5 Criterios de eliminación

Cajas de Petri que se rompan, contaminen o no generen cultivo de *S. mutans* y *C. Albicans*, durante el procesamiento.

VI.3.2 Variables estudiadas

Variable a estudiar. V1.Tabla Variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Halo de Inhibición	Zona formada alrededor de un disco con medicación o agente químico terapéutico, que inhibe y detiene el crecimiento bacteriano	Determinando el halo de inhibición en mm	Cuantitativa	Continua	Milímetros
	Es agua de un alto nivel de pureza; de baja	Especificando ml de agua	Cuantitativa	Continua	Mililitros

Agua Bidestilada	conductividad eléctrica y alta constante dieléctrica a la cual se le han eliminado iones .	bidestilada aplicada en los sensidiscos			
Hipoclorito de Sodio	Compuesto utilizado a gran escala para la desinfección de superficies, fuertemente oxidante, su fórmula es NaClO.	Especificando ml de Hipoclorito de Sodio aplicado en los sensidiscos	Cuantitativa	Continua	Mililitros

VI.4 Técnicas e instrumentos

Identificación y registro de las zonas de inhibición.

Medición del diámetro de la zona de inhibición al final del periodo de incubación (si las placas muestran un crecimiento apropiado). Se medirán únicamente aquellas zonas en las que se muestra una inhibición completa y se registrará el diámetro de la zona redondeando al milímetro más cercano. Se deberá repetir la prueba si sólo se desarrollan colonias individuales y si el medio de cultivo

no presenta crecimiento bacteriano. Dicha medición se realizará con un Vernier tipo M con ajuste Fino: El vernier consta de un par de reglas, una fija y una móvil o deslizante, el calibrador común permite medir dimensiones exteriores, interiores y profundidades de los objetos. La regla móvil o nonio tiene marcadas diez divisiones que abarcan nueve divisiones de la regla fija o principal, de tal forma que esto corresponde a 9/10 de una división de la regla principal.

VI.5 Procedimientos

1. Preparación del medio de cultivo

I. El cultivo selectivo de *S Mutans* agar Tripticasa Soya-Levadura-Sucrosa-Bacitracina, se elaborará a partir de la Base de Tripticasa de soya de 50gr en un vaso de precipitados de 750 ml, estéril. CHROMagar selectivo para *C. Albicans* ya prefabricado y listo para inoculación en placas de 90 mm, estériles.

II. Se añadió 50 gramos de Sucrosa con una espátula estéril, a la Base de Tripticasa.

III. Posteriormente se añadieron 10 gramos de extracto de levadura con una espátula estéril.

IV. Se añadieron a la base 2.5 gramos de Bacitracina con una espátula estéril.

V. Se añadieron a la base la cantidad de 500ml de agua destilada estéril y se agitará con espátula estéril hasta obtener una mezcla homogeneizada de todos los componentes.

2. Preparación de las cajas de Petri

I. El agar Tripticasa soya-Llevadura-Sucrosa-Bacitracina, TYS20B (pH 7.3 \pm 0.1) se vació en 60 cajas de Petri que se colocarán sobre una superficie plana. CHROMagar selectivo para *C. Albicans* ya diseñado para inoculación inmediata.

II. La profundidad del líquido agar Tripticasa Soya-Levadura-Sucrosa-Bacitracina, TYS20B y de CHROMagar fué de 4 mm.

III. Una vez que el medio se solidificó, las cajas de Petri se colocaron por 20 minutos en autoclave (a 121°C con 1 atm) para garantizar la ausencia de otros microorganismos.

3. Inoculación por método de Kirby-Bauer

I. Se sumergió un hisopo estéril en el medio donde se encuentra la cepa de *S. mutans*, y de *C Albicans*, después se giró mientras ejercía presión en la pared superior del tubo de ensaye, arriba del nivel del líquido para poder retirar o remover el exceso de cultivo.

II. Se sembró en la superficie de agar de la caja de Petri en tres direcciones haciendo girar la caja de Petri 60° entre cada una de las siembras.

III. Se colocó la tapa de la caja de Petri y se mantendrá a temperatura ambiente de 5 a 10 minutos para que se seque el medio de cultivo.

IV. No se excedieron los 15 minutos de espera. Para que los resultados fueran más exactos se elaboró un desarrollo confluyente dentro de un área estéril con mecheros de bunsen a 20 cm de distancia del área de trabajo.

V. Se incubaron las cajas de Petri de 48 horas a una temperatura de 37°C.

4. Utilización de los Sensidiscos

I. Se retiraron uno de los Sensidiscos de su contenedor con la ayuda de pinzas esterilizadas con fuego, luego se impregnaron con el Probiótico diluido en 100 ml/125mg y se colocaron posteriormente en la superficie del medio de cultivo. Finalmente se presionaron ligeramente con la ayuda de pinzas para que existiera un contacto completo con la superficie del medio. Debió permitirse que las cajas de Petri permanecieran a temperatura ambiente por 30 minutos (tiempo de predifusión).

II. Se retiraron cada uno de los Sensidiscos de su contenedor con la ayuda de pinzas esterilizadas con fuego, se impregnaron con el Probiótico diluido en 100 ml/250mg y se colocaron posteriormente en la superficie del medio de cultivo. Finalmente se presionaron ligeramente con la ayuda de pinzas para que existiera un contacto completo con la superficie del medio. Debió permitirse que las cajas de Petri permanecieran a temperatura ambiente por 30 minutos (tiempo de predifusión).

III. Se retiraron cada uno de los Sensidiscos de su contenedor con la ayuda de pinzas esterilizadas con fuego, se impregnaron con el Probiótico diluido en 100 ml/500mg y se colocaron posteriormente en la superficie del medio de cultivo. Finalmente se presionaron ligeramente con la ayuda de pinzas para que existiera un contacto completo con la superficie del medio. Debió permitirse que las cajas de Petri permanecieran a temperatura ambiente por 30 minutos (tiempo de predifusión).

IV. Se retiraron cada uno de los Sensidiscos de su contenedor con la ayuda de pinzas esterilizadas con fuego, se impregnaron con el Probiótico diluido en 100 ml/750mg y se colocaron posteriormente en la superficie del medio de cultivo. Finalmente se presionaron ligeramente con la ayuda de pinzas para que existiera un contacto completo con la superficie del medio. Debió permitirse que las cajas de Petri permanecieran a temperatura ambiente por 30 minutos (tiempo de predifusión).

V. Se retiraron cada uno de los Sensidiscos de su contenedor con la ayuda de pinzas esterilizadas con fuego, se impregnaron con el Probiótico diluido en 100 ml/1000mg y se colocaron posteriormente en la superficie del medio de cultivo. Finalmente se presionaron ligeramente con la ayuda de pinzas para que existiera un contacto completo con la superficie del medio. Debió permitirse que las cajas de Petri permanecieran a temperatura ambiente por 30 minutos (tiempo de predifusión) antes de continuar con el siguiente paso.

5. Incubación

Se incubaron las cajas de Petri de 24 horas a una temperatura de 36 a 37°C.

6. Lectura de las zonas de inhibición

I. Se midió el diámetro de la zona de inhibición al final del periodo de incubación (si las placas muestran un crecimiento apropiado).

II. Se midió únicamente aquellas zonas en las que se mostró una inhibición completa y se registrará el diámetro de la zona redondeando al milímetro más cercano.

III. Se debió repetir la prueba si sólo se desarrollaban colonias individuales y si el medio de cultivo no presenta crecimiento bacteriano.

IV. La medición se realizó con Vernier digital tipo M y con Caliper.

VI.5.1 Análisis estadístico

I. Se aplicó la prueba de T Student para muestras relacionadas y Desviación Estándar, no existiendo desviación significativa de la normalidad entre los diámetros de inhibición. La significancia, se reportó con un nivel de confianza del 91% ($p=0,09$).

II. Posteriormente, se realizaron pruebas F para comparar las varianzas de los halos de inhibición entre sí, determinando el intervalo de confianza para la razón de varianzas.

III. Finalmente, se realizaron análisis de correlación lineal entre los diámetros de inhibición a cuatro concentraciones (125mg, 250mg, 500mg, 750 mg y 1000mg). Todos los datos fueron recabados en digital y procesados de la misma forma con plataforma SPSS 13.0.

VI.5.2 Consideraciones éticas

La presente investigación observó los estándares bioéticos necesarios y no vulneró ningún lineamiento establecido.

VII. Resultados

En la superficie del medio, se colocaron discos de papel de filtro (Whatman) de 6mm de diámetro, impregnados con cada una de las concentraciones indicadas (125mg, 250mg, 500mg, 750 mg y 1000mg) y agua destilada, como control negativo y se incubaron. Posteriormente, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento de los microorganismos de cada una de las concentraciones indicadas (125mg, 250mg, 500mg, 750 mg y 1000mg) y se realizó el cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio relativo (Tabla 1 y 2) respecto al control positivo (NaOCL) a las 12, 24, 48 y 72 horas, que se realizó aplicando la siguiente expresión (Martínez, 1996):

$$\% \text{efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diámetro halo de inhibición}}{\text{Diámetro halo inhibición control positivo}} \times 100$$

Tabla 1. Porcentaje Efecto Inhibitorio de *Sacharomyces Boulardii* sobre *Streptococcus Mutans* con respecto a Control Positivo (NaOCL).

<i>Streptococcus Mutans</i>	125 mg	250 mg	500 mg	750 mg	1000 mg
12 horas	0	70.58%	82.35%	76.47%	85.71%
24 horas	7.14%	64.28%	92.85%	85.71%	85.71%
48 horas	0	50%	91.66%	83.33%	83.33%
72 horas	0	45.45%	72.72%	72.72%	72.72%

Tabla 2. Porcentaje Efecto Inhibitorio de *Sacharomyces Boulardii* sobre *Candida Albicans* con respecto a Control Positivo (NaOCL).

<i>Candida Albicans</i>	125 mg	250 mg	500 mg	750 mg	1000 mg
12 horas	0	76.47%	88.23%	82.35%	76.47%
24 horas	5.88%	60%	93.33%	80%	86.66%
48 horas	0	40%	93.33%	75%	80%
72 horas	0	41.66%	83.33%	73.33%	66.66%

La presente investigación observó los estándares bioéticos necesarios y no vulneró ningún lineamiento establecido.

En las concentraciones a partir de 250mg mostraron efecto inhibitorio, las concentraciones de 125mg, sin embargo, no mostraron efecto inhibitorio considerable. Los controles positivos mostraron (NaOCL), en promedio, halos de inhibición de 12-17 mm. (Gráfico 1 y 2). La disolución de Floratil (SB) 250 mg, presenta la mayor actividad inhibitoria de *S. Mutans* y *C. Albicans* a menor concentración.

La disolución de Floratil (SB) 500 mg, presenta la mayor estabilidad dimensional inhibitoria de *S. Mutans* y *C. Albicans* durante las primeras 72 horas.

La disolución de Floratil (SB) 500 mg, presenta la actividad inhibitoria de *S. Mutans* y *C. Albicans*, más parecida al NaOCl 5%, durante las primeras 72 horas.

La disolución de Floratil (SB) 250, 500, 750 y 1000 mg, presenta estabilidad dimensional inhibitoria de *S. Mutans* y *C. Albicans*, durante las primeras 24 – 48 hrs, posteriormente decae.

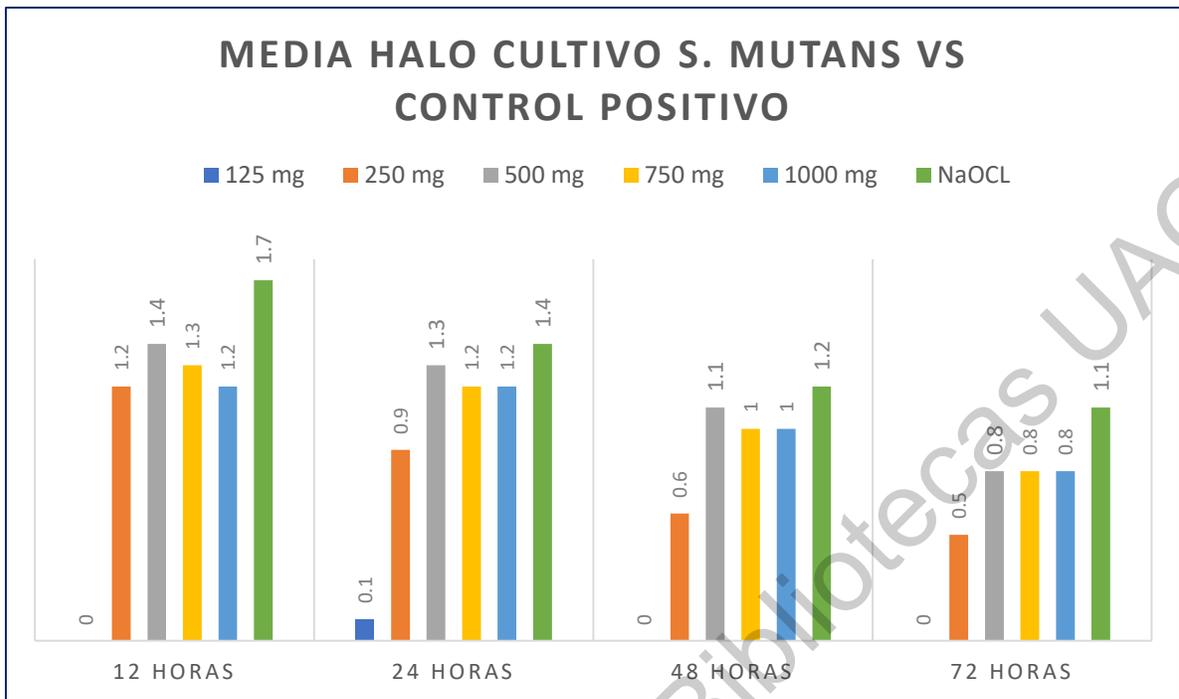


Gráfico 1

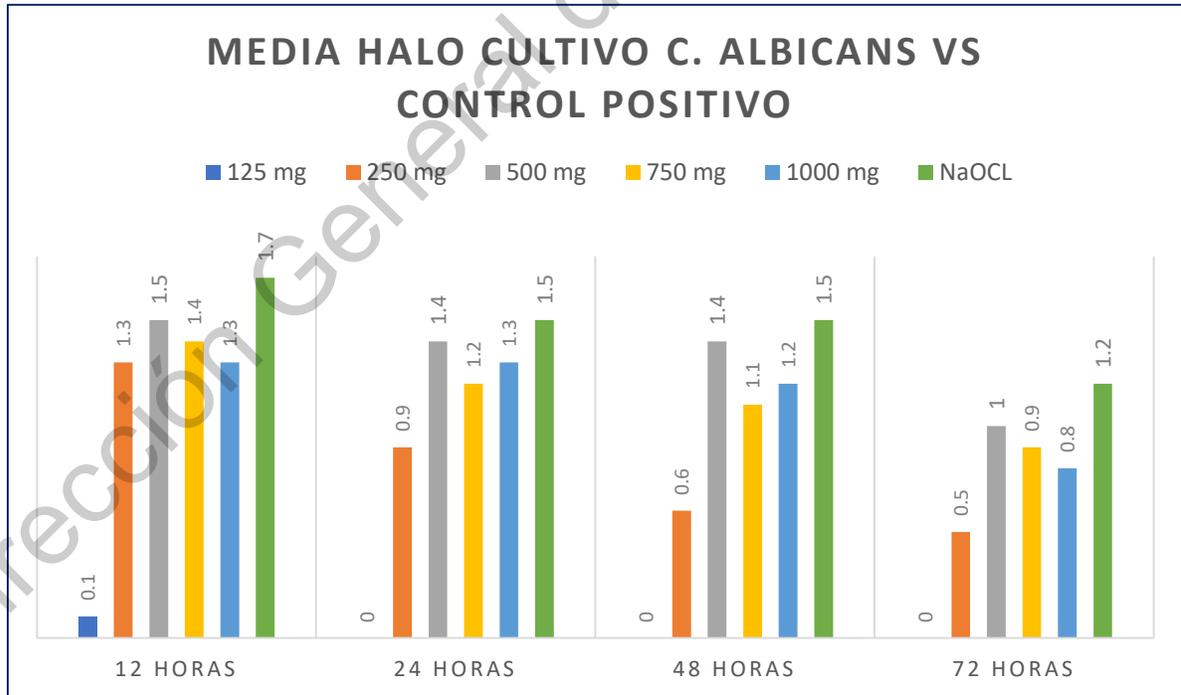


Gráfico 2

Concentración mínima inhibitoria.

La concentración mínima inhibitoria (CMI), se determinó para identificar la menor concentración que inhibe el crecimiento de las bacterias objeto de estudio, se hizo la lectura correspondiente, determinando un halo inhibitorio en ambas cepas bacterianas a partir de la concentración de 250mg, estableciendo para él presente estudio la concentración de 250mg como Dosis Mínima Inhibitoria. (Martínez et al. 2000)

En todos los casos, los disolventes no mostraron efecto inhibitorio. Los controles positivos mostraron, a la concentración más alta, (1000 mg/mL) halos de inhibición de 21 - 29 mm para el método Kirby-Bauer y de 27 – 32 mm para la concentración 500mg (tabla 1). Entre las 5 concentraciones analizados, la concentración 500mg mostró mayor actividad y estabilidad, seguido del 750mg y por último del 1000mg, en los métodos de inhibición contra *S. Mutans* y *C. Albicans* (figura 1). La mayor sensibilidad se observó en microorganismos patógenos (*S. Mutans* y *C. Albicans*) expuestos a la concentración 500mg (diámetros de inhibición de 7 - 28 mm).

Además, el microorganismo más sensible la concentración 500mg fue el *S. Mutans* (diámetros de inhibición de 11 a 25 mm durante las primeras 24 horas), mostrando una mayor respuesta al utilizarse el método modificado de pozos en agar. Por el contrario, el testigo de Agua Bidestilada mostró actividad nula en todos los microorganismos, excepto en 14 muestras, en las cuales mostró actividad muy leve (diámetros de inhibición de 2 - 4 mm). Los diámetros de inhibición al aplicar el método Kirby-Bauer fueron ligeramente menores a los del método modificado de pozos en agar para los microorganismos *S. Mutans* y *C. Albicans*).

La prueba de Turbidez McFarland determinó una disminución óptima de escala 4 (12×10^8) a 1 (3×10^8) en las primeras 12 horas.

Para análisis estadístico se aplicó la prueba de T student y Desviación Estándar obteniendo significancia estadística de $P=0.19$ con Intervalo de Confianza de 91%, finalmente, se realizaron análisis de correlación lineal entre los diámetros de inhibición a cuatro concentraciones (125mg, 250mg, 500mg, y 750 mg/100ml) comprobando una inhibición de efecto máximo en concentración de 500mg, durante tres días similar al NaOCL.

Para análisis dimensional se realizó a través de correlación entre los diámetros de inhibición a las cuatro concentraciones (125mg, 250mg, 500mg, y 750 mg/100ml) obteniendo una estabilidad muy similar en concentración de 500mg con respecto al NaOCL, durante los tres primeros días.

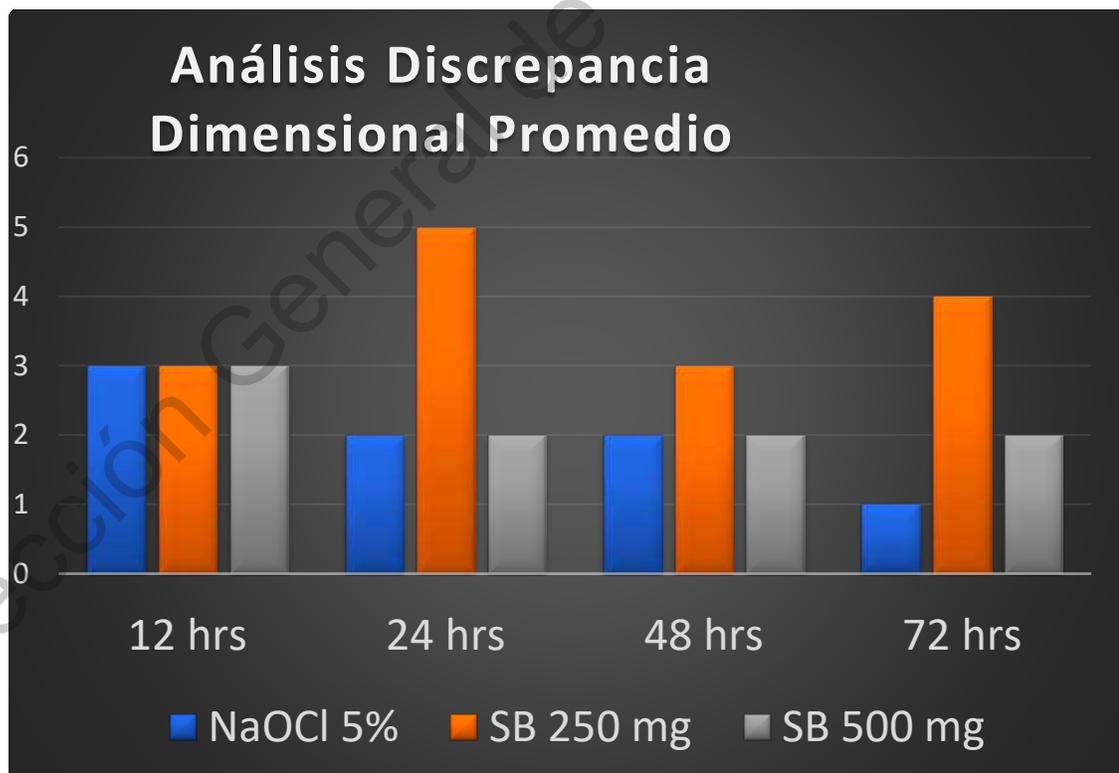


Gráfico 3, Análisis Discrepancia Dimensional Promedio

VIII. Discusión

Actualmente la terapia de reemplazo con Probióticos, Prebióticos y Simbióticos es una alternativa en la prevención de caries dental, sin embargo, la información no se encuentra integrada con las levaduras del tipo *Sacharomyces*.

La actividad proliferativa de los *Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*, es incontrolable a menos que exista antagonismo directo con otros organismos. *Sacharomyces Boulardii* en este caso, mostró su capacidad para inhibir cepas patógenas nativas.

En general, la terapia de reemplazo emplea una cepa efectora cuidadosamente construida que proporciona una serie de ventajas sobre las estrategias convencionales de prevención y las vacunas orales. Para la prevención de la caries dental, un único régimen de colonización que conduzca a la colonización persistente de una cepa efectora debe proporcionar protección a lo largo de toda la vida. En el caso de que la cepa efectora no persista indefinidamente en algunos sujetos, la reapiación puede hacerse cuando surge la necesidad sin ninguna preocupación adicional significativa.

Una de las mayores ventajas de la terapia de reemplazo propuesta para *Sacharomyces Boulardii*, es que no hay cuidados adicionales en prevención de caries dental y enfermedad periodontal por parte del paciente, aunque las medidas de higiene bucal para prevenir las enfermedades periodontales seguirán siendo necesarias. Si finalmente es exitoso, el uso de la ingeniería genética para adaptar una cepa efectora para la terapia de reemplazo para la caries dental, se estimularán los esfuerzos para prevenir otras enfermedades infecciosas también.

La ventaja del *S. Boulardii*, es que posee características que lo vuelven un elemento ideal para el uso en infantes, incluso desde el nacimiento:

- No prolifera a un grado sistémico
- Es competidor naturalmente contra *Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*, por el nicho biológico y recursos para la supervivencia.
- Aún en condiciones favorables para los patógenos, la levadura *S. Boulardii*, tiene la capacidad de desarrollarse y expresar su capacidad inhibitoria.
- En dosificaciones que contienen una mayor población de *S. Boulardii*, la colonia se autoregula manteniendo el número de UFC después de 12 horas (comprobado con prueba de turbidez de McFarland).
- No existe evidencia que el *S. Boulardii*, sea un potencial patógeno, por lo cual se le podría considerar como el método microbiológico ideal en pacientes pediátricos, aún desde el nacimiento, formando un proceso simbiótico con el Huésped.

Los resultados demuestran los posibles efectos benéficos en pacientes pediátricos, brindando un añadido directo a la *prevención y tratamiento* de caries y lesiones fúngicas, incluso desde el nacimiento, utilizando como vehículo Floratil, fórmulas lácteas y colutorios, o sus adaptaciones a Terapias de Shock en Odontopediatría.

IX. Conclusiones

Los datos obtenidos proyectan un resultado favorable por el uso directo en cavidad oral de cualquier paciente, *Sacharomyces Boulardii* en este estudio, mostró su capacidad para inhibir cepas patógenas nativas (*Streptococcus mutans* y *Candida Albicans*), responsables de las afectaciones más comunes en la cavidad oral pediátrica.

Los resultados demuestran los posibles efectos benéficos en pacientes pediátricos, brindando un añadido directo a la *prevención y tratamiento* de caries y lesiones fúngicas, incluso desde el nacimiento, en Terapia de Reemplazo, utilizando como vehículo Floratil, fórmulas lácteas y colutorios, o sus adaptaciones a Terapias de Shock en Odontopediatría.

X. Propuestas

Se propone iniciar con dos tratamientos diferentes orientados a cubrir los aspectos básicos de atención pediátrica, Antes y Después de la formación de lesiones orales (Caries y Candidiasis).

- Terapia de Shock. Pacientes Pediátricos. (500mg/72h/1mes)

Uso de colutorio de 500mg de *S. Boulardii*, dos veces por semana (cada 72 horas) por un mes, cada 2 meses (coincidiendo con las aplicaciones en consultorio).

Visita cada dos meses para aplicación alternada de Barniz de Gluconato de Clorhexidina y Barniz de Fluoruro, alternados.

- Terapia de Reemplazo, Px. durante 1er año de vida. (500mg/72h/6 meses)

Aplicación con gasa húmeda en solución de 500mg de *S. Boulardii* (durante la higiene de rodets gingivales y dientes), dos veces por semana (cada 72 horas) por los primeros 12 meses de vida. Posteriormente reincorporaciones cada 6 meses utilizando el colutorio de 500mg de *S. Boulardii*.

XI. Bibliografía

- Anuradha & Rajeshwari. (2005). Probiotics in health and disease, World J Gastroenterol (1), 67–72.
- Aritile, R. (2005). Bacteriotherapy and probiotics ' role on oral health, Br J Nutr. 131–137.
- Cagetti, M. G., Mastroberardino, S., Milia, E., & Cocco, F. (2013). The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review, Science. 2530–2550.
- Deshmukh, M. A., Dodamani, A. S., & Karibasappa, G. (2017). Comparative Evaluation of the Efficacy of Probiotic , Herbal and chlorhexidine mouthwash on gingival health : a randomized clinical trial. Lancet (1) 3–16
- Gruner, D., Paris, S., & Schwendicke, F. (2016). Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic Review and Meta-Analysis. JOD 4-14.
- Health, H. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health , Brit J Nutr. 24-31 .
- Hoare, A., Marsh, P. D., Diaz, P. I., & Since, D. (2017). Ecological therapeutic opportunities for oral diseases, . J Allergy Clin Immunol 5.
- K, M. S., & M, A. P. (2010). Effect of Probiotics on Periodontal Conditions, JOD 136–139.
- Kolenbrander, P. E., Jr, R. J. P., Periasamy, S., & Jakubovics, N. S. (2010). Oral multispecies biofilm development. Nature Publishing Group, 8(7), 471–

Kuramitsu, H. K., He, X., Lux, R., Anderson, M. H., & Shi, W. (2007).

Interspecies interactions within oral microbial communities, *Aliment Pharmacol Ther* 71(4), 653–670.

Loesche, W. J., Rowan, J., Straffon, L. H., & Loos, P. J. (1975). Association of streptococcus mutans with human dental decay, *Int J Food Microbiol* 11(6), 1252–1260.

Paper, O. (2014). Oral administration of lactobacillus reuteri during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age, Boston: Academic Press 111–117.

Parvez, S., Malik, K. A., Kang, S. A., & Kim, H. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health, *Aliment Pharmacol Ther* 100, 1171–1185.

Probi, L. A., & Herediana, R. E. (2008). Probióticos : Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental , *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* (1), 65–68.

Romani Vestman , Timby , Lif Holgerson , Kressier , Claesson , Domellof ,(2013) . Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. *Int J Food Microbiol* 47-53.

Selecto, T., Vargas, M. A., & Hern, I. S. (2012). "Comparación del efecto antibiótico entre probióticos, ampicilina, amoxicilina y amoxicilina con ácido clavulánico" , *Dig Dis* 15-36.

Simonetti Lodi C, Mauricio Manarelli M, Takebayashi Sasaki K, Calixto Fraiz F, Botazzo Delbem AC, Rodrigues Martinhon C (2009) Aplicaciones clínicas del

empleo de probióticos en pediatría Boston: Academic Press (5):787-96

Terai, T., Okumura, T., Imai, S., Nakao, M., & Yamaji, K. (2015). Screening of probiotic candidates in human oral bacteria for the prevention of dental disease, *Amer J Clin Nutr* 1–20.

Zahradnik, R. T., Magnusson, I., Walker, C., Mcdonell, E., Hillman, C. H., & Hillman, J. D. (2009). Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora 3 TM , a probiotic mouthwash, . *Amer J Gastroentology Sup . (107)*, 682–690.

Dirección General de Bibliotecas UJAQ

XII. Anexos

XII.1 Hoja de recolección de datos

SERIE C-I Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS
SERIE C-II Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS
SERIE C-III Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS

Agrupación promedio de datos de las Series CI, CII y CIII del cultivo de *C. Albicans*.
(Total 60 muestras)

SERIE C-I Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS
SERIE C-II Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS
SERIE C-III Promedio D Agrupados					
NaOCl	Agua Bides	SB 250 mg	SB 500 mg	SB 750 mg	
.4 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 cm	0 HORAS
1.7 cm	0 cm	1.2 cm	1.4 cm	1.3 cm	12 HORAS
1.4 cm	.1 cm	.9 cm	1.3 cm	1.2 cm	24 HORAS
1.2 cm	0 cm	.6 cm	1.2 cm	1.0 cm	48 HORAS
1.1 cm	0 cm	.5 cm	.8 cm	.8 cm	72 HORAS

Agrupación promedio de datos de las Series CI, CII y CIII del cultivo de *S. Mutans*.
(Total 60 muestras)



Elaboración del medio de cultivo selectivo TYS20B y posterior colocación en cajas de Petri para su inoculación (sembrado) por estrías.



Inoculación de Cepa ATCC 25175 *E. Mutans*



Laboratorio de Materiales , salón 3, Facultad de Ingeniería, Departamento de Posgrado en Nanotecnología UAQ. Zona de elaboración y almacenaje de Insumos.

Productos Químicos del Sur S.A. de C.V.
 Equipos, reactivos y material para laboratorio
www.proquisur.com.mx
 Tel. 25949322 \ 25949150 Correo: ventas@proquisur.com.mx
 MEXICO DF. A 21 AGOSTO 2018

COTIZACIÓN
8855

ATENCIÓN Luis Guillermo Monreal
 POR ESTE CONDUCTO PONEMOS A SU AMABLE CONSIDERACIÓN NUESTRA SIGUIENTE COTIZACIÓN

Pda.	Cant.	Catalogo	Descripción	Precio Unitario	Precio Total
1	1	210800 	AGAR SOYA TRIPTICASEINA 450 gramos Marca: BD BIOXON TIEMPO DE ENTREGA: 8 DIAS	\$1,250.00	\$1,250.00
				SUBTOTAL	\$1,250.00
				IVA 16%	\$ 200.00
				ENVIO	\$ 300.00
				TOTAL	\$1,750.00

Precios en Moneda Nacional.
LAB MEXICO, D.F. (FLETE SIN COSTO PARA UD.)
 Todos nuestros equipos cuentan con un año de garantía, contra defectos de fabricación
TIEMPO DE ENTREGA: marcado en cada partida, a partir de recibir su orden de compra y anticipo de 50%

* ESTA COTIZACIÓN TIENE UNA VIGENCIA DE 20 DIAS
 *MONTO MINIMO DE FACTURACION ES DE \$1,000.00 + IVA

Adquisición del Cultivo Tripticasa Soya Agar



Selección de Muestras de CEPA ATCC
25175 *E. Mutans*



Bacitracina en polvo, Muestra
proporcionada por la LOEO Alicia
Díaz Magdaleno



SACHETS O SOBRES DE GRANULADO
DE 250 MG DE S BOULARDII