

C.D. NANCY YATZIRI LÓPEZ RUIZ

COMPARACIÓN DE TRES ENJUAGUE BUCALES PEDIÁTRICOS EN LA
GENERACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN EN CEPAS DE *STREPTOCOCCUS*
MUTANS

2023



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

“Comparación de tres enjuagues bucales pediátricos
en la generación de halos de inhibición en cepas de
Streptococcus mutans.”

Tesis

Que como parte de los requisitos
para obtener el Diploma de la

ESPECIALIDAD EN ODONTOPEDIATRIA

Presenta:

Dirigido por:

Querétaro, Qro. a septiembre 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Comparación de tres enjuagues bucales pediátricos
en la generación de halos de inhibición en cepas de
Streptococcus mutans.

por

Nancy Yatziri López Ruiz

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](#).

Clave RI: MEESC-293330



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad de Odontopediatría

“Comparación de tres enjuagues bucales pediátricos
en la generación de halos de inhibición en cepas de
Streptococcus mutans.”

Tesis

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

Presenta:

Dirigido por:

Presidente

Secretario

Vocal

Suplente

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Septiembre
2023México

Resumen

Introducción:

Objetivo: Determinar que enjuague bucal pediátrico es el que genera mayores halos de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* Fluoxytil, Colgate Plax Kids o dental kids.

Material y métodos: Se llevo a cabo un estudio in vitro usando la prueba de difusión en disco en el cual se utilizaron 10 cajas Petri las cuales contenían cepas de *Streptococcus mutans*, a las cuales se le colocaron discos, con enjuague bucal Fluoxytil, Colgate Plax Kids, dental kids y el control positivo (clorhexidina al 2%) así como negativo (Agua estéril), se incubaron por 24 horas a una temperatura constante de 37°, posteriormente se midieron los halos de inhibición generados por cada solución con ayuda del programa imagen J.

Resultados: El control positivo genero los halos de inhibición con mayor diámetro seguido por el enjuague bucal Colgate Plax Kids y por último el enjuague bucal dental kids. El enjuague bucal fluoxityl al igual que el control negativo no genero halos de inhibición. Se realizo la prueba estadística de Anova y los resultados obtenidos fueron estadísticamente significativos.

Conclusiones: Los resultados que se obtuvieron en este estudio coinciden con algunas investigaciones similares realizadas anteriormente. Los enjuagues que contenían como ingrediente principal el cloruro de cetilpiridinio generaron halos de inhibición a diferencia del enjuague que contenía xilitol en su fórmula el cual no genero halos de inhibición. Se podrían realizar otros estudios *in-vitro* para apoyar los resultados obtenidos.

Palabras clave: Enjuagues bucales, *S. mutans*, Placa dentobacteriana.

Summary

Objective: Determine which pediatric mouthwash is the one that generates greater inhibition halos on strains of *Streptococcus mutans* Fluoxityl, Colgate Plax Kids or dental kids.

Materials and methods: An in vitro study was carried out using the agar diffusion test in which 10 Petri dishes containing strains of *Streptococcus mutans* were used, to which disks were placed, with Fluoxityl mouthwash, Colgate Plax Kids, dental kids and the positive control (2% chlorhexidine) as well as the negative (sterile water), were incubated for 24 hours at a constant temperature of 37°, then the inhibition halos generated by each solution were measured with the help of the J image program.

Results: The positive control generated the inhibition halos with the largest diameter followed by Colgate Plax Kids mouthwash and finally dental kids mouthwash. Fluoxityl mouthwash, like the negative control, did not generate inhibition halos. We performed the Anova statistical test and the results were statistically significant.

Conclusions: The results obtained in this study coincide with some investigations carried out. The rinses that contained cetylpyridinium chloride as the main ingredient generated inhibition halos, unlike the rinse that contained xylitol in its formula, which did not generate inhibition halos. Other in-vitro studies could be performed to support the results obtained.

Key words: Mouth rinse, *S. mutans*, biofilm.

Dedicatorias

Le dedico el resultado de este trabajo se lo dedico a mis padres Antonio y Teresa que ambos han estado ahí para apoyarme en cada decisión que he tomado, brindarme todo su amor y estar apoyándome en los malos y buenos momentos.

A mis hermanas; Wendy por estar conmigo a la distancia y a Itzel por ser mi compañera y mejor amiga todos estos años, además de crecer junto a mí. A mi sobrina, mi Vane por su amor incondicional y por siempre sacarme una sonrisa.

A Omar porque a pesar de las dificultades hemos estado juntos en este camino y he obtenido su apoyo en esta fase de mi vida.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi directora de tesis C.D.E.O. Ana Liz Yáñez Gutiérrez por los conocimientos, la paciencia, la dedicación y el apoyo que me dio en la realización de esta tesis, así como en clases.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro; y a todos sus docentes que a pesar de la pandemia y los momentos difíciles por los cuales se estaban pasando, me aportaron todos sus conocimientos, así como sus consejos, para que yo pudiera aplicarlos y mejorar en mi práctica profesional.

A mis compañeros; y en especial a aquellos que se convirtieron en mis amigos que me apoyaron en este camino, y a los buenos momentos, recuerdos y enseñanzas que me llevo de cada uno de ellos.

Índice

Contenido	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
III. Fundamentación teórica	5
Placa dentobacteriana	5
<i>S. mutans</i>	6
Enjuagues bucales	7
Fluoruro de sodio	9
Xilitol	9
Cloruro de cetilpiridinio	10
Prueba de difusión en disco	11
IV. Hipótesis	13
V. Objetivos	14
V.1 General	14
V.2 Específicos	14
VI. Material y métodos	15
VI.1 Tipo de investigación	15
VI.2 Población o unidad de análisis	15
VI.3 Muestra y tipo de muestra	15
VI.3.1 Criterios de selección	15
VI.3.2 Variables estudiadas	17
VI. Técnicas e instrumentos	19
VI. Procedimientos	19

VII. Resultados	25
VIII. Discusión	27
IX. Conclusiones	31
X. Propuestas	32
XI. Bibliografía	33

I. Introducción

La caries a nivel mundial es predominante y presenta parámetros incongruentes: mientras que en los países industrializados se ha disminuido considerablemente gracias a programas de control y prevención idóneos, (Haugejorden 1997) en países como México el 99% de los adultos y el 95% de los niños de menos de 8 años presentan lesiones cariosas (Frechero et al. 2004).

La alta prevalencia de caries entre los niños de México se debe a múltiples factores, entre los cuales se ha mencionado el alto consumo de golosinas y alimentos chatarra, respaldado por una desmedida comercialización y publicidad; se debe agregar la falta de conocimientos de la sociedad sobre los daños que causa a la salud dental el consumo de golosinas entre comidas, lo cual es comúnmente ignorado por padres y maestros (Pérez-Salgado et al. 2010). Un estudio realizado en 1993 nos muestra que la dentición temporal es más susceptible a la caries dental que la dentición permanente en un porcentaje del 13%. No se sabe si esto se debe a la diferencia en la estructura del esmalte o es secundario a la edad del niño, o si sus cuidados no son adecuados y si la supervisión de un adulto es inapropiada. Sin embargo, la desigualdad entre la existencia de caries dental y el número de superficies desmineralizadas y obturadas entre la dentición permanente y decidua depende de muchos factores (Hicks et al. 1993).

Es una importante prioridad la prevención de caries dental en adolescentes y niños para los servicios dentales debido a que se considera más económica esta medida que el tratamiento que se debe llevar a cabo. (Burt 1998).

La caries dental es una enfermedad infecciosa oral dependiente de la placa dental (Kuramitsu 1993). La caries dental es el resultado de la interrelación de parte de algunas bacterias específicas con ciertos elementos de la dieta dentro de una biopelícula constituida en las superficies de los dientes conocida como placa dentobacteriana (WilliamH Bowen 2002).

Las cepas de *Streptococcus* son el grupo primordial de microorganismos que participan en el proceso de caries. *S. mutans* es uno de los principales patógenos cariogénicos, que metaboliza los carbohidratos fermentables y sintetiza una matriz de polisacárido extracelular que permite una adherencia sólida de los microorganismos a las superficies del diente y nos lleva a la descalcificación de la estructura del diente (Koo et al. 2010; Flemming and Wingender 2010).

Recientemente, la finalidad de las investigaciones no solo es detectar *S. mutans* en el biofilm y la saliva, asimismo cuantificar este microorganismo. Estudios diversos han demostrado la presencia de paralelismo entre la alta presencia de este microorganismo en la cavidad bucal con la prevalencia y aparición de lesiones cariosas. (Macpherson et al. 1992).

La eliminación de la placa dental que contiene patógenos cariogénicos se considera indispensable para prevenir y manejar la caries. El control diario de la placa es definitivamente lo más importante para la prevención de caries (Axelsson et al. 2004). Las recomendaciones para mantener la higiene bucal diaria incluyen el cepillado dental y el tratamiento interdental (Choo et al 2001; Claydon 2008). El cepillado dental diario es el método más usado para el control de la placa dental. Se logra este objetivo interrumpiendo físicamente el desarrollo de la placa y manteniéndola en un estado inmaduro. Sin embargo, la eficacia de este método a menudo se ve comprometido por la presencia de áreas de difícil acceso, así como por la falta de habilidades, la poca motivación y el poco cumplimiento de esta (Wu and Savitt 2002). Agregar agentes quimioterapéuticos al régimen mecánico puede ayudar a controlar la placa y la gingivitis (O'Leary 1970). El uso de enjuagues bucales antimicrobianos como complemento de los regímenes de higiene oral mecánica se considera un medio valioso para mejorar el control de la placa. (Addy et al. 2010; Costa et al. 2013).

II. Antecedentes

Ardakani et al. (2014) Compararon la actividad antibacteriana de tres sustancias; enjuague de clorhexidina al 0.2%, enjuague bucal de té verde y extracto de té verde contra cinco microorganismos: *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguis*, *Pseudomonas aerogenosa* y *Enterococcus faecalis*. En esta investigación se usó el método de difusión en disco, en el cual se midieron las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano de cada sustancia usada y por último se compararon los resultados. El enjuague bucal de té verde fue el menos eficaz de todas las sustancias comparadas, mientras que el extracto puro de té verde y la clorhexidina al 0.2 % tuvieron resultados similares.

Ardizzoni et al. (2018) Evaluaron los efectos de ocho enjuagues bucales comerciales sin alcohol, que contenían una composición diferente; cuatro contenían digluconato de clorhexidina, uno fluoruro, uno con aceites esenciales, uno con cloruro de cetilpiridinio y por último uno que contenía triclosán, sobre colonias de *C. albicans*, *Enterococcus faecalis* y un grupo de *Streptococcus viridans*.

Se llegó a la conclusión que los enjuagues bucales que contenían digluconato de clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio fueron los más efectivos para disminuir la capacidad de *C. albicans* de adherirse a organismos y superficies biológicas, y estos mismos enjuagues bucales previenen eficazmente la formación de biopelículas de *Streptococcus viridans* que, notoriamente, cooperan con los cariogénicos *S. mutans*.

Arunakul et al. (2011) Se compararon los niveles de UFC de *S. mutans* en saliva de ochenta niños sanos en un rango de 8 a 9 años con altos niveles de UFC de *S. mutans*. Se dividieron a los pacientes en grupos, el primero usó agua destilada sirviendo como control, y los otros tres grupos restantes usaron fluoruro de sodio al 0.05 %, xilitol al 12.5 % y por último fluoruro de sodio al 0.05 % + xilitol al 12.5 %. Los sujetos realizaron enjuagues por un minuto tres veces al día durante 10

semanas. Se recolectaron muestras de saliva de cada sujeto estimulada al inicio de este estudio, cinco semanas y diez semanas después de realizar enjuague con cada sustancia, para determinar el nivel de *S. mutans* salival mediante un cultivo en agar Mitis Salivarius Bacitracin.

Al último se compararon el nivel de UFC y se observaron disminuciones en el recuento de *S. mutans* fluoruro de sodio al 0.05 % + xilitol al 12.5 % sobre otros grupos dentro de las cinco semanas y después de diez semanas y el xilitol al 12.5% tuvo una reducción después de diez semanas en comparación al valor inicial.

III Fundamentación teórica

Placa dentobacteriana

La placa dentobacteriana es una capa microbiológica y bioquímicamente heterogénea que se forma en presencia de sacarosa en la cavidad oral, como una densa masa que se encuentra en las superficies de los dientes y es la causa principal de la caries, gingivitis, y la periodontitis crónica (Tanner et al. 1998; Valm 2019) También presenta un efecto degradador de glicoproteínas en la microbiota oral además tiene una actividad hidrolítica en consecuencia es más afín a los azúcares (Jong and Hoeven 1987). Una de las comunidades microbianas más complejas del cuerpo humano es el biofilm oral. Se estima que más de 700 especies contribuyen a la formación de la placa dental. (Socransky et al. 1998).

La placa dental tiene mayor patogenicidad cuando está presente durante un período más amplio en la superficie del diente (placa madurada) (Kolenbrander et al. 2010). Por lo tanto, la prevención de enfermedades orales se basa en la eliminación frecuente de placa (Per Axelsson and Lindhe 1978). Se consideran fundamentales a los microorganismos orales para el inicio y la progresión de la caries dental (R. J. Berkowitz 2006).

La cavidad oral es un ambiente húmedo, con una temperatura constante (34 a 36°C), con un pH neutro en la mayoría de las superficies, que favorece a el crecimiento de una amplia variedad de especies (Marcotte and Lavoie 1998).

Unas pocas horas después del nacimiento, las bacterias comienzan a colonizar la cavidad oral. La flora oral del ser humano es muy compleja y presenta una gran diversidad, está conformada por más de 300 especies de bacterias estables, incluyendo género protozoos, levaduras, micoplasmas, virus y bacterias. Difiere en cada área, como en las diferentes superficies de los dientes y en la lengua, también es diferente entre cada persona. Ocho horas después de nacer y entrar en contacto por primera vez con la madre el recién nacido aumenta rápida y considerablemente el número de microorganismos (Söderling et al. 2001).

A la finalización del primer año podemos encontrar en toda la boca microorganismos como son: los estafilococos, estreptococos, veillonella, los cuales son muy específicos. En la niñez se encuentra que las especies que son dominantes son microorganismos facultativos. Cuando comienza la erupción dental se comienzan a incorporar varios anaerobios, y propicia la aparición de nuevas condiciones microbianas favorables y localizables. Durante la niñez las bacterias comienzan a aumentar y en la última etapa de la niñez son muy similares a las del adulto (Weijden and Velden 1991; Clancy et al. 2000).

Se presenta un cambio del pH inducido por los cambios generados debido a la interacción de los lactobacilos, y a especies que generan ácidos como el grupo de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) y *Streptococcus grupo mitis* (*sanguis*, *gordonii* y *oralis*). La desmineralización dental es el resultado de estos microorganismos que son capaces de producir grandes cantidades de ácidos, en un Ph bajo esto se debe a la presencia en grandes cantidades de sucrosa, el cual se considera el carbohidrato más cariogénico (De Soet et al. 2000).

S. mutans es un colaborador clave para la formación de biopelículas asociadas con la enfermedad de caries dental, aunque también están involucrados otros microorganismos (Beighton 2005); *S. mutans* usa eficientemente sacarosa dietética (y posiblemente almidón) para sintetizar velozmente exopolisacáridos (EPS) usando glucosiltransferasas y una fructosiltransferasa que se adsorbe a las superficies, se adhiere tenazmente a las superficies recubiertas de glucano, y es acidogénico y tolerante a los ácidos.

S. mutans

Los microorganismos orales son cruciales para que inicie y progrese la caries dental. Entre los diversos microorganismos que se han estudiado *S. mutans* ha sido considerado como uno de los organismos que generan caries que presenta mayor virulencia (Berkowitz 2006).

En el año de 1924, Clarke identifico y logro aislar a partir de lesiones cariosas un coco gram positivo que se presentaba en forma de cocobacilo (ovalado) en un medio con un pH bajo y en forma de coco (redondo) en un medio con pH alto debido a esta variación en su forma lo llamo *S. mutans*. (Loesche 1986). Fue a finales de la década de 1950 cuando *S. mutans* captó la atención de la comunidad científica y, a mediados de la década de 1960, los estudios clínicos y de laboratorio identificaron al *S. mutans* como un agente etiológico importante en la caries dental (Loesche 1986).

El potencial cariogénico del *S. mutans* es debido a tres cualidades centrales: la capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa que ayudan en la colonización permanente de superficies duras y en el desarrollo de la matriz polimérica extracelular *in situ*, la capacidad de transportar y metabolizar una amplia gama de carbohidratos en ácidos orgánicos, y su capacidad de sobrevivir en condiciones de estrés ambiental, particularmente en un pH bajo. (Lemos et al. 2008).

Enjuagues bucales

Los primeros informes del uso de soluciones como enjuagues bucales están relacionados con la medicina india y china. En la antigua Grecia, se documentó que Hipócrates recomendó una mezcla de sal, alumbre y vinagre (Stuart 1997).

Años después, las cosas cambiaron cuando Anton van Leeuwenhoek descubrió bacterias vivas en sus dientes. Encontró que los organismos eran viables y que perdían su viabilidad cuando se exponían al brandy. Luego concluyó que el alcohol tiene la capacidad de inactivar un organismo viable (Keoke et al. 2009). En la década de 1880, Willoughby D. Miller (odontólogo capacitado en microbiología) fue el primero en proponer el uso de un enjuague bucal antimicrobiano que contenía compuestos fenólicos para combatir la gingivitis (Jackson 1997). La era moderna del enjuague bucal comenzó con la introducción de Listerine en 1914 como

un remedio de venta libre para el mal aliento (Zyl et al.2010). El siguiente avance ocurrió en la década de 1960, Harald Løe demostró que un compuesto a base de clorhexidina podía prevenir la acumulación de placa dentobacteriana. (Lang et al. 1972).

Los enjuagues bucales son soluciones utilizadas para eliminar o destruir las bacterias bucales que actúan como astringente y tienen un efecto terapéutico al prevenir o aliviar las enfermedades bucales, principalmente la caries dental, la gingivitis y la periodontitis. Sin embargo, estos beneficios terapéuticos relativos no han sido claramente definidos (Akande et al. 2010). Actualmente se recomienda que se usen una vez al día, preferiblemente después del cepillado nocturno, y su uso en niños debe ser a partir de los 6 años ya que a partir de esta edad los niños saben enjuagarse la boca sin tragar la solución (Zero 2006).

En las últimas décadas, el uso de enjuagues bucales se ha vuelto más común, generalmente después del control mecánico del biofilm. Los enjuagues bucales son un vehículo ideal para agregar productos químicos y son valorados por el público por su facilidad de uso, además de su capacidad para la reducción de la biopelícula y sus efectos refrescantes del aliento (Cummins et al. 1992; Moran 1997; Serra 2016).

En general, los antisépticos orales no tienen una composición compleja (sales de flúor, cloruro de cetilpiridinio [CPC], triclosán y xilitol) (Gómez Capurro et al. 2001; Uzer Celik et al. 2016). La actividad antimicrobiana de cada enjuague bucal varía principalmente debido al ingrediente activo presente y la presencia o ausencia de flúor (Zero 2006a).

El fluoruro de sodio, el cloruro de cetipiridinio, el triclosán, la clorhexidina, el timol y el xilitol son los componentes activos más comunes de los enjuagues bucales porque tienen un efecto cariostático sobre las biopelículas dentales (Zero 2006; Osso et al. 2013). Los estudios clínicos han demostrado que los enjuagues

bucales con fluoruro y clorhexidina pueden reducir eficazmente la infección por *S. mutans* (Subramaniam et al. 2011) Algunos de los efectos secundarios de la clorhexidina incluyen decoloración de los dientes, alteración del gusto y descamación de la mucosa (Ghapanchi et al. 2015).

Fluoruro de sodio.

Una de las piezas centrales en las estrategias para prevenir la caries ha sido el tratamiento con fluoruro, este va desde la introducción de los esquemas de fluoración del agua el cual está presente desde hace más de cinco décadas (Murray 1976).

El fluoruro es ampliamente usado debido a que se considera un agente anticaries. Los productos que contienen fluoruro, como el agua fluorada, el enjuague bucal, la pasta dental, juegan un papel importante en la prevención de las caries (Horowitz and Maas 2003). Reduce la solubilidad del esmalte y promueve su remineralización como un mecanismo potencial para el efecto anticaries del flúor. Hallazgos previos sugieren que el fluoruro inhibe a *S. la hidroxiapatita mutans emerge* (Cate 1999; Pandit et al. 2013) y también inhibe la formación de ácidos, la resistencia a los ácidos y la producción de glicosiltransferasa en las biopelículas de *S. mutans* (Bowen and Hewitt 1974).

Es importante señalar que el fluoruro tiene su efecto anticaries principalmente en el esmalte, además presenta un sutil pero importante efecto antimicrobiano sutil.

Aunque el fluoruro no altera directamente la composición de la comunidad microbiana, ayuda a mantener la homeostasis microbiana de la placa al estabilizarse bajo condiciones cambiantes de azúcar y pH (Trahan 1995).

Xilitol

El xilitol es un alcohol de azúcar de cinco carbonos ($C_5H_{12}O_5$), que es utilizado frecuentemente como edulcorante en gomas de mascar, enjuague bucal y

pasta de dientes, además, lo podemos encontrar naturalmente en frutas y verduras (ciruelas, fresas, coliflor y calabaza) (Rehman et al. 2015).

El xilitol es mejor conocido por sus beneficios dentales, como la reducción del riesgo de caries dental. (Janakiram et al. 2017). Este es un sustituto natural del azúcar que no es cariogénico debido a que este no lo pueden metabolizar las bacterias orales (Scand 1975). El xilitol inhibe el crecimiento y el metabolismo de *S. mutans*. Por lo tanto, el recuento de este en la cavidad bucal puede disminuir (Köhler 2007).

El mecanismo de acción del xilitol descrito en estudios previos nos muestran que no solo la fermentación de la mayoría de microorganismos en la placa dentobacteriana es ineficaz sino que la placa no se descompone significativamente en productos finales ácidos, además que se estimula a la producción salival y aumenta su capacidad buffer, evita la acumulación de placa así como a las bacterias que producen la caries, además de inhibir la desmineralización nos ayuda promover la remineralización de esmalte; (Jannesson et al 1997; Amaechi et al. 1998; Mäkinen et al. 2001; Campus et al 2003).

La combinación de fluoruro con xilitol ha demostrado que inhibe el crecimiento y la producción de ácidos provenientes de los microorganismos cariogénicos en estudios *in vitro* (Hayes 2001).

Cloruro de cetilpiridinio

Los compuestos de amonio cuaternario como el cloruro de cetilpiridinio (CPC) se han utilizado durante mucho tiempo como agentes antimicrobianos de amplio espectro contra las bacterias bucales (Rustogi et al. 1990). A su vez es

bactericida y bacteriostático y mata rápidamente las bacterias grampositivas (Haps et al. 2008). También tiene efectos antivirales sustanciales contra ciertos virus (Rustogi et al. 1990) y fueron uno de los tres únicos sistemas antimicrobianos clasificados como seguros y eficaces en el tratamiento contra la gingivitis causada por placa cuando su fórmula está en el rango de concentración de 0.05-0.10%.

Se ha demostrado que el CPC es eficaz para reducir el biofilm dental supragingival y subgingival, lo que también reduce la respuesta inflamatoria (Garcia-Godoy et al. 1990; White et al. 2008).

El cloruro de cetilpiridinio tiene un gran potencial tanto para la actividad antibacteriana como por la ausencia de efectos secundarios graves, y se adsorbe fácilmente en las superficies orales, pero su contenido es limitado (Bermejo 2016; Vílchez 2017). El cloruro de cetilpiridinio es una molécula cargada positivamente que se une a bacterias cargadas negativamente y puede ejercer su actividad antimicrobiana a través de varios mecanismos (Ramalingam et al. 2012). Primero, degrada la bicapa lipídica de la célula, lo que interrumpe la regulación de la permeabilidad de la membrana y conduce a la fuga del contenido celular (Gjerme et al.), por lo tanto, el uso de productos que contienen cloruro de cetilpiridinio para limitar la formación de biopelículas y la adhesión bacteriana en las superficies dentales puede ayudar a prevenir enfermedades orales como gingivitis, periodontitis y caries dental (Ramalingam et al. 2012).

Prueba de difusión en disco.

Para establecer la susceptibilidad de distintas bacteria y hongos ante agentes antimicrobianos *in vitro* se pueden usar distintos métodos de laboratorio, estos suelen ser diferentes en sus principios y en la sensibilidad que pueden presentar haciendo que los resultados puedan variar dependiendo del método que fue seleccionado los microorganismos que se usaran y que tan solubles son los compuestos. Han sido varios los autores que han debatido los problemas

comunes inherentes a los ensayos antimicrobianos, de allí la importancia de conocer los criterios para estas pruebas de actividad biológica (Vanden Berghe 1991; Cole 1994).

Este método es una buena elección debido a que presenta la ventaja que sus resultados obtenidos son altamente reproducibles además que lo respaldan distintos datos tanto clínicos como de laboratorio (Barry et al. 1979). Este método se basa en el descrito originalmente por Bauer et al., (método de Kirby-Bauer). Esta prueba se basa en cuantificar la reacción obtenida en un grupo de sustancias que serán probadas cada una sobre cepas bacterianas aisladas de algún proceso infeccioso (Barry et al. 1979).

IV. Hipótesis

Hipótesis de trabajo

Fluoxyl es el enjuague bucal pediátrico que genera mayores halos de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* que Colgate Plax Kids y Dental kids.

Hipótesis nula

Fluoxyl es el enjuague bucal pediátrico que genera menores halos de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* que Colgate Plax Kids y Dental kids.

V. Objetivos

V.1 Objetivo general

Determinar que enjuague bucal pediátrico es el que genera mayores halos de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* Fluoxytil, Colgate Plax Kids o Dental kids.

V.2 Objetivos específicos

- Medir el halo de inhibición que genera el enjuague bucal pediátrico Fluoxytil en cepas de *Streptococcus mutans* en cajas Petri.
- Medir el halo de inhibición generado por el enjuague bucal pediátrico Colgate Plax Kids en cepas de *Streptococcus mutans* en cajas Petri.
- Medir el halo de inhibición generado por el enjuague bucal pediátrico Dental kids en cepas de *Streptococcus mutans* en cajas Petri.
- Comparar los resultados obtenidos de las pruebas *in vitro* con los enjuagues bucales pediátricos Fluoxytil Colgate Plax Kids y Dental kids.

VI. Material y métodos

VI.1 Tipo de investigación

Experimental in vitro.

VI.2 Población o unidad de análisis

Cajas Petri de 90 x 15 mm de plástico que contengan siembra en agar tripticasa soya de *Streptococcus mutans*.

VI.3 Muestra y tipo de muestra

10 cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* con 5 discos impregnados con agua estéril, clorhexidina al 2%, enjuague bucal Fluoxityl, Colgate Plax kids y Dental kids.

VI.3.1 Criterios de selección

Criterios de inclusión

Cajas Petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans*.

Criterios de exclusión

Cajas Petri contaminadas en el transcurso y al finalizar el proceso de esterilización.

Cajas Petri que se hayan roto durante el estudio.

Discos contaminados y mal manipulados.

Criterios de eliminación

Se eliminarán todas aquellas muestras que sufran algún imprevisto durante el desarrollo de las pruebas que imposibilite evaluar las variables de interés.

V.3.2 Variables estudiadas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Halo de inhibición	El área alrededor del disco de antibiótico en un antibiograma donde no ocurre crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con un tipo específico de bacteria.	El halo de inhibición se mide con una regla en milímetros.	Cuantitativa	Continua	Milímetros

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Enjuague bucal Fluoxyl	Enjuague que aporta flúor al esmalte dental que refuerza las capas externas del diente, disminuyendo así la vulnerabilidad frente a los agentes agresores como azúcares y carbohidratos que producen la caries dental.	Cinco microlitros en papel filtro estéril de 5 mm de diámetro.	Cualitativa	Nominal	_____
Enjuague Colgate Plax Kids.	Enjuague bucal con flúor que ayuda a fortalecer el esmalte y brinda protección anticaries.	Cinco microlitros en discos de papel filtro estéril de 5 mm de diámetro.	Cualitativa	Nominal	_____
Enjuague Dental kids	Enjuague bucal sabor tutti-frutti.	Cinco microlitros en discos de papel filtro estéril de 5 mm de diámetro.	Cualitativa	Nominal	_____

VI.4 Técnicas e instrumentos

Se incubaron las cajas Petri con cultivos de *S. mutans* en agar Tripticasa de soya, con los 5 discos de papel filtro. El primer disco embebido con el enjuague Fluoxetyl, el segundo embebido con el enjuague Colgate Plax kids y un tercero embebido con el enjuague Dental kids. Un cuarto disco con clorhexidina al 2% y el quinto disco impregnado con el control negativo; que es agua inyectable.

VI.5 Procedimientos

Preparación del agar Tripticasa de soya.

Se pesó 12 gramos de tripticasa de soya, 3 gramos de extracto de levadura de soya, y 4.5 gramos de sucrosa en una báscula analítica previamente tarada. (Ilustración 1a)

Se vertió en un matraz Erlenmeyer de un litro. (Ilustración 1b)

Con ayuda de una probeta se midió 300 ml de agua estéril y se vertió en el matraz Erlenmeyer. (Ilustración 1b)

Se calentó hasta que se obtuvo el punto de ebullición, mientras se mezcló el agar hasta que este se disolvió. (Ilustración 1c)

Se procedió a esterilizar la solución por 20 minutos en un rango de 121° a 126°. (Ilustración 1d)

Durante 10 minutos se dejó reposar para disminuir la temperatura de la solución.

Se vació la solución en 10 cajas Petri estériles en un lugar previamente desinfectado mientras que evitábamos la formación de burbujas.

Esperamos su gelificación por 15 minutos.

Se colocó a las cajas Petri en una incubadora por 24 horas.



Ilustración 1 Proceso de realización del agar.

Siembra de cepas y colocación de discos.

Después de 24 horas se retiraron las cajas Petri de la incubadora y enseguida se procedió a la siembra en un campo estéril, por medio de dos mecheros de bunsen encendidos.

Se sumergió un hisopo estéril en el tubo de cultivo líquido que contenía la cepa de *Streptococcus mutans* del laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria de la facultad de medicina de la UAQ.

Se comenzó a colocar en la caja Petri uniformemente para lograr un crecimiento monocapa, se realizó esto en todas las cajas Petri. (Ilustración a y b)

Se procedió a rotular las cajas Petri para poder identificar que sustancia contenía cada disco colocado.

Se impregno cada uno de los discos con la ayuda de una pipeta automática con 5 μ L un disco (previamente estéril y de 5mm de diámetro) con agua estéril que fue el control negativo, otro con 5 μ L de clorhexidina que fungió como control positivo y por último tres discos que iban impregnados con 5 μ L del enjuague Fluoxityl, otro con Colgate Plax kids y por último el enjuague Dental kids. (Ilustración c y d)

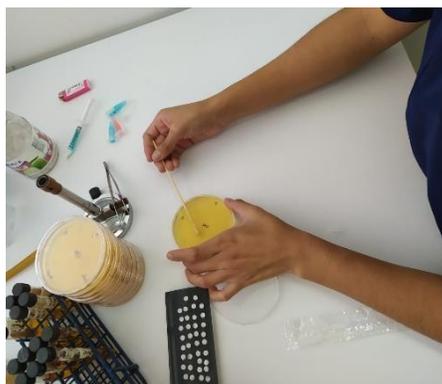
Se colocó cada disco en cada una de las cajas Petri con pinzas estériles de manera firme y teniendo el debido cuidado para no tallar ni rasgar el agar. (Ilustración e)

Las placas se dejaron en la incubadora durante 24 horas a una temperatura de 37°C. (Ilustración f)



a)

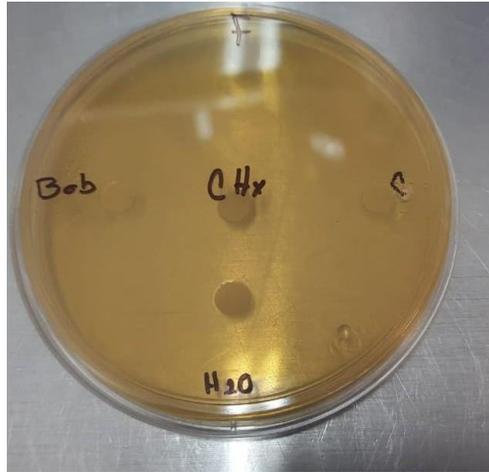
b)



c)



d)



e)

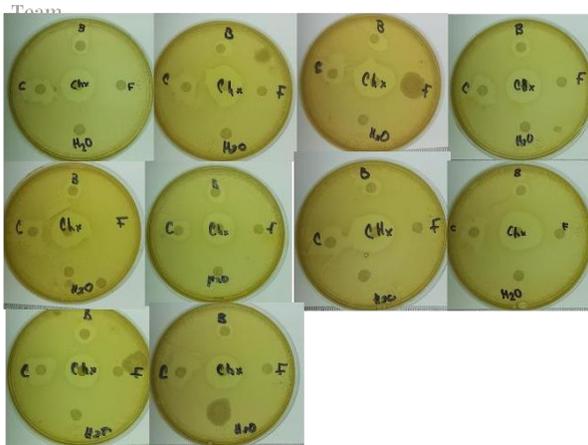


f)

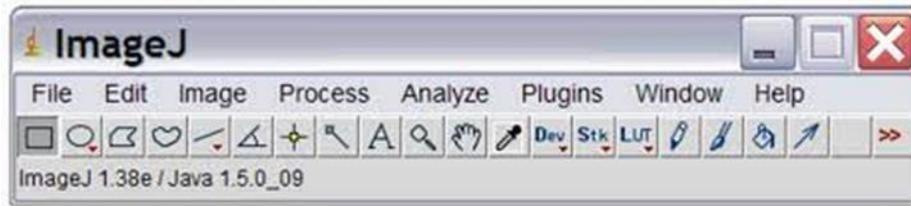
Ilustración 2 Proceso de siembra de cepas y colocación de discos en cajas Petri.

Medición de halos de inhibición.

24 horas después de la incubación se procedió a tomar evidencia fotográfica de cada caja Petri.



Las imágenes se usaron para realizar un análisis en la computadora con la ayuda del programa Imagen J.



Se hizo una recolección de datos en el programa Excel de los diámetros de los halos de inhibición.

Manejo de residuos

Las cajas Petri usadas fueron sometidas a un ciclo de esterilización en autoclave 121 °C por 15 min para su inactivación y posteriormente ser desechadas.

VI.5.1 Análisis estadístico

Se realizó una estimación del promedio, el rango y la desviación estándar de los valores obtenidos.

Usamos la prueba Kolmogorov-Smirnov con esta se verificó que los valores seguían una distribución normal, después sometimos los datos a la prueba de Anova y realizamos el Post Hock de Tukey.

VI.5.2 Consideraciones éticas

Las cajas Petri usadas se sometieron a un ciclo de esterilización en autoclave 121 °C por 15 min para su inactivación y posteriormente ser desechadas.

VI. Resultados

En el cuadro 1 se presentan los valores de la actividad antimicrobiana generada por los tres enjuagues dentales contra el *Streptococcus mutans*.

Cuadro 1. Cuadro de comparación en mm de los halos de inhibición generados en la prueba difusión en agar.

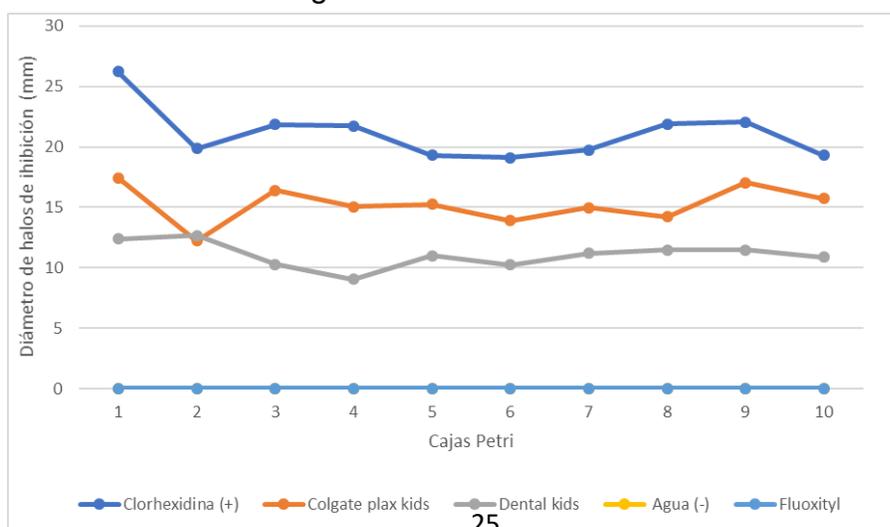
Enjuague	Clorhexidina (+) (n=10)	Colgate Plax kids (n=10)	Dental kids (n=10)	Fluoxityl (n=10)	Agua (-) (n=10)	Valor de P
	X ± DE (Rango)					
						<0.0001

Diámetro de los halos de inhibición.	21.31 ± 2.19 (26.22 – 19.13)	15.22 ± 1.54 (17.43- 12.23)	11.06 ± 1.05 (30.29 - 10.55)	0	0
--------------------------------------	---------------------------------	--------------------------------	---------------------------------	---	---

X: Promedio; DE: Desviación estándar; mm: Milímetros; n: número de muestra; (+) Control positivo; (-) Control negativo.

Prueba estadística Anova

Grafica 1. Comparación del diámetro de los halos de inhibición generados en la prueba de difusión en agar.



Cuadro 2. Comparación del diámetro en mm de los halos de inhibición *Post hoc* entre enjuagues.

		Valor de P
Clorhexidina (+)	Colgate Plax kids	<0.0001
Clorhexidina (+)	Dental kids	<0.0001
Clorhexidina (+)	Fluoxityl	<0.0001
Clorhexidina (+)	Agua (-)	<0.0001
Colgate Plax kids	Dental kids	<0.0001
Colgate Plax kids	Fluoxityl	<0.0001
Colgate Plax kids	Agua (-)	<0.0001
Dental kids	Fluoxityl	<0.0001
Dental kids	Agua (-)	<0.0001
Fluoxityl	Agua (-)	ns

Post hoc Tukey (+) Control positivo (-) Control negativo

VII. Discusión

En la actualidad se comienza a usar más coadyuvantes para la higiene bucal con el fin de prevenir la caries dental y mejorar la salud oral. Un enjuague bucal completo no debe causar daños en mucosa, no debe causar decoloración en los dientes, ser eficaz contra bacterias que generan caries y tener un buen sabor. Con esta finalidad se decidió analizar tres enjuagues bucales diferentes para evaluar la generación de halos de inhibición contra *S. mutans*.

En la parte experimental que se llevó a cabo en esta investigación se observó que los enjuagues bucales Colgate Plax kids y Dental kids generaron halos de inhibición mientras que el enjuague bucal Fluoxtyl no generó halos de inhibición.

Después de realizar las mediciones pertinentes se encontró que Colgate Plax kids fue el que obtuvo mejores resultados generando halos de inhibición contra una cepa de *S. mutans* que los enjuagues Dental Kids y Fluoxtyl, rechazando la hipótesis generada al principio de esta investigación.

En esta revisión bibliográfica realizada se encontraron artículos que apoyaron el presente estudio por ejemplo el realizado por Hildebrandt et al. en 2010 en el cual se dividieron a 105 personas en tres grupos; el control positivo el cual estaba conformado por 35 personas las cuales masticaron goma de mascar con Xilitol tres veces al día por cinco minutos, el grupo experimental en el cual habían 36 personas usó enjuague que contenía xilitol durante un minuto dos veces al día y por último el control negativo conformado por 34 personas las cuales no usaron ningún producto. Al pasar 3 meses se realizó el análisis de las UFC de cada grupo que después de realizar las pruebas estadísticas las diferencias entre los tres grupos no fueron estadísticamente significativas. A pesar de la diferencia en el proceso que se llevó para realizar dichos estudios no se observó que el xilitol en ninguna de sus dos presentaciones a pesar de las diferentes concentraciones que presentaban ayudara a reducir el conteo de *S. mutans*.

Un estudio realizado por LeBel et al. en 2020 valoro mediante una prueba de difusión en disco, una dilución en microplaca y los protocolos estándar europeos para antisépticos, la actividad antimicrobiana contra *S. mutans* ATCC 25175 y *S. sobrinus* ATCC 33478. Los enjuagues bucales que se probaron fueron X-PUR OptiRinse que contiene 0.05 % de fluoruro de sodio, 0.05% de cloruro de cetilpiridinio y 10% de xilitol, X-PUR Opti-Rinse con 0.2 % de fluoruro de sodio, 10% de xilitol y 0.05% de cloruro de cetilpiridinio; en este se usó como control positivo PerioGard el cual contiene en su fórmula gluconato de clorhexidina al 0.12 % y alcohol al 11.6 %. Utilizando tres ensayos antimicrobianos diferentes, se llegó a la conclusión que ambos enjuagues bucales eran altamente activos contra los dos microorganismos. Este respalda los resultados obtenidos ya que el enjuague que presentaba cloruro de cetilpiridinio demostró tener un efecto antimicrobiano además de que en ambos estudios se usó la prueba de difusión en disco causa probable para obtener resultados similares.

Evans et al. en 2015 realizaron una comparación en la inhibición del crecimiento de *S. mutans*, *S. sanguis* y *L. acidophilus* usando cuatro enjuagues bucales con distintas formulaciones como; clorhexidina, fluoruro de sodio, cloruro de cetilpiridinio y aceites esenciales además de compararlos con otras sustancias como hipoclorito y yodopovidona. Se usaron cajas Petri con agar Mueller -Hilton y en esta se formaron cuatro pozos de 5 mm de diámetro y por encima de estos se les colocó un papel filtro, en los cuales previamente se colocaron sesenta microlitros de enjuague bucal o alguna de las otras soluciones. Las placas de cultivo se incubaron a 37 °C durante 72 horas. Las áreas de inhibición del crecimiento se midieron directamente usando un micrómetro. Todos los experimentos y mediciones se realizaron por triplicado y se obtuvieron las desviaciones media y estándar. Se utilizó solución salina tamponada con fosfato como control negativo.

Los enjuagues bucales que contenían en su fórmula fluoruro de sodio (Neutrafluor 220), clorhexidina (Savacol) y cloruro de cetilpiridinio (Cepacol) fueron los únicos productos que produjeron efectos inhibidores del crecimiento contra *S. mutans* y *S. sanguinis*. Estos enjuagues bucales produjeron una inhibición similar

del crecimiento de *S. mutans* y *S. sanguinis* ($p > 0,05$). Savacol produjo la mayor inhibición media del crecimiento de *S. sanguinis* y *S. mutans* en comparación con Neutrafluor 220 y Cepacol. En este estudio obtuvimos resultados similares en el cual nuevamente el enjuague que contenía cloruro del cetilpiridinio genero halos de inhibición junto con el enjuague que contenía fluoruro de sodio además de que se confirmo en este estudio que los enjuagues a base de clorhexidina presentan los mayores efectos de inhibición siendo el estándar para un control positivo.

En la revisión bibliográfica realizada hay estudios que no respaldan los resultados obtenidos en este estudio como el de Elsalhy et al. el cual se llevó a cabo en 2012 en el cual se dividieron setenta y dos pacientes en dos grupos donde el primer grupo uso un enjuague bucal con xilitol al 20% y un segundo con sacarina al 15% después de 4 semanas se evaluó si hubo alguna diferencia en los niveles de UFC al principio y al final de este estudio y se encontraron una disminución estadísticamente significativa en el grupo que uso el enjuague con xilitol y no hubieron cambios en los pacientes que usaron el enjuague con sacarosa. La diferencia en estos resultados comparados con los que nosotros obtuvimos puede deberse al porcentaje que contiene el enjuague del estudio comparado con el que nosotros usamos en el laboratorio el cual no declara las concentraciones presentes de cada componente a diferencia de este estudio, así como el que el método que nosotros usamos no evaluamos las UFC.

Arunakul et al. en 2011 realizó un estudio comparando tres soluciones diferentes para saber si estas disminuían los niveles de *S. mutans* en saliva. Las soluciones usadas fueron tres; la primera contenía fluoruro de sodio al 0.05 %, la segunda era xilitol al 12.5 %, y por último una solución que contenía una combinación de fluoruro de sodio al 0.05 % con xilitol al 12.5 %. Se dividieron en cuatro grupos a ochenta pacientes sanos de 8-9 años que presentaron altos niveles de UFC de *S. mutans*. Los pacientes usaron 10 ml del enjuague durante un minuto 3 veces al día durante 10 semanas. Se recolectaron muestras de saliva de cada paciente, 5 semanas y 10 semanas después del usar cada enjuague para determinar los niveles de *S. mutans* en saliva. Se observo que hubo una reducción significativa en el recuento de *S. mutans* en sujetos que usaron enjuague que

contenía fluoruro de sodio al 0.05 % más xilitol al 12.5 % sobre otros grupos después de 5 semanas y también a las 10 semanas y xilitol al 12.5 % mostro disminución en sus valores solo después de 10 semanas en comparación con el valor inicial. En este estudio observamos que se disminuyeron las UFC esto después de usar en repetidas ocasiones los enjuagues bucales además que se vieron mejores resultados cuando el porcentaje del xilitol en la solución era mayor. En nuestro estudio solo usamos una misma concentración la cual no es declarada en el enjuague bucal Fluoxityl.

Se relacionó dicha actividad con la presencia de cloruro de cetilpiridino en los enjuagues bucales que generaron halos de inhibición, contra el enjuague bucal que no presentaba dicho compuesto.

La diferencia entre los resultados de ambos compuestos puede ser debido a los mecanismos de acción que son diferentes en cada sustancia principal de los tres enjuagues bucales.

Mientras que el cloruro de cetilpiridinio actúa a partir de la absorción de este en la pared celular, posteriormente interfiriendo en el metabolismo bacteriano ocasionando la perdida de material citoplasmático y generando por último la muerte celular.

El xilitol actúa en contra del *S. mutans* debido a que no puede ser metabolizado por estas bacterias.

Sin embargo, se sugiere continuar con estudios para comprobar si dichos compuestos son los responsables de la actividad inhibitoria del *S. mutans*

VIII. Conclusiones

En este estudio se obtuvo como conclusión que a pesar de que hay coincidencias con una variedad de estudios también hay ciertas discrepancias, por lo cual se podrían realizar nuevos estudios con concentraciones diferentes para tener más resultados que respalden esta investigación.

Los halos de inhibición con mayor diámetro fueron los generados por el control positivo Clorhexidina al 2%, seguido por enjuague bucal Colgate Plax Kids que generó un mayor diámetro en los halos de inhibición sobre cepas de *S. mutans* seguido del enjuague Dental Kids. Y por último podemos observar que Fluoxetil así como el control negativo agua estéril no generó halos de inhibición.

IX. Propuestas

En otras investigaciones a futuro se podría valorar *in vitro* cada enjuague bucal con otras cepas bacterias precursoras de caries en pacientes pediátricos; además del *S. mutans*.

En estudios *in vivo* se podría evaluar diferentes aspectos de cada enjuague como si se presenta disminución de placa dentobacteriana en pacientes infantiles que hayan usado estos enjuagues bucales, además de si hay algún efecto terapéutico como desinflamación de tejidos blandos.

X. Bibliografía

Addy, Martin, FDSRCS M Caren Barnes, MS Annerose Borutta, ProfDrmedhabil L Robert Boyd, MEd H Kenneth Burrell, MS E Mark Cohen, Heinz Duschner, et al. 2010. "Investigación Comparativa de La Eficacia de Los Dentífricos de Triclosán/Copolímero/Fluoruro de Sodio y Fluoruro de Estaño/Hexametáfosfato de Sodio/Lactato de Zinc Para..." *J Clin.* <https://www.colgateprofessional.com.au/content/dam/cp-sites/oral-care/professional/en-au/general/pdf/Journal-of-Clinical-Dentistry.pdf#page=27>.

Akande, OO, ARA Alada, GA Aderinokun, and AO Ige. 2010. "Efficacy of Different Brands of Mouth Rinses on Oral Bacterial Load Count in Healthy Adults." *African Journal of Biomedical Research* 7 (3): 125–28. <https://doi.org/10.4314/ajbr.v7i3.54160>.

Amaechi, Bennett T, S M Higham, and W M Edgar. 1998. "The Influence of Xylitol and Fluoride on Dental Erosion in Vitro." *Archives of Oral Biology* 43 (2): 157–61.

Ardakani, Mohammad Reza, Shima Golmohammadi, Sara Ayremlou, Soudabeh Taheri, Sedighe Daneshvar, and Mansour Meimandi. 2014. "Antibacterial Effect of Iranian Green-Tea-Containing Mouthrinse vs Chlorhexidine 0.2%: An in Vitro Study." *Oral Health & Preventive Dentistry* 12 (2): 157–62. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a31663>.

Ardizzoni, Andrea, Eva Pericolini, Simona Paulone, Carlotta Francesca Orsi, Anna Castagnoli, Ilaria Oliva, Elena Strozzi, and Elisabetta Blasi. 2018. "In Vitro Effects of Commercial Mouthwashes on Several Virulence Traits of Candida Albicans, Viridans Streptococci and Enterococcus Faecalis Colonizing the Oral Cavity." *PLoS ONE* 13 (11). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0207262>.

Arunakul, M, B Thaweboon, and S Thaweboon... 2011. "Eficacia de Los Enjuagues Bucales Con Xilitol y Flúor Sobre El Estreptococo Salival Mutans." *Asian Pacific Journal Of...* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169111601068>.

Arunakul, Malee, Boonyanit Thaweboon, Sroisiri Thaweboon, Yuwadee Asvanund, and Kesinee Charoenchaikorn. 2011. "Efficacy of Xylitol and Fluoride Mouthrinses on Salivary Mutans Streptococci." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1 (6): 488–90. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60106-8](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60106-8).

Axelsson, P, B Nyström, and J Lindhe. 2004. "The Long-term Effect of a Plaque Control Program on Tooth Mortality, Caries and Periodontal Disease in Adults: Results after 30 Years of Maintenance." *Journal of Clinical Periodontology* 31 (9): 749–57.

Axelsson, Per, and J Lindhe. 1978. "Effect of Controlled Oral Hygiene Procedures on Caries and Periodontal Disease in Adults." *Journal of Clinical Periodontology* 5 (2): 133–51.

Barry, A L, Daniel Amsterdam, M B Coyle, E H Gerlach, Clyde Thornsberry, and R W Hawkinson. 1979. "Simple Inoculum Standardizing System for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests." *Journal of Clinical Microbiology* 10 (6): 910–18.

Beighton, David. 2005. "The Complex Oral Microflora of High-risk Individuals and Groups and Its Role in the Caries Process." *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 33 (4): 248–55.

Berghe, D A vanden. 1991. "Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants." *Methods in Plant Biochemistry*, 47–69.

Berkowitz, RJ. 2006. "Streptococcus Mutans: Adquisición y Transmisión." *Odontopediatría*.
<https://www.ingentaconnect.com/content/aapd/pd/2006/00000028/00000002/art00004>.

Berkowitz, Robert J. 2006. "Mutans Streptococci: Acquisition and Transmission." *Pediatric Dentistry* 28 (2): 106–9.

Bowen, W. H., and Merilyn J. Hewitt. 1974. "Effect of Fluoride on Extracellular Polysaccharide Production by Streptococcus Mutans." *Journal of Dental Research* 53 (3): 627–29.
<https://doi.org/10.1177/00220345740530031701>.

Bowen, William H. 2002. "Do We Need to Be Concerned about Dental Caries in the Coming Millennium?" *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 13 (2): 126–31.

Bresson, JL, A Flynn, M Heinonen, and K Hulshof. 2008. "Goma de Mascar/Pastillas de Xilitol y Reducción Del Riesgo de Caries Dental- Justificación Científica de Una Declaración de Propiedades Saludables Relacionada Con La Goma de Mascar/Pastillas de Xilitol y Reducción..." EFSA. <https://researchportal.helsinki.fi/en/publications/xylitol-chewing-gumpastilles-and-reduction-of-the-risk-of-tooth-d>.

Burt, Brian A. 1998. "Prevention Policies in the Light of the Changed Distribution of Dental Caries." *Acta Odontologica Scandinavica* 56 (3): 179–86.
<https://doi.org/10.1080/000163598422956>.

Campus, Guglielmo, Maria Rosaria Lallai, and Roberto Carboni. 2003. "Fluoride Concentration in Saliva after Use of Oral Hygiene Products." *Caries Research* 37 (1): 66–70.

Cate, Jacob M. ten. 1999. "Current Concepts on the Theories of the Mechanism of Action of Fluoride." *Acta Odontologica Scandinavica* 57 (6): 325–29.
<https://doi.org/10.1080/000163599428562>.

Choo, Audrey, David M Delac, and Louise Brearley Messer. 2001. "Oral Hygiene Measures and Promotion: Review and Considerations." *Australian Dental Journal* 46 (3): 166–73.

Clancy, K Anne, Sylvia Pearson, William H Bowen, and Robert A Burne. 2000. "Characterization of Recombinant, Ureolytic Streptococcus Mutans Demonstrates an Inverse Relationship between Dental Plaque Ureolytic Capacity and Cariogenicity." *Infection and Immunity* 68 (5): 2621–29.

Claydon, Nicholas C. 2008. "Current Concepts in Toothbrushing and Interdental Cleaning." *Periodontology 2000* 48 (1): 10–22.

Cole, M D. 1994. "Key Antifungal, Antibacterial and Anti-Insect Assays—a Critical Review." *Biochemical Systematics and Ecology* 22 (8): 837–56.

Costa, Xavier, Estefanía Laguna, David Herrera, Jorge Serrano, Bettina Alonso, and Mariano Sanz. 2013. "Efficacy of a New Mouth Rinse Formulation Based on 0.07% Cetylpyridinium Chloride in the Control of Plaque and Gingivitis: A 6-Month Randomized Clinical Trial." *Journal of Clinical Periodontology* 40 (11): 1007–15. <https://doi.org/10.1111/JCPE.12158>.

Cummins, D, and J E Creeth. 1992. "Delivery of Antiplaque Agents from Dentifrices, Gels, and Mouthwashes." *Journal of Dental Research* 71 (7): 1439–49.

Elsalhy, M., I. Sayed Zahid, and E. Honkala. 2012. "Effects of Xylitol Mouthrinse on Streptococcus Mutans." *Journal of Dentistry* 40 (12): 1151–54. <https://doi.org/10.1016/J.JDENT.2012.08.014>.

Escribano Bermejo, Marta. 2016. "Evaluación Científica de Los Productos de Higiene Oral En Las Enfermedades Periodontales." Universidad Complutense de Madrid.

Fehr, F R Von der, and O Haugejorden. 1997. "The Start of Caries Decline and Related Fluoride Use in Norway." *European Journal of Oral Sciences* 105 (1): 21–26.

Flemming, Hans-Curt, and Jost Wingender. 2010. "The Biofilm Matrix." *Nature Reviews Microbiology* 8 (9): 623–33.

Frechero, Nelly M Molina, Raúl Enrique Castañeda Castaneyra, Enrique Gaona, P Mendoza Roaf, and T González Montemayor. 2004. "Consumo de Productos Azucarados y Caries Dental En Escolares." *Rev Mex Pediatr [Internet]*.

Garcia-Godoy, Franklin, W DeVizio, A R Volpe, R J Ferlauto, and J M Miller. 1990. "Effect of a Triclosan/Copolymer/Fluoride Dentifrice on Plaque Formation and Gingivitis: A 7-Month Clinical Study." *American Journal of Dentistry* 3: S15-26.

Ghapanchi, Janan, Afagh Moattari, Fatemeh Lavaee, and Mahmood Shakib. 2015. "The Antibacterial Effect of Four Mouthwashes against Streptococcus Mutans and Escherichia Coli." *JPMA* 65 (350).

Gjerme, Per, Kirsten Lyche Baastad, and Gunnar Rølla. 1970. "The Plaque-inhibiting Capacity of 11 Antibacterial Compounds." *Journal of Periodontal Research* 5 (2): 102–9.

Gómez Capurro, M., V. Chiappe Marino, F. Fernández Linares, P. Pedreira Rivolta, M.R. Ramella Landolfi, and C. Alonso. 2001. "142 Efecto Sobre La Placa Dental de La Clorhexidina al 0,12% Combinada Con Xilitol o Con Fluoruro Sódico." *Periodoncia y Osteointegración* 11 (1): 9–20.

Haps, S., D. E. Slot, C. E. Berchier, and G. A. van der Weijden. 2008. "The Effect of Cetylpyridinium Chloride-Containing Mouth Rinses as Adjuncts to Toothbrushing on Plaque and Parameters of Gingival Inflammation: A Systematic Review." *International Journal of Dental Hygiene* 6 (4): 290–303. <https://doi.org/10.1111/J.1601-5037.2008.00344.X>.

Hayes, Catherine. 2001. "The Effect of Non-Cariogenic Sweeteners on the Prevention of Dental Caries: A Review of the Evidence." *Journal of Dental Education* 65 (10): 1106–9.

Hicks, M J, and C M Flaitz. 1993. "Epidemiology of Dental Caries in the Pediatric and Adolescent Population: A Review of Past and Current Trends." *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 18 (1): 43–49.

Hildebrandt, Gary, Ignatius Lee, and James Hodges. 2010. "Oral Mutans Streptococci Levels Following Use of a Xylitol Mouth Rinse: A Double-Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial." *Special Care in Dentistry : Official Publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry* 30 (2): 53–58. <https://doi.org/10.1111/J.1754-4505.2009.00124.X>.

Horowitz, Herschel S., and William R. Maas. 2003. "The 2001 CDC Recommendations for Using Fluoride to Prevent and Control Dental Caries in the United States." *Journal of Public Health Dentistry* 63 (1): 3–8. <https://doi.org/10.1111/J.1752-7325.2003.TB03467.X>.

Jackson, Robert J. 1997. "Metal Salts, Essential Oils and Phenols—Old or New?" *Periodontology 2000* 15 (1): 63–73.

Janakiram, Chandrashekar, C. v. Deepan Kumar, and Joe Joseph. 2017. "Xylitol in Preventing Dental Caries: A Systematic Review and Meta-Analyses." *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* 8 (1): 16–21. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.198344>.

Jannesson, Lillemor, Stefan Renvert, and Downen Birkhed. 1997. "Effect of Xylitol in an Enzyme-Containing Dentifrice without Sodium Lauryl Sulfate on Mutans Streptococci in Vivo." *Acta Odontologica Scandinavica* 55 (4): 212–16.

Jong, M H De, and J S Van der Hoeven. 1987. "The Growth of Oral Bacteria on Saliva." *Journal of Dental Research* 66 (2): 498–505.

Keoke, Emory Dean, and Kay Marie Porterfield. 2009. *Encyclopedia of American Indian Contributions to the World: 15,000 Years of Inventions and Innovations*. Infobase Publishing.

Köhler, Werner. 2007. "The Present State of Species within the Genera Streptococcus and Enterococcus." *International Journal of Medical Microbiology: IJMM* 297 (3): 133.

Kolenbrander, Paul E, Robert J Palmer, Saravanan Periasamy, and Nicholas S Jakubovics. 2010. "Oral Multispecies Biofilm Development and the Key Role of Cell–Cell Distance." *Nature Reviews Microbiology* 8 (7): 471–80.

Koo, H, J Xiao, M I Klein, and J G Jeon. 2010. "Exopolysaccharides Produced by Streptococcus Mutans Glucosyltransferases Modulate the Establishment of Microcolonies within Multispecies Biofilms." *Journal of Bacteriology* 192 (12): 3024–32.

Kuramitsu, Howard K. 1993. "Virulence Factors of Mutans Streptococci: Role of Molecular Genetics." *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 4 (2): 159–76.

Lang, Niklaus P, Erling ØStergaard, and Harald Löe. 1972. "A Fluorescent Plaque Disclosing Agent." *Journal of Periodontal Research* 7 (1): 59–67.

LeBel, Geneviève, Katy Vaillancourt, Marie-Pierre Morin, and Daniel Grenier. 2020. "Antimicrobial Activity, Biocompatibility and Anti-Inflammatory Properties of Cetylpyridinium Chloride-Based Mouthwash Containing Sodium Fluoride and Xylitol: An In Vitro Study." *Oral Health & Preventive Dentistry* 18 (1): 1069–76. <https://doi.org/10.3290/J.OHPD.B871071>.

Lemos, José A, Robert A Burne, and Correspondence A José Lemos. 2008. "Un Modelo de Eficiencia: Tolerancia al Estrés Por Streptococcus Mutans." *Microbiologyresearch.Org* 154 (11): 3247–55. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/023770-0>.

Loesche, Walter J. 1986a. "Role of Streptococcus Mutans in Human Dental Decay." *Microbiological Reviews* 50 (4): 353.

———. 1986b. "Role of Streptococcus Mutans in Human Dental Decay." *Microbiological Reviews* 50 (4): 353–80. <https://doi.org/10.1128/MR.50.4.353-380.1986>.

Macpherson, L M D, T W MacFarlane, D A M Geddes, and K W Stephen. 1992. "Assessment of the Cariogenic Potential of Streptococcus Mutans Strains and Its Relationship to in Vivo Caries Experience." *Oral Microbiology and Immunology* 7 (3): 142–47.

Mäkinen, K K, K P Isotupa, T Kivilompolo, P L Mäkinen, J Toivanen, and E Söderling. 2001. "Comparison of Erythritol and Xylitol Saliva Stimulants in the Control of Dental Plaque and Mutans Streptococci." *Caries Research* 35 (2): 129–35.

Marcotte, Harold, and Marc C Lavoie. 1998. "Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A." *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (1): 71–109.

Moran, John M. 1997. "Chemical Plaque Control—Prevention for the Masses." *Periodontology 2000* 15 (1): 109–17.

Murray, JJ. 1976. "Fluoruros En La Prevención de Caries." <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19761447229>.

O'Leary, Timothy J. 1970. "Oral Hygiene Agents and Procedures." *Journal of Periodontology* 41 (11): 625–29.

Osso, Diane, and Nehal Kanani. 2013. "Antiseptic Mouth Rinses: An Update on Comparative Effectiveness, Risks and Recommendations." *American Dental Hygienists' Association* 87 (1): 10–18.

- Pandit, S., H. J. Kim, K. Y. Song, and J. G. Jeon. 2013. "Relationship between Fluoride Concentration and Activity against Virulence Factors and Viability of a Cariogenic Biofilm: In Vitro Study." *Caries Research* 47 (6): 539–47. <https://doi.org/10.1159/000348519>.
- Pérez-Salgado, Diana, José Alberto Rivera-Márquez, and Luis Ortiz-Hernández. 2010. "Publicidad de Alimentos En La Programación de La Televisión Mexicana: ¿ Los Niños Están Más Expuestos?" *Salud Pública de México* 52 (2): 119–26.
- Ramalingam, Karthikeyan, Bennett T Amaechi, Rawls H Ralph, and Valerie A Lee. 2012. "Antimicrobial Activity of Nanoemulsion on Cariogenic Planktonic and Biofilm Organisms." *Archives of Oral Biology* 57 (1): 15–22.
- Rustogi, K N, D M Petrone, S M Singh, A R Volpe, and E Tavss. 1990. "Clinical Study of a Pre-Brush Rinse and a Triclosan/Copolymer Mouthrinse: Effect on Plaque Formation." *American Journal of Dentistry* 3: S67-9.
- scand., A SCHEININ - Acta odont., and undefined 1975. n.d. "Turku Sugar Studies I-XXI." *Ci.Nii.Ac.Jp*. Accessed December 6, 2022. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10008398406/>.
- Serra, Juan. 2016. "Higiene Completa." *Farmacia Profesional* 1 (1): 83–89.
- Socransky, S. S., A. D. Haffajee, M. A. Cugini, C. Smith, and R. L. Kent. 1998. "Microbial Complexes in Subgingival Plaque." *Journal of Clinical Periodontology* 25 (2): 134–44. <https://doi.org/10.1111/J.1600-051X.1998.TB02419.X>.
- Söderling, E, P Isokangas, K Pienihäkkinen, J Tenovuo, and P Alanen. 2001. "Influence of Maternal Xylitol Consumption on Mother–Child Transmission of Mutans Streptococci: 6–Year Follow–Up." *Caries Research* 35 (3): 173–77.
- Soet, J J De, Bente Nyvad, and Mogens Kilian. 2000. "Strain–Related Acid Production by Oral Streptococci." *Caries Research* 34 (6): 486–90.
- STUART, L FISCHMAN. 1997. "The History of Oral Hygiene Products: How Far Have We Come in 6000 Years?" *Periodontology 2000* 15: 7–14.
- Subramaniam, Priya, and N Nandan. 2011. "Effect of Xylitol, Sodium Fluoride and Triclosan Containing Mouth Rinse on Streptococcus Mutans." *Contemporary Clinical Dentistry* 2 (4): 287.
- Tanner, A, M F J Maiden, P J Macuch, L L Murray, and R L Kent Jr. 1998. "Microbiota of Health, Gingivitis, and Initial Periodontitis." *Journal of Clinical Periodontology* 25 (2): 85–98.
- Trahan, Luc. 1995. "Xylitol: A Review of Its Action on Mutans Streptococci and Dental Plaque--Its Clinical Significance." *International Dental Journal* 45 (1 Suppl 1): 77–92.
- Ur-Rehman, Salim, Zarina Mushtaq, Tahir Zahoor, Amir Jamil, and Mian Anjum Murtaza. 2015. "Xylitol: A Review on Bioproduction, Application, Health Benefits, and Related Safety Issues." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55 (11): 1514–28. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.702288>.

UZER CELIK, Esra, Ayse Tugce Tunac, Mustafa Ates, and Bilge Hakan Sen. 2016. "Antimicrobial Activity of Different Disinfectants against Cariogenic Microorganisms." *Brazilian Oral Research* 30 (1).

Valm, Alex M. 2019. "The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease." *Journal of Molecular Biology* 431 (16): 2957–69. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2019.05.016>.

Vílchez de la Fuente, Blanca. 2017. "Impacto Del Tratamiento Periodontal Básico En Los Niveles de Porphyronomas Gingivalis y Aggregatibacter Actinomycetemcomitans a Nivel Local y Su Relación Con La Enfermedad Cardiovascular: Estudio Piloto a 6 Meses."

Weijden, G A Van der, and U Van der Velden. 1991. "Fluctuation of the Microbiota of the Tongue in Humans." *Journal of Clinical Periodontology* 18 (1): 26–29.

White, Donald J, MATTHEW L Barker, and MALGORZATA Klukowska. 2008. "In Vivo Antiplaque Efficacy of Combined Antimicrobial Dentifrice and Rinse Hygiene Regimens." *American Journal of Dentistry* 21 (3): 189.

Wu, Christine D., and Eugene D. Savitt. 2002. "Evaluation of the Safety and Efficacy of Over-the-Counter Oral Hygiene Products for the Reduction and Control of Plaque and Gingivitis." *Periodontology 2000* 28 (1): 91–105. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0757.2002.280105.X>.

Zero, Domenick T. 2006a. "Dentifrices, Mouthwashes, and Remineralization/Caries Arrestment Strategies." In *BMC Oral Health*, 6:S9. BioMed Central.

Zero, Domenick T. 2006b. "Dentifrices, Mouthwashes, and Remineralization/Caries Arrestment Strategies." *BMC Oral Health* 6 (SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1186/1472-6831-6-S1-S9>.

Zyl, Andre W Van, and Willie F P Van Heerden. 2010. "Mouthwash: A Review for South African Health Care Workers." *South African Family Practice* 52 (2): 121–27.

