

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Posgrados

Efecto inhibidor de crecimiento de la cepa pura de
Aggregatibacter actinomycetemcomitans de dentífricos y
enjuagues bucales de uso pediátrico expendidos en la ciudad
de Quito, Ecuador

Dra. Ana María Cabezas Espinosa

Dra. Jenny Edith Collantes Acuña

Tutor de Trabajo de Titulación

Trabajo de titulación de posgrado presentado como requisito
para la optar del título de Especialista en Odontopediatría

Quito, 11 de diciembre 2017

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

COLEGIO DE POSGRADOS

HOJA DE APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Efecto inhibitor de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de dentífricos y enjuagues bucales de uso pediátrico expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador

DRA. ANA MARÍA CABEZAS ESPINOSA

Firmas

Jenny Edith Collantes Acuña, Dra.

Especialista en Odontopediatría

Tutor de Trabajo de Titulación

Constanza Sánchez, Dra.

Especialista en Odontopediatría

Coordinador del Programa de
Odontopediatría

Martha Pérez, Dra.

Especialista en Odontopediatría

Miembro de Comité de Tesis

José Miguel Pinto, Dr.

Especialista en Odontopediatría

Miembro de Comité de Tesis

Paulina Aliaga, Dra.

Especialista en Cirugía

Decano de la Escuela de Odontología

Hugo Burgos, PhD

Decano del Colegio de Posgrados

Quito, 11 de diciembre 2017

© Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombre:	Ana María Cabezas Espinosa
Código del estudiante:	00132999
C.I.:	171411042
Lugar y fecha:	Quito, 11 de diciembre de 2017

DEDICATORIA

A Francisco Martín, mi motor, mi fuerza y mi ángel.

Por permitirme robarle su tiempo, nuestro tiempo; por dejar que cumpla mis sueños y acompañarme en esta aventura.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por ser pilar de apoyo, brazo de fuerza y ayuda incondicional.

A mis profesores, por su tiempo, paciencia y amor para traspasar sus conocimientos.

A mis amigos, por ser y permanecer.

A la USFQ, por ser mi alma mater.

A la mejor escuela de Odontología del país.

A Dios, por permitirme cumplir cada uno de mis sueños.

A la vida, que ha puesto en mi camino la bendición de servir con mis manos a los que más lo necesitan, mis niños.

RESUMEN

La enfermedad periodontal es una de las patologías principales en la consulta odontológica. La prevención y el control de estas enfermedades es complejo por su etiopatogenia tan variada. La acumulación de placa bacteriana con microorganismos agresivos como el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es una de sus causas, por lo que se debe evaluar productos de higiene bucal con eficacia antimicrobiótica que sean aptos y seguros para el uso por parte de los niños. El siguiente estudio experimental, in vitro, comparativo cuanti y cualitativo midió el halo de inhibición de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por parte de dentífricos y enjuagues de uso pediátrico expendidos en la ciudad de Quito-Ecuador. Los dentífricos a utilizar fueron Colgate Smiles, Denture Kids, Blendy de Blendax, --B Pro-Salud Stages, Aquafresh kids de Aquafresh y los enjuagues pediátricos fueron Colgate Plax Kids, Blendy con Xilitol y Denture Kids. El cultivo de la cepa activada del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* fue colocado con método de estriación en cajas Petri con discos de papel estériles embadurnados previamente con los productos de higiene bucal pediátricos. Se utilizó clorhexidina al 0.12% en dentífrico y enjuague como control positivo y suero fisiológico como control negativo. Los resultados de las mediciones del halo fueron llevados a estudios estadísticos con el programa SPSS. Los dentífricos pediátricos no mostraron halo de inhibición, mientras que el enjuague con cloruro de cetilpiridinio dio resultado positivo conjunto con los controles positivos. El estudio concluye que existe una inhibición aceptable del producto con cloruro de cetilpiridinio sin embargo, la clorhexidina al 0.12% es aún más eficiente contra esta cepa periodontal.

Palabras clave: odontopediatría, enfermedad periodontal, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dentífricos pediátricos, enjuagues pediátricos

ABSTRACT

Periodontal disease is one of the main pathologies in the dental practice. The prevention and control of these diseases is complex because of its varied etiopathogenesis. The accumulation of bacterial plaque with aggressive microorganisms such as *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* is one of the causes, and it is therefore necessary to evaluate oral hygiene products with antimicrobial effectiveness that are safe and suitable for children to use. The following in vitro, comparative, quantific and qualitative experimental study measured the growth inhibitory halo of *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* pure strain by dentifrices and pediatric mouthwashes sold in the city of Quito-Ecuador. The dentifrices to be used were Colgate Smiles, Denture Kids, Blendax Blendy, Oral-S Pro-Salud Stages, Aquafresh kids from Aquafresh and pediatric rinses were Colgate Plax Kids, Blendy with xylitol and Denture Kids. The culture of the activated strain of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* was placed in petri-boxes with a streaking method in sterile paper disks previously smeared with pediatric oral hygiene products. Chlorhexidine 0.12% was used in dentifrice and mouthwash as a positive control and physiological serum as a negative control. The results of the halo measurements were taken to statistical studies with the SPSS program. Pediatric dentifrices showed no halo of inhibition, while rinsing with cetylpyridinium chloride gave positive result set with positive controls. The study concludes that there is an acceptable inhibition of the product with cetylpyridinium chloride; however, chlorhexidine at 0.12% is even more efficient against this periodontal strain.

Key words: pediatric dentistry, periodontal disease, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, pediatric dentifrices, pediatric rinses

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
CAPÍTULO I	15
1.1 Introducción	15
1.2 Justificación	17
1.3 Objetivos de la investigación	18
1.3.1 Objetivo general	18
1.3.2 Objetivos específicos	18
1.4 Hipótesis	19
1.4.1 Hipótesis de Investigación (Ha).....	19
CAPÍTULO II	20
2. Marco Teórico.....	20
2.1 Periodonto de la dentición primaria.....	20
2.2 Enfermedad periodontal.....	21
2.3 Productos de higiene bucal pediátricos.....	43
2.4 Antisépticos.....	47
CAPÍTULO III	53
3. Marco Metodológico	53
3.1 Tipo y diseño de la investigación	53
3.2 Población del estudio	54
3.3 Criterios de inclusión y exclusión	58

3.4 Variables	59
3.5 Recursos materiales e instrumental	62
3.6 Procedimientos y técnicas.....	63
3.7 Aspectos Éticos.....	65
3.8 Autorizaciones solicitadas	65
CAPÍTULO IV	66
4. Procesamiento de datos y análisis de resultados	66
4.1 Resultados	66
4.2 Análisis Estadístico	68
4.3 Discusión.....	80
CAPÍTULO V	84
5. Conclusiones y Recomendaciones.....	84
5.1 Conclusiones.....	84
5.2 Recomendaciones.....	85
REFERENCIAS.....	87
ANEXOS	93
FOTOGRAFÍAS.....	108

ÌNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Primer estadio o fase I de formación del biofilm	26
Gráfico 2. Segundo estadio o fase II de formación del biofilm	27
Gráfico 3. Tercer estadio o fase III de formación del biofilm	27
Gráfico 4. Cuarto estadio o fase IV de formación del biofilm.....	27
Gráfico 5. Clasificación de la enfermedad periodontal.	30
Gráfico 6. Colonización temprana de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	35
Gráfico 7. Resultados sobre el efecto inhibitor de crecimiento de la cepa pura de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> de productos de higiene bucal de uso pediátricos.....	67
Gráfico 8. Prueba de Normalidad: Muestra Colgate Kids Enjuague.....	69
Gráfico 9. rueba de Normalidad: Muestra Encident Pasta.	70
Gráfico 10. Prueba de Normalidad: Muestra Clorhexidina 0.12%.	70
Gráfico 11. Distribución de datos para la muestra: Colgate Plax Kids Enjuague.	73
Gráfico 12. Distribución de datos para la muestra: Encident Pasta.....	74
Gráfico 13. Distribución de datos para la muestra: Clorhexidina 0.12%.....	75
Gráfico 14. Promedio en mm de halo de inhibición de las muestras.....	77
Gráfico 15. Comparación de medias dos a dos.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies bacterianas asociadas a la periodontitis: clasificación de ampliamente y moderadamente asociadas.	32
Tabla 2. Especificaciones científicas del <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ..	37
Tabla 3. Composición de los dentífricos.....	43
Tabla 4. Componentes químicos de dentífricos pediátricos	57
Tabla 5. Componentes químicos de enjuagues pediátricos.	58
Tabla 6. Variables del estudio.	61
Tabla 7. Dentífricos y enjuagues pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador.....	66
Tabla 8. Prueba de Normalidad: Muestra Colgate Kids Enjuague.	68
Tabla 9. Prueba de Normalidad: Encident Pasta.....	69
Tabla 10. Prueba de Normalidad: Muestra Clorhexidina 0.12%.....	70
Tabla 11. Test de normalidad de variables estudiadas.	71
Tabla 12. Estadísticos descriptivos: Muestra Colgate Plax Kids Enjuague.	72
Tabla 13. Estadísticos descriptivos: Encident Pasta.	73
Tabla 14. Estadísticos descriptivos: Clorhexidina 0.12%.	74
Tabla 15. Prueba de Kruskal-Wallis para estadísticos de contraste.....	76
Tabla 16. Comparación dos a dos Colgate Plax Kids enjuague y Encident Pasta. ...	77
Tabla 17. Comparación dos a dos Colgate Plax Kids enjuague y enjuague clorhexidina al 0.12%.	78
Tabla 18. Comparación dos a dos Encident Pasta y enjuague con clorhexidina al 0.12%.	78
Tabla 19. Muestras con valor constante.....	79
Tabla 20. Valoración cualitativa de variables constantes.	80

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Factura de compra de bacteria.	93
Anexo 2.Solicitud de uso de laboratorio.	94
Anexo 3.Certificación de uso de laboratorio.	95
Anexo 4. Protocolo específico de manejo de desechos infecciosos.	96
Anexo 5. Certificación de esterilización del material utilizado.	97
Anexo 6. Método de activación de bacterias.	98
Anexo 7. Factura de discos de papel estériles.	100
Anexo 8. Sobres para generación de condiciones anaerobias.	101
Anexo 9. Certificado de Autenticidad de la bacteria <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC® 29522.	102
Anexo 10. Informe de Resultados.	103
Anexo 11. Declaración de no conflicto de interés (investigadora).	104
Anexo 12. Declaración de no conflicto de interés (directora de tesis).	105
Anexo 13. Aprobación de protocolo investigación.	106

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Dentífricos pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador. . .	66
Fotografía 2. Enjuagues pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador....	67
Fotografía 3. Dentífricos pediátricos utilizados.....	108
Fotografía 4. Enjuagues pediátricos utilizados.....	108
Fotografía 5. Sobre de cepa de A. Actinomycetemcomitans.....	109
Fotografía 6. Constatación del laboratorio de microbiología.	109
Fotografía 7. Proceso de esterilización de material experimental.	110
Fotografía 8. Activación de la cepa.	110
Fotografía 9. Incubación de la cepa.	111
Fotografía 10. Colocación de la cepa para experimentación.	111
Fotografía 11. Pesaje de muestras.	112
Fotografía 12. Homogenización de la muestra.....	112
Fotografía 13. Identificación de cajas Petri.	112
Fotografía 14. Embadurnamiento de discos dentífricos pediátricos.....	113
Fotografía 15. Colocación de discos en cajas Petri.....	113
Fotografía 16. Incubación en condiciones anaerobias.	113
Fotografía 17. Reactivación de cepa.....	114
Fotografía 18. Embadurnamiento y colocación de discos en caja con enjuagues pediátricos.....	114
Fotografía 19. Incubación en condiciones anaerobias apropiadas.....	114
Fotografía 20. Medición de halos de inhibición: dentífricos.....	115
Fotografía 21. Medición de halos de inhibición: enjuagues.....	116

Fotografía 22. Medición de halos de inhibición: control positivo dentífrico y enjuague.	116
Fotografía 23. Medición de halos de inhibición: control negativo.	116

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

La enfermedad periodontal es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como la segunda patología principal a combatir en la cavidad bucal. Se atribuye a la inflamación gingival en la niñez y adolescencia temprana como un precipitador para la enfermedad periodontal en adulto. Así pues, sin una correcta intervención, la inflamación gingival no destructiva de la niñez puede progresar en enfermedades periodontales crónicas en poblaciones adultas (Law, 2014) (OMS, 2017).

Las enfermedades periodontales son en su mayoría causadas por una incorrecta higiene del paciente. Esto evita que se eliminen toxinas que, al aumentar en tamaño, se convierte en una placa agresiva con el tejido gingival. Las bacterias de la placa se adhieren rápidamente a la encía, infectándola y causando una inflamación e irritación gingival (Harris & García, 2014).

En el niño la enfermedad periodontal se caracteriza por la inflamación de la zona marginal que puede involucrar a la encía interpapilar, sin que necesariamente se dé la pérdida de la adherencia epitelial. Clínicamente se observan cambios en el color, forma y textura de la encía, existe edema, la superficie se torna lisa, con brillo y reducción de su puntilleo habitual. De igual forma, bajo leve presión o de forma espontánea la encía puede presentar hemorragia (Juárez-López, ML y cols, 2004) (Lindhe, 2009) (Carranza FA, Sznajder NG, 1996).

Existen varias complicaciones que presentan los pacientes con enfermedad periodontal a largo plazo como la pérdida de tejido gingival, sangrado, infecciones, irritaciones y la más peligrosa, la proliferación de microorganismos muy agresivos como el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, entre otros (Díaz, Yáñez, & Melgar, 2012).

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* posee gran número de factores de virulencia con múltiples funciones como el permitir la colonización de la cavidad bucal, invadir tejidos periodontales, evadir las defensas del huésped, iniciar la destrucción del tejido conectivo y el interferir en la reparación tisular (Raja, M y cols, 2014).

Los dentífricos y enjuagues bucales han sido la base para un cuidado bucal satisfactorio, muchos de ellos con componentes terapéuticos contra microorganismos

frecuentes en boca y pocos de ellos contra microorganismos más agresivos. Los agentes de cuidado bucal pediátricos, han sido elaborados con el propósito de limpiar, fortalecer las unidades dentarias y eliminar el mal aliento combatiendo las bacterias. Sus composiciones, muy variadas, han sido modificadas para cumplir cada uno de sus propósitos y objetivos.

Cada uno de los productos pediátricos contiene características que han sido evaluadas para poder recomendar el uso adecuado de los mismos. Los dentífricos son constituidos por abrasivos, humectantes, espumantes, fijadores, saborizantes, colorantes, conservantes y agentes terapéuticos como el xilitol, fluoruros, sales de estaño, triclosán, etc. Con respecto al flúor, los niños mayores de 7 años pueden utilizar hasta 1.500ppm para lograr una mayor eficacia contra la caries dental, para niños más pequeños se debe evaluar el compromiso de una afección sistémica de fluorosis dental, por lo que la concentración deberá ser más baja con una recomendación de 500ppm y del tamaño de una lenteja para evitar la ingestión accidental hasta que el niño escupa correctamente, entre los 3 a 5 años aproximadamente. Se debe recetar pastas sin su presencia para lactantes y estas, tampoco deben contener abrasivos ni espumantes (Díaz, Yáñez, & Melgar, 2012) (Harris & García, 2014).

En cuanto a los enjuagues, su uso debe ser recomendado para niños de corta edad con especificaciones médicas. Dentro de su composición se encuentra compuestos cuaternarios de amoníaco, ácido bórico y benzoico, compuestos fenólicos, que le otorgan un sabor, color, olor y sensación placentera. Existen algunos agentes terapéuticos que se han adicionado a los enjuagues como el sulfato de zinc y clorhexidina como antiplaca, el alcohol como desinfectante y los aceites esenciales como antiplaca y antigingivitis. Algunos de estos agentes terapéuticos son de uso delicado en niños, la clorhexidina por ejemplo, debe ser vendida bajo prescripción médica con una terapéutica controlada debido a sus efectos adversos. En cuanto al alcohol, se lo ha vinculado con cáncer de cavidad bucal y garganta y un uso mayor de 5 a 10 onzas en un niño con peso de 14kg podría ser hasta mortal. El cloruro de cetilpiridinio (CPC) también es otro compuesto de amonio cuaternario, que se usa como enjuague bucal con espectro de actividad antibacteriana y con efectos adversos muy raros y poco frecuentes (Harris & García, 2014).

Se conoce en su totalidad la composición de los productos dentales, sin embargo existen pocos estudios que evalúen la actividad antimicrobiana de las pastas y enjuagues dentales que son utilizadas habitualmente por los niños.

Con estos antecedentes esta investigación tiene como meta evaluar, mediante pruebas in vitro, la actividad antimicrobiana de pastas y enjuagues dentales pediátricos comercializados en Quito - Ecuador frente a cepas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

1.2 Justificación

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es reconocido como uno de los principales patógenos presentes en enfermedades periodontales como la gingivitis y periodontitis agresiva, tanto en niños, adolescentes y adultos (Gafan, 2004) (Fine D. , 2007) (Fine D. H., 2013).

Estudios revelan que las madres con periodontitis crónica presentan cepas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* desde la gestación, las cuales, en algunos casos específicos y son transmitidas a sus hijos causando enfermedad periodontal en ellos (Machado, 2016) (Rego, 2007).

La odontopediatría brinda atención a pacientes de corta edad y con diversidad funcional que deben utilizar productos de higiene bucal que no sean tóxicos y que no den problemas en su salud al momento de ser deglutidos.

Estos pacientes al ser muy pequeños, o no tener la destreza manual correcta, tienen una higiene bucal deficiente que conlleva a problemas periodontales y acumulación de biofilm bucal con bacterias propias del mismo (Naka, 2009).

Estas bacterias en pacientes adultos son combatidas eficazmente con productos a base de clorhexidina al 0.12%, sin embargo, en pacientes pediátricos su uso es delicado. Se debe tener precauciones por la toxicidad que puede darse al ser deglutidos, la capacidad de sustantividad que tiene los tejidos para absorber el agente activo y liberarlo lentamente en un periodo prolongado, la modificación en la sensación del gusto y la coloración que pueden adquirir las unidades dentales posterior a su aplicación, entre otros efectos adversos (Kadkhoda, 2015) (Harris & García, 2014).

Teniendo estas razones como base de nuestra investigación, vemos la necesidad de encontrar productos pediátricos que inhiban el crecimiento de esta cepa bacteriana presentes en enfermedades periodontales en niños, para poder tomarlos en cuenta como

recomendaciones terapéuticas para beneficio de pacientes de corta edad o con deficiencias en su higienización.

Con el fin de descubrir la mejor opción terapéutica de los dentífricos y enjuagues pediátricos expendidos en Quito contra la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, se realiza el estudio experimental in vitro a través del cultivo de estas bacterias en cajas Petri, en el laboratorio de bioquímica de la Universidad Central del Ecuador.

Los resultados de este estudio serán de vital importancia para los odontopediatras en el caso de presenciar casos de pacientes con enfermedad periodontal y generar interés para futuras investigaciones sobre este problema de salud bucal.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Medir el halo de inhibición bacteriana in vitro de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, por parte de dentífricos y enjuagues bucales de uso pediátrico expendidos en la ciudad de Quito-Ecuador, para comprobar su eficacia.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar cuáles son los dentífricos y enjuagues pediátricos vendidos en autoservicios y farmacias en Quito.
- Comparar según las medidas de los halos el efecto inhibitorio de crecimiento de la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* con los dentífricos y enjuagues pediátricos de venta en Quito.
- Establecer estadísticamente si los dentífricos y enjuagues de uso pediátrico, utilizados en la investigación, presentan diferencias significativas en los resultados obtenidos.
- Hallar el agente que pueda ser utilizado para prevenir una afectación por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes pediátricos.
- Conocer cuál de los dentífricos y enjuagues pediátricos puede ser utilizado como mejor opción terapéutica ante una infección de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en la población.

1.4 Hipótesis

1.4.1 Hipótesis de Investigación (Ha)

Hi: La inhibición o no del crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por parte de los productos de higiene bucal pediátricos.

Ha: Los dentífricos pediátricos con presencia de xilitol, monoflourfosfato de sodio 900ppm y 1100ppm tendrán mayor efecto antimicrobiano que los dentífricos con sorbitol y menor cantidad de fluoruros para contribuir con la inhibición de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Ha: Los enjuagues pediátricos con presencia de xilitol y monoflourfosfato de sodio de 250ppm tendrán mayor efecto antimicrobiano que los enjuagues con cloruro de cetilpiridinio y fluoruro de sodio.

CAPÍTULO II

2. Marco Teórico

2.1 Periodonto de la dentición primaria

El periodonto en la dentición normal primaria tiene características distintas al de los adultos. Sus tejidos son de color rosa más pálido y la capa queratinizada es delgada por lo que se puede observar los vasos sanguíneos. El puntillado gingival aparece aproximadamente a los 3 años de edad y este ha sido reportado en la mitad de niños entre los 3 a 10 años, sin diferencia entre los arcos maxilar y mandibular o entre mujeres y varones (Law, 2014).

El periodonto de la dentición normal primaria se constituye en la encía interdental, el surco gingival y la encía adherida, cada una de ellas con características únicas.

La encía interdental toma la forma de la dentición primaria, siendo esta más ancha hacia vestibulolingual y estrecha en mesiodistal, en cuanto a su estructura y composición es parecida a la encía en el adulto. Con respecto al surco gingival, su profundidad es menor en la dentición primaria, al sondaje tenemos 1 a 2 milímetros con un incremento de profundidad de las unidades anteriores hacia las posteriores. La encía adherida tiene un diámetro de 3 a 6 milímetros, siendo en superficies bucales menos ancha de adelante hacia atrás y en superficie lingual aumenta de adelante hacia atrás, inversamente. En la transición de la dentición de primaria a la permanente, el ancho de la encía adherida aumenta. El epitelio de unión es más grueso en dentición temporal por lo que se va reduciendo paulatinamente la permeabilidad a las toxinas bacterianas (Law, 2014).

Existen cambios periodontales asociados con el desarrollo normal, la mayoría ocurren durante la erupción y son de naturaleza fisiológica, los cuales deben diferenciarse de la enfermedad gingival. Se deben distinguir cambios en la encía durante la erupción dental, dientes anquilosados, durante la exfoliación de dientes primarios, cambios relacionados con maloclusiones y problemas mucogingivales (Law, 2014).

2.2 Enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal es una patología caracterizada por la infección e inflamación de distintas estructuras que soportan los dientes. A las enfermedades periodontales se las reconoce como infecciones con bacterias que juegan un papel importante en su desarrollo. Una continua acumulación de placa dental causa el desequilibrio entre especies patógenas y los mecanismos de defensa del huésped, produciendo así la inflamación gingival. Una incorrecta higiene bucal, está frecuentemente asociada con la alta prevalencia de enfermedad periodontal y puede determinar la gravedad de la misma (Calvaca, 2009).

Las enfermedades periodontales son infecciones de bacterias específicas que interactúan por la acumulación continua de placa dental creando un desbalance entre las especies patogénicas y los mecanismos de defensa del huésped (Campos, 2016).

Las alteraciones previamente mencionadas comprometen al periodonto con sus múltiples componentes: al tejido gingival, ligamento periodontal, cemento, hueso alveolar y tejido de soporte de estructuras dentarias (Bozdogan, E. y cols, 2016).

Bajo este concepto, se clasifica en dos afectaciones con características particulares que tienden a ser nocivas en estructuras que rodean a los dientes, como son la gingivitis y la periodontitis. La gingivitis es una afectación localizada en la encía marginal, que presenta gingivorragia como principal manifestación clínica. Al describir la periodontitis se detalla una afectación más profunda que involucra tanto a las encías como a tejidos de sostén de las unidades dentarias (Ortega, 2016).

Se describe a las periodontitis como un conjunto de patologías de naturaleza inflamatoria y etiología infecciosa producidas por el biofilm patogénico subgingival. (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012) A su vez, se la describe como una patología con etiología multifactorial, siendo el biofilm y el factor bacteriano de gran importancia para su aparición (Ramos D y cols, 2010) (Ramos, 2011).

2.2.1 Etiopatogenia

La etiopatogenia de la enfermedad periodontal es de múltiples causas, se describe a la combinación de factores ambientales y la predisposición genética del huésped como moduladores de condiciones. También se hace referencia como causal de la enfermedad periodontal a la virulencia del patógeno, la respuesta inmunológica del huésped y la función metabólica de tejidos conjuntivos (Ortega, 2016) (Caridad, 2011).

Los microorganismos inicialmente colonizan la boca desde el nacimiento de un niño mediante la transmisión natural de la madre, y posteriormente, provienen de la atmósfera, alimentos, contacto humano u otro tipo de contacto como es el caso de mascotas. Cuando empieza la erupción dental y la pieza emerge en la cavidad bucal, el órgano formador del esmalte se desprende y es dañado por enzimas bacterianas y salivales, quedando el esmalte expuesto a saliva y microbiota bucal normal. Sin embargo, el continuo depósito de placa dental bacteriana supragingival en las zonas contiguas al surco periodontal favorece la sustitución de microorganismo saprófitos de la cavidad bucal por microorganismos de gran virulencia, agresivos, generalmente gram negativos y espiroquetas que determinan el inicio de la enfermedad periodontal en el paciente (Caridad, 2011) (Harris, 2001).

La complejidad de la etiopatogénesis de la enfermedad periodontal, involucra tanto la susceptibilidad del huésped como el desafío bacteriano (Campos, 2016). En cuanto a bacterias, se conoce que es formado por un grupo específico, principalmente compuesto de microorganismos gram negativos y anaeróbicos, los cuales inician y progresan en la inflamación periodontal (Cavalca, 2009).

En un principio, se evidencia la inflamación de la zona circundante al diente, donde se ha colonizado los gérmenes con alta virulencia como un proceso de respuesta inmune. Posterior a la inflamación, se activan líneas de defensa del huésped como liberación de mediadores inflamatorios y linfocitos polimorfonucleares como respuesta del tejido conectivo frente a la agresión (Kolenbrander, 2000).

Existen casos en los que la defensa inmunológica del huésped no logra limitar la invasión microbiana y ocurre la destrucción de tejidos, apareciendo así la bolsa periodontal. Por la profundidad y localización de la bolsa, ocurre una transformación de los microorganismos de aerobios a anaerobios para su supervivencia, lo cual cambia la población

microbiana bucal, siendo esta nueva mucho más agresiva. (Escudero, Perea, & Bascones, 2008).

Los datos en el Ecuador sobre la prevalencia de la enfermedad periodontal en niños son escasos, sin embargo las manifestaciones clínicas de la enfermedad periodontal se presentan desde primera infancia. Diversos estudios a nivel mundial muestran una tendencia creciente de patologías periodontales. García (1990) advierte que más del 80% de escolares presenta gingivitis, Glickman y sus colaboradores (1994) refiere que el 98% de la población de niños americanos entre 1 a 14 años presenta algún tipo de enfermedad periodontal. Cifras de regiones cercanas y poblaciones similares a la ecuatoriana se presentan de Colombia y México. Angarita y Mejía en el 2000, muestran una prevalencia del 85% en niños colombianos de 5 a 14 años de edad. En México, Orozco y colaboradores en el 2002, observa alteraciones periodontales en 44% de escolares y Juárez-López (2004) el 70% de alteraciones periodontales en preescolares (García, 1990) (Glickman, 1994) (Angarita BP, Mejía AC, 2000) (Orozco y colaboradores, 2002) (Juárez-López, ML y cols, 2004).

La prevalencia de la gingivitis es baja en años de preescolares, aumenta en la niñez y alcanza su máximo en la adolescencia. Debido a que el aumento de gingivitis no aumenta con gran cantidad de placa, existen otros factores que influyen en su desarrollo (Law, 2014) (Demir T, Orbak R, Tezel A, Canakc V, Kaya H, 2009).

2.2.2 Factores de riesgo de enfermedad periodontal

Los factores de riesgo de la enfermedad periodontal, son muy variados y se pueden clasificar dentro de los que pueden ser modificados y los que no son modificables. Así, se menciona a los verdaderos factores de riesgo, los indicadores de riesgo, los determinantes y los predictores del riesgo (Escudero, Perea, & Bascones, 2008).

Dentro de los modificables tenemos el hábito de fumar y los malos hábitos de higiene bucal, mientras que en los no modificables se presentan a los pacientes con enfermedades crónicas como la diabetes mellitus, la predisposición genética, la edad, sexo, raza, nivel socioeconómico o cambios hormonales en adolescencia. Se menciona también los factores relacionados con microorganismos presentes en cavidad bucal. Los patógenos periodontales que más riesgo presentan son: “*Porphyromona gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*” (Alvear FS, 2010).

2.2.3 Susceptibilidad del huésped

La predisposición de algunos pacientes por desarrollar la enfermedad periodontal, muestra por la capacidad de respuesta o no respuesta frente a una agresión bacteriana, es uno de los factores que más importancia tienen en la etiopatogenia de esta patología. La aparición y desarrollo de la enfermedad periodontal dependerá de la capacidad del huésped a defenderse y estará asociado con factores genéticos y ambientales. Algunos de los factores que afectarán la susceptibilidad del huésped son el consumo de cigarrillo, el estrés y lo que se conoce como el “quorum sensing” (Escudero, Perea, & Bascones, 2008) (Alvear FS, 2010).

El Quorum sensing es un sistema de comunicación que existe entre las bacterias y que regula la expresión de los genes con respecto a la densidad celular (Pillaca, 2016).

Se describe en esta comunicación a la biopelícula, la cual es una capa con densidad poblacional baja, que crecen asintóticamente. Su presencia no es percibida hasta que se desarrolle y su concentración sea elevada. Así, se permite un gran desarrollo de la película antes de ser diagnosticada. Una vez se ha incrementado la densidad bacteriana, se produce la liberación de un polímero para permitir la unión de estos patógenos con tejidos vitales. Esto da como resultado una resistencia del biofilm difícil de controlar y no efectiva al uso de antimicrobianos (Pillaca, 2016).

2.2.4 Formación de la placa bacteriana o biofilm

La formación de la placa bacteriana es el resultado de una serie de procesos complejos que involucran algunos componentes bacterianos de la cavidad bucal del huésped. Estos procesos inician con la formación de la película adquirida que recubre la superficie dentaria, para que esta no se encuentre en contacto directo con la cavidad bucal. La película adquirida es una capa acelular, principalmente conformada por glucoproteínas que ocupa los espacios microscópicos de las imperfecciones de la superficie dental y de la desmineralización ácida (Harris, 2001).

Al realizar una profilaxis se retira esta película, sin embargo vuelve a formarse inmediatamente y se la encuentra reestructurada, condensada, madura y con producto bacteriano nuevamente en una semana. La colonización de la película adquirida sirve como nutrientes para las bacterias ya que ellas degradan por medio de las colagenasas

bacterianas, a las proteínas salivales abundantes en prolina liberan péptidos y aminoácidos y se puede potencializar el crecimiento de microorganismo como los actinomicetos y espiroquetas, por medio de las mucinas salivales. Se conoce que algunas glucoproteínas de la película sirven como receptores de proteínas bacterianas de fijación las cuales contribuyen con la adhesión bacteriana al diente (Harris, 2001).

La película adquirida ha sido estudiada por tener varias funciones beneficiosas como la protección de la superficie del diente por un desgaste excesivo, restricción de difusión de sustancias nocivas, inhibición de adhesión de patógenos extraños específicos y el favorecer la colonización de microorganismos protectores (Harris, 2001).

Una vez formada la película adquirida, se inicia en dos horas la formación de la placa dental y con ella la colonización de las bacterias con apoyo de nutrientes de la saliva y alimentos del huésped. Para que la placa duplique su masa se requiere cerca de dos días, cambia en los primeros cuatro a cinco días y se la considera estable alrededor del día veintiuno. El incremento de su grosor se limita según la difusión del oxígeno hacia las poblaciones que estén colonizando, así se explica cómo los anaerobios facultativos sobreviven en la profundidad de la placa dental (Harris, 2001).

Debido a que los microorganismos suelen ser retirados de los dientes durante la masticación de alimentos, por movimientos de la lengua, cepillado de las unidades dentarias, barrido con enjuagues bucales y otras actividades de higiene bucal, las bacterias en la cavidad bucal se acumulan en ambientes aislados. Los microorganismos se ubican en sitios donde no puedan verse afectados, como en fisuras oclusales, superficies apicales al punto de contacto entre los dientes adyacentes y el surco gingival (Harris, 2001).

La acumulación de la placa dental o biofilm está determinada por múltiples factores como el desplazamiento mecánico, estancamiento, disponibilidad de nutrimentos, interacciones entre los microorganismos y los sistemas inflamatorios e inmunitarios del huésped (Harris, 2001).

El biofilm es una película adherente, pegajosa e incolora desarrollada constantemente en los dientes, formado por la acumulación de agentes microbianos complejos acompañados de azúcares. La película se forma por la interacción de bacterias que producen un nicho ecológico el cual favorece el crecimiento y la supervivencia de especies proteolíticas anaerobias, otorgando así condiciones apropiadas para el desarrollo

de enfermedades en encías, carie dental y puede endurecerse si no se la retira constantemente formando cálculo dental (Caridad, 2011).

El biofilm está conformado en un 75% de glicocálix, organizado en forma de colonias adheridas a distintas superficies, polímeros bacterianos extracelulares, productos salivales y exudado gingival, los cuales le dan su composición única, diversa y compleja (Perez, 2013).

La formación del biofilm fue observada la primera vez por Antoni van Leeuwenhoek en 1663, quien describió su composición como un acumulo de restos de comida, depósitos blandos y microorganismos. Años después, Black describió a la placa dental por su aspecto gelatinoso y blando. Actualmente se describe su formación en cuatro fases o estadios que describen tanto su aparición como características específicas de cada una de ellas (Enrile & Fuenmayor, 2010).

En el primer estadio o fase I, se detalla la formación de la biopelícula sobre la superficie limpia de la pieza dental, compuesta por glucoproteínas y anticuerpos. Esta película adquirida modifica la carga y la energía de la superficie dental favoreciendo así a posterior adhesión bacteriana (Enrile & Fuenmayor, 2010).



Gráfico 1. Primer estadio o fase I de formación del biofilm

Fuente: Enrile, Francisco; Fuenmayor, Enrique. Manual de higiene bucal. Edit Panamericana. 2010 (Enrile & Fuenmayor, 2010, pág. 3)

En el segundo estadio o fase II, se detalla la adhesión de bacterias específicas a la biopelícula. Los primeros colonizadores que se describen son *Streptococcus* y posteriormente se suman especies bacilos gram positivos que a interaccionar con otras bacterias, aumentan su cantidad y forman estructuras complejas en forma de mazorca de maíz (Enrile & Fuenmayor, 2010).



Gráfico 2. Segundo estadio o fase II de formación del biofilm

Fuente: Enrile, Francisco; Fuenmayor, Enrique. Manual de higiene bucal. Edit Panamericana. 2010 (Enrile & Fuenmayor, 2010, pág. 3)

En el tercer estadio o fase III, se produce la multiplicación bacteriana, en este estadio predominan microorganismos con formas filamentosas gram positivas como los *Actinomyces sp.* (Enrile & Fuenmayor, 2010).

Gráfico 3. Tercer estadio o fase III de formación del biofilm .

Fuente: Enrile, Francisco; Fuenmayor, Enrique. Manual de higiene bucal. Edit Panamericana. 2010 (Enrile & Fuenmayor, 2010, pág. 3)

En el cuarto estadio o fase IV se produce la coagregación de nuevas especies bacterianas por las condiciones que la fase III otorga. En esta etapa se produce la adhesión de *Veillonella sp*, *Fusibacterium sp.* y otras bacterias gram negativas (Enrile & Fuenmayor, 2010).



Gráfico 4. Cuarto estadio o fase IV de formación del biofilm.

Fuente: Enrile, Francisco; Fuenmayor, Enrique. Manual de higiene bucal. Edit Panamericana. 2010 (Enrile & Fuenmayor, 2010, pág. 3)

La acumulación bacteriana inicial en el biofilm se da por medio de distintos tipos de adhesión específica que posee la superficie celular. Se clasifica a los posibles mecanismos moleculares de la adhesión bacteriana como: a) interacciones hidrófobas, b) enlaces de calcio, c) polisacáridos extracelulares y d) apéndices superficiales (Harris, 2001).

La adhesión mediante enlaces hidrófobos, se forma entre las cadenas laterales de los aminoácidos fenilalanina y leucina y moléculas vinculadas a la pared celular de los microorganismos como la glucosiltransferasa de los estreptococos, la cual es una enzima que convierte la porción glucosa en un polisacárido extracelular permitiendo la unión de la bacteria con la película adquirida (Harris, 2001).

Los enlaces de calcio con carga positiva unen a las superficies de la célula bacteriana con la película adquirida ambos con carga negativa. Al ser reconocido como una unión débil de fácil desgarre, se cree que la formación de enlaces de calcio tiene importancia únicamente durante el inicio de la placa (Harris, 2001).

El mecanismo de adhesión que utilizan algunos microorganismos como los estreptococos, es el sintetizar polisacáridos extracelulares por medio de la enzima glucosiltransferasa. Al sintetizar glucano y unirlo con puentes de hidrogeno se obtiene la adhesión bacteriana, que posteriormente son sepultadas por producción de glucano adicional (Harris, 2001).

Por último, como mecanismo de adhesión algunas bacterias presentan apéndices o fimbrias, las cuales en su superficie contienen adhesina que enlaza los componentes sacáridos de las glucoproteínas mediante puentes de hidrógeno de la película adquirida facilitando la colonización bacteriana (Harris, 2001).

Se reconoce a mecanismos de adhesión bacteriana durante la formación de la placa dental descritos anteriormente, como los más probables, sin embargo se carece aún de evidencia sobre las verdaderas moléculas de enlace en la placa dental o entre la placa y la superficie dental (Harris, 2001).

Según Enriele & Fuenmayor (2010), “al aumentar el espesor la difusión hacia adentro y fuera de la biopelícula es cada vez más difícil su remoción”, el espesor de esta película otorga las condiciones anaerobias por recubrimiento de capas que disminuye el oxígeno lo cual permite la variabilidad de especies bacterianas (Enriele & Fuenmayor, 2010).

Se reconoce así que el biofilm está compuesto por distintas bacterias causantes de enfermedades y que su acumulación incontrolada está asociada directamente con caries y enfermedades periodontales como la gingivitis y periodontitis (Perez, 2013).

El control del biofilm es arduo debido a que se lo asocia con múltiples procesos infecciosos de transcurso y formación lenta. En sus zonas más profundas se concentran microorganismos organizados en capas más densas que forman una matriz de polisacáridos unidos a otros materiales orgánicos e inorgánicos, por lo que su remoción es aún más difícil (Perez, 2013) (Enriele & Fuenmayor, 2010).

La etiología de las enfermedades periodontales es altamente compleja y las propiedades tanto físicas y químicas de las bacterias facilitan su unión con la película

adquirida por lo que una efectiva y eficiente higiene bucal es el medio más recomendado para controlar la población microbiana del biofilm. La eliminación mecánica de la placa dental por medio del cepillado dental, uso de hilo dental y otros auxiliares de higiene interdental es el mecanismo de control primario más efectivo para la prevención y el control de las enfermedades periodontales (Rizwana, 2013).

La placa dental ha sido reconocida como factor etiológico en el desarrollo de las enfermedades periodontales, como la gingivitis. El control de su formación desde la niñez, evitará la alta frecuencia y gravedad de problemas periodontales e adultos. Sus manifestaciones clínicas primarias se observan con hemorragia fácil con el uso de hilo dental o suave presión con el cepillado, sin embargo no se observa cambios de color o de forma del tejido gingival. Estas reacciones muestran la respuesta inflamatoria de capilares con junto con excreción de elementos celulares y suero (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008).

En niños se puede prevenir el crecimiento del biofilm y la aparición de enfermedades periodontales mediante un cepillado correcto, utilizando dentífrico y enjuagues adecuadas a la edad que contengan diferentes tipos de antibacteriales. De igual manera se debe enjuagar las prótesis y aparatos de ortopedia con antisépticos recomendados (Colgate, 2014).

2.2.5 Clasificación de la enfermedad periodontal

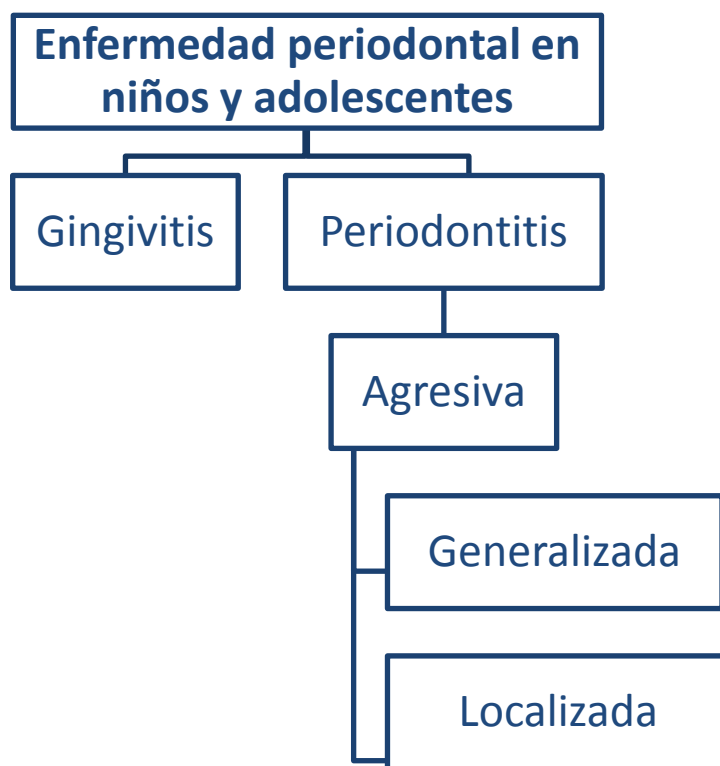


Gráfico 5. Clasificación de la enfermedad periodontal.

Elaborado por: Dra. Ana María Cabezas

2.2.5.1 Periodontitis Agresiva

La periodontitis agresiva es considerada como una patología menos frecuente, sin embargo es severa y de rápida progresión, se caracteriza por tener una iniciación temprana, usualmente en incisivos y primer molar definitivo y tiene propensión al contagio familiar (Shaddox LM y cols, 2012).

Esta es una enfermedad con poca frecuencia, comparada con la periodontitis crónica y se caracteriza por tener una evolución mucho más acelerada y ocasionar una destrucción importante de los tejidos de sostén (Newman, 2004).

2.2.5.1.1 Periodontitis Agresiva Localizada

La periodontitis agresiva localizada, ocurre con mayor prevalencia en pacientes adolescentes, se caracteriza por una hiper respuesta a la infección bacteriana (Newman, 2004).

Su afectación es directa y localizada en los tejidos de inserción abarcando uno o dos dientes (Lindhe, 2009).

2.2.5.1.2 Periodontitis Agresiva Generalizada

La periodontitis agresiva generalizada se presenta en distintas edades poblacionales, usualmente en pacientes con deficiencias en su sistema inmune que lo predisponen sufrir una amplia destrucción de tejidos y estructuras y de la zona de sostén del diente (Newman, 2004).

Su afectación se caracteriza por la extensión en las lesiones, siendo superior al 30% de unidades dentarias, considerando incisivos y primeros molares (Lindhe, 2009).

2.2.5.2 Enfermedades gingivales de la niñez

La enfermedad más común tanto en niños como en adolescentes es la gingivitis, la cual afecta hasta a un 70% de niños mayores de siete años. La principal característica de esta patología es que la inflamación se limita a encía marginal, con leve e indetectable pérdida de hueso o de inserción de tejido conjuntivo. La principal etiología de esta patología se la atribuye a la placa dental asociada con una higiene bucal deficiente. La gingivitis tiene una alta prevalencia en la población infantil sin embargo su severidad no es tan grave como en los adultos (Law, 2014).

La gingivitis es causada por la acumulación de placa bacteriana como resultado de una ineficiente higiene bucal, en la cual los tejidos se inflaman por respuesta directa de las bacterias presentes. La gingivitis consta como una condición reversible, pero su inflamación puede, en algunos casos, preceder a la periodontitis. Se han revelado entre 10 a 15 especies de patógenos periodontales entre los que más prevalecen son *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Tannerella forsythensis*. Estos tres patógenos

periodontales han sido asociados con la placa sobre el primer molar permanente inferior de niños sin distinguir entre su etnia o su nivel socioeconómico (Gafan, 2014).

2.2.6.1 Características clínicas y microbiológicas de la enfermedad gingival en niños

Las características clínicas de la enfermedad gingival son el cambio de color, tamaño, consistencia y textura de tejidos, con una inflamación roja y lineal acompañada de aumento de la vascularización e hiperplasia de los tejidos (Law, 2014).

En cuanto a la microbiología de la enfermedad periodontal, se debe tomar en cuenta que la composición de la microflora bucal cambia conforme el niño madura, por lo que al analizar muestras de placa dental en niños se encuentran distintos patógenos periodontales (Law, 2014).

Actualmente se reconoce una variada asociación de patógenos periodontales, que se han clasificado según Ortega (2006) en ampliamente asociados y moderadamente asociados como se muestra en el cuadro a continuación (Ortega, 2016).

2.2.6.2 Patógenos periodontales

Tabla 1. Especies bacterianas asociadas a la periodontitis: clasificación de ampliamente y moderadamente asociadas.

Especies bacterianas asociadas a la periodontitis	
Ampliamente asociadas	Moderadamente asociadas
<i>Actinobacillus /Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacteroides forsythus</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Treponema denticola</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Eubacterium sp</i>
<i>Capnocytophaga sp.</i>	

Fuente: Ortega, P. La enfermedad periodontal, concepto, causas y tratamientos 2016 (Ortega, 2016).

Elaborado por: Ana María Cabezas E

El microorganismo en 1912 fue aislado por primera vez por Klinger, pero años más tarde, recién en 1929 Wilson lo denominó *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Tras varios estudios de su ADN, se comprobó una similitud importante en cuatro bacterias, entre ellas el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* quienes pasaron a conformar un nuevo género llamado *Aggregatibacter*, de aquí su denominación actual *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Ramos D y cols, 2010) .

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ha sido reconocido en la cavidad bucal desde temprana edad en la infancia, relacionada principalmente con periodontitis agresiva y también con periodontitis crónica. Se han reportado estudios sobre la capacidad del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* para invadir el endotelio coronario y su presencia en la placa aterosclerótica (Bozdogan, E. y cols, 2016; Ishihara K y cols, 2004; Nakano K y cols, 2009; Haraszthy VI y cols, 2000; Padilla y cols, 2006).

Estudios en niños entre 2 y 18 años, muestran que la relación entre la enfermedad gingival con microorganismos como la *Porphyromona gingival* y el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es de 60% y 75%, respectivamente. La *Porphyromona gingival* se relaciona con el progreso de gingivitis y la periodontitis en niños sanos, mientras que el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* se encuentra en mayor cantidad en niveles subgingivales en gingivitis y periodontitis en niños (Morinushi T, Lopatin DE, Van Poperin N, Ueda Y, 2000).

El estudio realizado por Calvaca y colaboradores (2009), midió muestras de biopelículas gingivales en niños para evaluar que patógenos están asociados con la inflamación gingival y el índice ceo, encontrando que la presencia de *Streptococcus mutans* fue del 71,9% con un índice ceo de 6,68. En cuanto a los patógenos periodontales se encontró que niños con hemorragia media y alta por enfermedad periodontal se presentaba la *Porphyromonas gingivalis* en un 99,0%, la *Tannerella forsythia* en un 58,7%, la *Prevotella intermedia* en un 58,2%, el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en un 41,3% y el *Campylobacter rectus* en un 40,8% (Calvaca, 2009).

Al realizar un análisis epidemiológico de la prevalencia de patógenos periodontales clasificándolos según la edad de la población a estudiar, Cortelli y colaboradores (2008) hallaron que cada uno de los patógenos tiene mayor o menor concentración en distintos

tejidos de la cavidad bucal como en el surco gingival, las mejillas y la lengua y en distintas edades de los pacientes. Determinaron que *Campylobacter rectus* se encuentra tanto en el surco como en mejillas y lengua y está presente en todas divisiones de edad desde recién nacidos hasta adultos mayores. Las *Porphyromonas gingivales* se las encontró en mayor cantidad en el surco gingival, asociándolas con presencia de dientes y siendo directamente proporcional con periodontitis en mayores de 19 años. A la *Prevotella intermedia* y a la *Tannerella forsythia* se las encontró en todos los tejidos de todos los pacientes, a la primera en mayor cantidad en pacientes entre 6 a 12 años y la segunda con altas concentraciones entre los 0 y 4 meses de edad y los 2.5 a 5 años, aumentando aún más entre los 6 a 12 años. Por último, al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se lo reconoce como un patógeno putativo en periodontitis agresiva, presente en lengua, mejillas y surco gingival, con un 28% más en surco que otros patógenos y se lo encuentra esporádico, con un 20% de hallazgo pero está presente en todos los grupos de edad desde los 0 meses hasta los 55 años (Cortelli, 2008).

El estudio de Díaz y colaboradores (2012), refiere como las bacterias periodontopatógenas a las *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* las cuales pueden causar daño en estructuras periodontales directamente por medio de los factores de virulencia que estas poseen. Se describe así factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* como la fimbria, lipopolisacáridos y la cápsula bacteriana, y los factores del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* como la leucotoxina A, toxina distensora citoletal (Cdt) y los lipopolisacáridos. Cada uno de sus genotipos y serotipos producen respuestas inmuno inflamatorias distintas que producen patogenicidad y determinan características clínicas específicas de la enfermedad (Díaz, 2012).

El estudio realizado por Gafan y colaboradores (2014), de prevalencia de patógenos periodontales en placa dental en niños de muestra que *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Tannerella forsythensis* como los principales agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. Los porcentajes de prevalencia que obtuvieron en esta investigación fueron de *Porphyromonas gingivalis* un 49%, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 55% y *Tannerella forsythensis* 65% en pacientes sin presencia de gingivitis, y de *Porphyromonas gingivalis* un 47%, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* un 59% y *Tannerella forsythensis* un 45% en pacientes con presencia de gingivitis. Esta investigación evidencia un aumento de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes con presencia de enfermedad periodontal. La

presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en niños de 0 a 2 años fue detectado entre el 40% a 50% de poblaciones estudiadas y de un 58% en niños entre 5 a 9 años (Gafan, 2014).

Se ha determinado al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* como un patógeno putativo para la periodontitis agresiva localizada, sin embargo, se lo encontró esporádicamente en el surco, lengua y mucosa de mejilla en 28% de los pacientes todos los grupos de edad sin diagnóstico específico de esta patología (Cortelli, 2008) (May AC, Ehrlich RL, Balashov S, Ehrlich GD, Shanmugam M, Fine DH, Ramasubbu N, Mell JC, Cugini C, 2016).

La colonización del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se da en edades tempranas desde los 0 a 4 meses y avanza desarrollo con la edad como muestra el estudio de Cortelli (2008), se ejemplifica en el gráfico de barras tomado del autor (Cortelli, 2008).

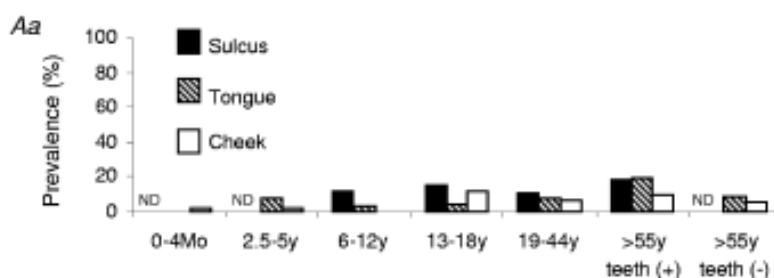


Gráfico 6. Colonización temprana de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Tomado de: Cortelli, JR, *Etiological Analysis of Initial Colonization of Periodontal Pathogens in Bucal Cavity*, (Cortelli, 2008)

El estudio de Lamell y colaboradores (2004) asocia a la *Porphyromonas gingivalis* y al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* como patógenos de factores de riesgo para la periodontitis de inicio temprano y han sido detectados en un tercio de los niños aparentemente sanos. Los dos patógenos fueron detectados en el 48% de la muestra de niños de todas las edades, sugiriendo así una adquisición inicial muy temprana. A controles posteriores se evaluó la permanencia de ambas especies sin cambios en nuevo muestreo manteniéndose estables hasta finales de la adolescencia (Lamell, 2004).

Dado que el proceso de colonización bacteriana se da en estadios tempranos de la vida, es importante que se identifique que niños necesitan tratamientos bucales más efectivos para poder minimizar el riesgo de enfermedades periodontales a lo largo de su vida (Cavalca, 2009).

La investigación de Campos, (2016) en mujeres con embarazos normales y sin complicaciones muestra que la enfermedad periodontal es algo común durante esta etapa de la vida. Se evidencia la presencia de bolsas periodontales sangrantes, gingivitis y cálculo dental tanto en el 2do semestre y después del parto a las 48 horas y 8 semanas posteriores. En cuanto a la microbiología, se evidencia la presencia en decrecimiento durante el embarazo de *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *P. gingivales*, *T. denticola* y *C. rectus* y el incremento de *A. actinomycetemcomitans*. A pesar que este aspecto no es evaluado en este estudio, otros autores han identificado a estos patógenos periodontales como un efecto adverso en el embarazo, incluyendo partos prematuros y bajo peso al nacer de los niños (Campos, 2016) (Machado FC, Cesar DE, Assis AV y cols, 2012) (Emmaty R and cols, 2013).

Al realizar mediciones de patógenos en mujeres durante su embarazo y después de su parto, Machado y colaboradores (2016) encontraron que existe un decrecimiento en el conteo de *Prevotellanigrescens*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus* y *Porphyromonas gingivales*, sin embargo se encuentra un aumento significativo en el conteo de la cepa *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Dado que el primer contagio del bebé es a través de su madre el aumento del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es trascendental para la salud bucal del niño (Machado, 2016).

La presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en niños sanos en temprana edad ha sido identificada tanto en muestras dentales y salivales por algunos autores con distintos porcentajes entre 5,5% y 30% de las poblaciones estudiadas. La colonización temprana de patógenos periodontales ha sido sugerida como un factor de riesgo para futuras enfermedades periodontales para el huésped susceptible (Bozdogan, E. y cols, 2016).

Lamell y cols (2004), describe la adquisición y estabilidad en la colonización del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivales* en niños como un factor de riesgo de periodontitis en adultos. Estos patógenos periodontales han sido hallados

en un tercio de niños sanos, entre 0 y 18 años sugiriendo una adquisición inicial muy temprana, y se puede considerar estable en la adolescencia (Lamell, 2004).

La periodontitis de aparición temprana afecta aproximadamente al 0.2% de la población menor de 20 años, se conoce que consistentemente está asociado con la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* como patógeno periodontal principal en sitios localizados (American Academy of Periodontology, 1996). Al evaluar la presencia en pacientes entre 2 a 22 años, se observa una mayor colonización entre los 7 y 11 años con un 38% de porcentaje de pacientes con *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Lamell, 2004).

2.2.6.3 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Tabla 2. Especificaciones científicas del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	
Reino	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Pasteurellales</i>
Familia	<i>Pasteurellaceae</i>
Género	<i>Aggregatibacter</i>
Especies	<i>Actinomycetemcomitans</i>

Elaborado por: Ana María Cabezas

Fuente: (Nørskov-Lauritsen N, Kilian M, 2006) (Ramos D y cols, 2010)

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* fue aislado por primera vez en 1912 como un *Bacterium actinomycetum* por Klingler y tras varios estudios de su DNA fue reclasificado al género de *Aggregatibacter*. Su morfología es de cocobacilo, no móvil, capsulado y con fimbrias, que se desarrolla más efectivamente en condiciones anaerobias con lipopolisacaridos en su pared celular como patógeno gram negativo que es (Ramos D y cols, 2010).

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es un cocobacilo, gram negativo, capnófilico, no móvil, implicado en la etiología de la periodontitis agresiva con distintos factores de virulencia como las leucotoxinas, lipopolisacaridos (LPS) y las toxinas distensoras del citoesqueleto (Cdt) (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012).

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se lo asocia en un 90% con periodontitis localizada agresiva y entre un 30 a 50% en periodontitis severa en adultos (Raja, M y cols, 2014).

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* también se lo reconoce como el agente causante de la periodontitis localizada juvenil, caracterizada por una destrucción rápida de los tejidos de soporte dental (Raja, M y cols, 2014).

La virulencia es la capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad o interferir con los procesos metabólicos o fisiológicos del huésped (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012). Los factores de virulencia tienen múltiples funciones como la adhesión, invasión, crecimiento y evasión de la respuesta inmune para sobrevivir en los tejidos y células del huésped (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012).

La virulencia del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se debe a múltiples factores como la producción de enzimas y toxinas, su capacidad para modificar la respuesta inmune del huésped y elementos estructurales propios del patógeno (Ramos D y cols, 2010) (Ramos, 2011).

Las dos especies periopatógenas, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromona gingivalis*, por factores de virulencia específicos asociados al inicio, progresión y severidad de la periodontitis pueden causar daño directo a estructuras periodontales. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se asocia con la periodontitis agresiva y el desarrollo de trastornos cardiovasculares. Este periopatógeno presenta leucotoxina C, Cdt y LPS como los factores de virulencia asociados a la enfermedad periodontal y que determinan características clínicas de la enfermedad (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012).

El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* posee gran número de factores de virulencia con múltiples funciones como el permitir la colonización de la cavidad bucal, invadir tejidos periodontales, evadir las defensas del huésped, iniciar la destrucción del tejido conectivo y el interferir en la reparación tisular. La adhesión del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* al tejido epitelial y la estructura dentaria depende de la presencia de la proteína de superficie, micro vesículas y fimbrias del patógeno (Raja, M y cols, 2014).

La leucotoxina A da la capacidad al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* para eliminar leucocitos, participa en la evasión de la respuesta inmune y la invasión tisular. La

acción más interesante la leucotoxina A es su potencial de inducir apoptosis en bajas concentraciones y necrosis en altas concentraciones (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012).

La toxina distensora del citoesqueleto Cdt se ha encontrado en el 77% de pacientes diagnosticados con periodontitis agresivas, la cual permite la unión e invasión celular y produce daño en el DNA deteniendo el ciclo en células del sistema inmune como macrófagos y linfocitos T. Existe evidencia que muestra que los fibroblastos del ligamento periodontal no son susceptibles a esta toxina (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012) (Heywood W, Henderson B, Nair SP, 2005).

Se han determinado que existen por lo menos seis serotipos de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (a, b, c, d, e, y f,) basándonos en las diferencias en el resto de carbohidratos del lipopolisacáridos de la superficie celular, nombraremos a los más relevantes de estos serotipos (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012) (Heywood W, Henderson B, Nair SP, 2005).

- El serotipo a se encuentra comúnmente en cavidad bucal sin causar daño al hospedador.
- El serotipo b está comúnmente implicado en las periodontitis agresivas.
- El serotipo c está relacionado con la enfermedad periodontal en adultos.

Al presentar *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, se evidencia mayor daño estructural debido a la separación de los estratos epiteliales en las uniones intercelulares que crea la Cdt. Este factor de virulencia también tiene la capacidad de inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias del sistema de defensa del huesped (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012). Su asociación se ha evidenciado en el 70,6% de pacientes con periodontitis crónica, 100% de pacientes con periodontitis agresiva generalizada y la CdtA en 33,3% y CdtB en 37,5% de pacientes con periodontitis agresiva localizada (Xynogala I y cols, 2009).

Los lipopolisacáridos del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se encuentran en su membrana externa, mantienen la integridad bacteriana y facilita el anclaje de otras proteínas. Como función principal tienen la resistencia a la fagocitosis y la evasión a la respuesta inmune de los macrófagos y neutrófilos. Los serotipos más frecuentes son a, b y c, siendo el b identificado con mayor frecuencia en pacientes que presentan periodontitis agresiva (Díaz-Zúñiga J y cols., 2012).

2.2.6.3.1 Enfermedades asociadas a las enfermedades periodontales y al *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

La falta de conocimiento de los padres sobre el cuidado y la higiene bucal y el consumo permanente de medicación azucarada traen como resultado la afectación dental y periodontal en la salud de los niños con enfermedades cardíacas, volviéndolos más susceptibles (Bozdogan, E. y cols, 2016). Los procedimientos dentales que causan sangrado como de hábitos en la rutina de higiene bucal pueden ser los causales de ingreso de patógenos periodontales en el sistema sanguíneo e invasión del endotelio coronario hasta causar una bacteremia (Bozdogan, E. y cols, 2016).

Es de importancia manejar la colonización de los patógenos periodontales para una prevención y tratamiento periodontal de la enfermedad, sobretodo en niños con dentición mixta donde los patógenos permanecen en áreas alrededor del diente primario exfoliado y sobreviven en el tejido gingival sobre el diente permanente sin necesariamente mostrar rasgos de periodontitis (Bozdogan, E. y cols, 2016).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans afecta a los tejidos periodontales, infecta válvulas del corazón, tejidos suaves, cerebro, pulmones y huesos distales, sin embargo osteomielitis a distancia de la mandíbula han sido muy escasamente reportadas. Sharman reporta un caso inusual y raro de osteomielitis crónica en huesos de pie causada por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en un paciente pediátrico que tuvo que ser manejada terapéuticamente con antibióticos intravenosos y bucales. La violenta infectividad de este patógeno está determinado tanto por sus factores de virulencia como por el sistema inmunitario del huésped que facilita su invasión y retarda su recuperación, por lo cual es importante realizar prevención sobre la bacteremia que pueden causar los patógenos de cavidad bucal. (Sharma et al, 2017).

Siendo el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* un patógeno oportunista, aislado en pacientes con distintas patologías como actinomicosis, endocarditis infecciosas, osteomielitis, glomerulonefritis, endoftalmitis, neumonía, absceso cerebral y hepático y enfermedades cardiovasculares, es de vital importancia la prevención de este patógeno periodontal (Ramos D y cols, 2010).

La agresividad de la virulencia del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ha sido reportada en un caso de una niña de 1,5 años de edad con endocarditis que involucra una

válvula pulmonar. Se considera a este patógeno periodontal como una de las causas principales de endocarditis por infección de gram negativos en pacientes pediátricos. El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* logra entrar a compartimientos vasculares por infecciones dentales, procedimientos odontológicos y bacteremia espontaneas resultado de la masticación, la cual debe ser intervenida de manera urgente con antibiótico terapia prolongada a nivel sistémico para evitar mayores complicaciones (Shles, A, Wolach B, Levi A, Gottesman G, 2010).

El estudio de Bozdogan (2016) muestra la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes con enfermedades cardíacas congénitas los cuales por su cuidado en su salud y prevención de complicaciones deberían estar libres de estos patógenos periodontales (Bozdogan, E. y cols, 2016).

Al estudiar la prevalencia de patógenos putativos periodontales en pacientes diabéticos tipo I se determinó la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en un 20%, lo cual aumenta en este grupo de estudio su riesgo a periodontitis (Arangannal, P y cols, 2013).

2.2.6.3.2 Relación de adolescentes con *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

El estudio de Fine (2007), evaluó la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en adolescentes, obteniendo un 13,7% de pacientes positivos, los cuales se subdividieron en pacientes sin patología periodontal, pacientes con inicio de gingivitis y bolsas periodontales y pacientes con enfermedad periodontal, mostrando así la presencia del patógeno periodontal en pacientes sanos (Fine D. , 2007). La presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* si se la ve asociada a perdida de hueso de soporte de tejido dentario en adolescentes, por lo que se atribuye su presencia en largo periodo de tiempo en la cavidad bucal de estos pacientes (Fine D. H., 2013).

Al realizar mediciones sobre la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en la placa dental de adolescentes de 12 a 19 años en Hawái, se determinó una prevalencia moderada a alta del 85.1% a nivel supra gingival y de 67,3% a nivel sub gingival, sin diferencias significativa del sexo de la muestra (Psoter, WJ y cols, 2011).

2.2.6.3.3 Relación de pacientes con diversidad funcional con *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Estudios realizados en la placa dental subgingival de segundos molares temporal de niños preescolares y escolares de 1 a 6 años de edad con diversidad funcional de tipo retardo mental, parálisis cerebral y autismo, han logrado identificar distintas cepas de patógenos periodontales. Las especies detectadas más frecuentes son *Capnocytophaga sputigena* con un 28.3%, seguido de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* con 20.9% y *Campylobacter rectus* el 18.2% (Naka S y cols, 2009).

2.2.6.3.4 Tratamiento mecánico y antimicrobiano para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Actualmente no se conoce un protocolo de tratamiento que sea capaz de controlar en su totalidad a la periodontitis, por la complejidad de sus diversas causas. Se utiliza como procedimientos una combinación de tratamientos mecánicos y antibiótico terapia sistémica debido a que los patógenos periodontales no se eliminan completamente por remoción de la placa dental. Los tratamientos con antibióticos mantienen ciertas limitaciones debido al incumplimiento de los pacientes que dificulta mantener concentraciones antimicrobianas adecuadas y provocan complicaciones médicas como reacciones alérgicas, problemas gastrointestinales y resistencias bacterianas. Debido a estas razones, las enfermedades periodontales deben en asociación con sustancias químicas con efectos antiplaca y antimicrobianas para inhibir la reproducción bacteriana (Najafi S y cols, 2016).

El tratamiento mecánico debe abarcar la fase 1 de la terapia periodontal, en la cual se elimine la placa bacteriana y cálculo tanto supra como subgingival. En algunos casos de unidades permanentes se debe realizar alisados de la superficie radicular para evitar retención de placa en superficies rugosas (Ramos D y cols, 2010) (Ramos, 2011).

En la terapia sistémica en casos severos, se trata en dosis según el peso del paciente con amoxicilina con metronidazol cada 8 horas por 7 días o amoxicilina más ácido clavulánico cada 12 horas por 7 a 10 días (Ramos D y cols, 2010) (Ramos, 2011).

En terapia antimicrobiana química se recomienda la clorhexidina al 0.12% por su eficacia comprobada para este patógeno periodontal, utilizado 2 veces al día por 10 a 14 días (Ramos D y cols, 2010) (Ramos, 2011). Sin embargo, su uso presenta algunas

limitaciones, contraindicaciones y efectos secundarios por lo que el estudio de productos de higiene bucal, que puedan ser utilizados en pacientes pediátricos, es de suma importancia para el control bacteriano.

2.3 Productos de higiene bucal pediátricos

2.3.1 Dentífricos

Los dentífricos han sido reconocidos a lo largo del tiempo, como los principales productos eficaces de administración tanto cosmético y terapéutico en boca, y son los productos más comercializados y vendidos entre los productos dentales. Dentro de sus características funcionales está la prevención de sarro y caries, la eliminación de la hipersensibilidad, disminuye la placa y gingivitis y también tiene el potencial de blanquear los dientes (Harris, 2001).

Para que sus múltiples funciones ocurran, cada pasta tiene distintas composiciones, de aquí se origina la importancia de conocer cuáles son y cómo elegir el dentífrico más apropiado.

2.3.1.1 Composición de los dentífricos pediátricos

Durante los últimos años, los dentífricos han sido utilizados tanto con propósitos cosméticos como terapéuticos dependiendo de su composición, la cual se la detalla a continuación.

Tabla 3. Composición de los dentífricos.

Composición de los dentífricos	
Ingrediente	Porcentaje
Abrasivos	20 a 40
Agua	20 a 40
Humectantes	20 a 40
Espumante	1 a 2
Fijador	hasta 2
Saborizante	hasta 2
Edulcorante	hasta 2
Agente terapéutico	hasta 5
Colorante o conservador	menos de 1
Tomado de Harris, Norman y García - Godoy, 2001 Odontología preventiva primaria	

Elaborado por: Ana María Cabezas

2.3.1.2 Abrasivos y Pulidores

Los abrasivos como el óxido de silicio, óxido de aluminio, bicarbonato y pizarra, son utilizados con el objetivo primario de limpiar los dientes. Como abrasivos en pastas encontramos sílica hidratada, pirofosfato disódico, lactato de calcio, dióxido de silicio, bicarbonato sódico, carbonato de calcio, etc (Harris, 2001).

La abrasividad de una pasta, dependerá de factores intrínsecos de la molécula, como el tamaño de la molécula abrasiva, la dureza y la forma de la partícula; extrínsecos como el efecto acumulado del abrasivo relacionado con la técnica de cepillado, la presión ejercida en el cepillo, dureza de las cerdas, la dirección y cantidad de golpes en cepillado y ciertas características salivales de la persona (Harris, 2001).

Debido a la acción de los abrasivos en el esmalte dental, se agregan pulidores a los dentífricos a base de aluminio, calcio, estaño, magnesio y zirconio (Harris, 2001).

2.3.1.3 Humectantes y conservantes

Los componentes humectantes de los dentífricos tiene como finalidad conservar la humedad y consistencia de la pasta. Dentro de los más comunes tenemos al sorbitol, xilitol, glicerina, manitol y el propilenglicol. La mayor ventaja de su uso es la no presencia de toxicidad en ellos, sin embargo presentan crecimiento de hongos (Harris, 2001).

En cuanto a conservantes encontramos componentes como el benzoato de sodio, metilparabeno y propilparabeno para inhibir el crecimiento de hongos y bacterias en los dentífricos (Harris, 2001).

2.3.1.4 Espesantes y fijadores

En pastas pediátricas encontramos la goma celulosa, carbomer, hidróxido de sodio, carboximetilcelulosa como principales espesantes y fijadores los cuales le dan la textura y realizan la interacción de los distintos ingredientes dentro de los tubos de dentífricos. (Harris, 2001)

2.3.1.5 Detergentes

Una de las funciones principales de los dentífrico es el conservar los dientes limpios, para ello se utilizan los detergentes. El más utilizado es el laurilsulfato de sodio (LSS) el cual tiene propiedades antibacterianas, presenta estabilidad y escasa tensión superficial que permite que fluya sobre las superficies dentales. Las ventajas del laurilsulfato de sodio es su pH neutro, buena compatibilidad con el resto de componentes y un sabor que se puede enmascarar sin embargo estudios realizados sugieren que en algunas enfermedades de mucosa bucal no se debe utilizar dentífricos con LSS. (Harris, 2001)

2.3.1.6 Saborizantes, edulcorantes y colorantes

Dentro de esta categoría tenemos a todos los componentes que le hacen al dentífrico, tener un buen olor, sabor y aspecto. De distintos sabores encontramos el chicle, frutas silvestres, tuttifruti y menta, cada uno con varios pigmentos de colores y dióxido de titanio para los efectos de brillo en la pasta. Los edulcorantes más conocidos utilizados en los dentífricos pediátricos son la sacarina sódica, sorbitol, manitol, ciclamato y hoy en día muy utilizado el xilitol por sus componentes terapéuticos (Harris, 2001).

2.3.2 Enjuagues bucales

Los enjuagues bucales se los utilizan como una terapia coadyuvante con la técnica de cepillado mecánico e hilo dental. Sus ingredientes activos son variados y sus excipientes ejercen efectos sobre la viabilidad bacteriana como surfactantes y conservantes (Rizwana, 2013).

Según Herrera (Herrera, 2014, pág. 76), “la clorhexidina, cloruro de cetilpiridinio, perborato de sodio, aceites esenciales – sustancias que se han comprobado bajar la carga bacteriana –pueden reducir el grado de placa o gingivitis e impiden que los microorganismos causantes de enfermedades se establezcan en colonias”, así su uso está indicado para contrastar la carga bacteriana y beneficiar a los pacientes (Herrera, 2014).

Los enjuagues bucales tienen distintos mecanismos de acción como el disminuir el crecimiento de la placa dental, disminuir o eliminar la placa dental existente, disminuir el crecimiento de bacterias patógenas e inhibir la producción de factores de virulencia de los patógenos (Bascones, Mudaraa, & Perea, 2002) (Herrera, 2014).

2.3.3 Agentes terapéuticos de dentífricos y enjuagues

Dentro de los agentes terapéuticos encontramos al xilitol quien tiene la capacidad de permitir la remineralización de lesiones cariosas incipientes al no ser metabolizado por las bacterias para producir ácido (Harris, 2001). A su vez es utilizado como agente antibacteriano, por su capacidad de inhibir el metabolismo y crecimiento bacteriano. Su mecanismo de acción está determinado por el agotamiento de recursos energéticos de la célula, produciendo así su desgaste y muerte celular por agotamiento de energía (Magalhaes AC, Moron B, Comar L, Buzala M, 2011).

Algunos estudios muestran que las pastas dentales fluoradas con xilitol en un 3 a 10% presentan una mayor efectividad anticaries que una pasta dental con fluoruro convencional, sin embargo no se han reportado estudios sobre su capacidad antibacteriana en patógenos periodontales (Magalhaes AC, Moron B, Comar L, Buzala M, 2011).

Los fluoruros son agentes terapéuticos muy utilizados, por su capacidad de remineralización y cariostática. Se los utiliza como el principio activo indiscutible para la prevención de caries. El fluoruro sódico, monofluorofosfato sódico y los fluoruros de aminas, son las sales más utilizadas por su buena solubilidad, baja toxicidad y su excelente capacidad para liberar el ion flúor en un pH ligeramente ácido. El fluoruro más utilizado es el monofluorofosfato sódico el cual es compatible con materiales abrasivos de los dentífricos. La concentración de los fluoruros es muy variada, se encuentra el fluoruro de sodio desde las 500ppm y el monofluorofosfato desde 900 a 2500ppm (Harris, 2001) (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009) (Bascones & Morante, Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual, 2006).

Como agentes terapéuticos en dentífricos encontramos el nitrato de potasio o cloruro de estroncio, que reducen la sensibilidad dental; el triclosán y la clorhexidina que han sido reportados como reductores de placa bacteriana para el control de enfermedades periodontales. En cuanto al control de la placa dental, se utiliza agentes antisépticos, sin embargo, existen pocas opciones de agentes tóxicamente seguros, que sean compatibles con el resto de ingredientes y que posean sustentividad con el diente para que su eficacia surja efecto (Alves Fernandes, Rita María, 2009).

De los antisépticos más utilizados se encuentra la clorhexidina, que permite unirse a las paredes bacterianas provocando su lisis, pero que presenta algunos efectos secundarios como la pérdida de reconocimiento de sabores y tinciones en los tejidos dentarios posteriores a su uso (Alves Fernandes, Rita María, 2009).

El triclosán tiene la ventaja de no tener mal sabor y no provocar tinciones, es efectivo contra un amplio espectro de hongos y bacterias, sin embargo desde el 2016 presenta ya restricciones de su uso por parte de la Food & Drugs Administration (FDA) por no presentar seguridad completa en su uso. (Administration, 2016)

El cloruro de cetil piridinio es un compuesto de amonio cuaternario catiónico, es decir es un antiséptico que mata a las bacterias y otros microorganismos (Bascones & Morante, 2006).

2.4 Antisépticos

Arévalo, (2009) describe como antiséptico “al biocida que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos sobre tejidos vivos y son menos tóxicos que los desinfectantes”. (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

En este estudio experimental se evaluó tres antisépticos como: la clorhexidina, el cloruro de cetilpiridinio y el xilitol

2.4.1 Características de los antisépticos bucales

Las características que debe tener un antiséptico bucal se resumen en la especificidad a los microorganismos bucales, eficacia para disminuir la cantidad de bacterias de la placa a una concentración no tóxica, sustentabilidad para lograr abarcar una duración apropiada entre la interacción del antiséptico y las bacterias, y seguridad, pues al ser

absorbido por mucosa y tubo digestivo, no debe causar efectos nocivos en el organismo. Se especifica también la eficacia intrínseca que estos compuestos deben tener, la cual es el efecto máximo alcanzable aunque se disuelva o se absorban los componentes (Bascones, Mudaraa, & Perea, 2002).

2.4.2 Mecanismos de acción de los antisépticos bucales

La mayor ventaja de los antisépticos bucales es que sus mecanismos de acción son variados, así, su efectividad en prevención y eliminación de placa bacteriana será mayor. Existen agentes antiadhesivos, otros que inhiben el desarrollo de bacterias y los agentes que causan una acción destructora sobre la placa formada (Bascones & Morante, Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual, 2006).

Los antisépticos bucales con mayor eficacia son los que logran una acción más prolongada en la cavidad bucal, la cual está directamente relacionada con la capacidad de absorción en los tejidos para permanecer un periodo de tiempo largo, el no perder su acción al ser absorbidos y que su proceso de eliminación sea lento para garantizar su eficacia (Bascones, Mudaraa, & Perea, 2002).

2.4.3 Clorhexidina

La clorhexidina es conocida como un antiséptico bactericida, con un mecanismo de acción en el cual su molécula catiónica se une con la pared bacteriana de carga positiva. En concentraciones bajas esta unión altera el equilibrio osmótico de la bacteria y salida de potasio y fósforo para lograr un efecto bacteriostático. En altas concentraciones, se logra un efecto bactericida con la precipitación del contenido citoplasmático de la bacteria. Actúan en contacto con microorganismos tanto gram positivos, gram negativos, anaerobios facultativos, anaerobios y levaduras. Se lo utiliza como enjuague bucal cada 4 horas después de haber ingerido alimentos y como desinfectante tópico en piel y tejidos y en jeringa para habilitación de catéteres (Alderete D. y cols, 2017).

La clorhexidina es una bisguanida catónica, con una actividad antimicrobiana muy importante, pues se une a la bacteria y causa la disrupción de la membrana citoplasmática, altera el equilibrio osmótico y causa precipitación de contenidos celulares. La clorhexidina presenta un efecto residual prolongado con un inicio de acción intermedio. Sus efectos de

toxicidad son variables pues se ha reportado que produce ototoxicidad, queratitis y dermatitis (Maya JJ y cols, 2011).

De los antisépticos del grupo químico de las biguanidas la clorhexidina es el más efectivo, es poco soluble en agua, tiene estabilidad buena en temperatura ambiente y un pH entre 5 y 8. Se conoce su inestabilidad en solución pues necesita ser protegida de la luz (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

El mecanismo de acción de la clorhexidina se basa en la absorción muy rápida por difusión pasiva en las membranas en bacterias, consiguiendo efecto máximo en 20 segundos. Al tener un mecanismo de acción tan eficiente, las soluciones de clorhexidina son bactericidas y fungicidas. Las bacterias gram positivas son más sensibles a la clorhexidina que las negativas, inhibe crecimiento de esporas e inactiva virus con cubiertas lipídicas como el VIH y virus del herpes (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

La clorhexidina tiene múltiples usos como la desinfección en tratamientos de endodoncia, el control de infecciones cruzadas en actos quirúrgicos, detergente para lavado corporal prequirúrgico, uso en quemaduras, reductor de la colonización bacteriana en cordón umbilical y como colutorio para higiene bucal unido a un edulcorante por su amargura (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

Las formas de presentación en colutorios de clorhexidina pueden ser al 0,12% y al 0,2%, se receta 10 ml si la concentración es del 0,2% o 15ml al 0,12% con el cual se deberá realizar el enjuague durante un minuto después de media hora del cepillado dental (Bascones, Mudaraa, & Perea, 2002).

Aun siendo la clorhexidina tan eficiente, se describen sus efectos adversos y de toxicidad después de más de 30 años de investigaciones. Existen reacciones alérgicas o de irritación de piel y mucosa, irritaciones conjuntivales o corneales y al unirse con cromógenos de la dieta produce tinción de los dientes al utilizarse en aplicaciones bucales. De igual manera puede llegar a producir sordera por su ototoxicidad si se lo utiliza en cercanía al sistema nervioso central (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

De los mayores limitantes que se tiene al utilizar el enjuague con clorhexidina, es la decoloración de los dientes y la tinción del dorso de la lengua, de igual manera se decolora restauraciones, sellantes, prótesis y aparatos de ortopedia. Esta coloración se observa

desde la primera semana de uso del enjuague y es mayor en pacientes con más acúmulo de placa bacteriana (Kidd, 1991).

La coloración de las unidades dentarias y lengua, puede en su mayor parte ser eliminada con limpiezas profesionales, sin embargo la coloración de restauraciones, sellantes y demás integrantes en boca puede ser permanente y en la mayoría de casos deben ser reemplazados (Maya JJ y cols, 2011).

Otra de las reacciones adversas del uso del enjuague con clorhexidina es la alteración del gusto, el cual se disminuye con el tiempo y desaparece al terminar el tratamiento, sin embargo causa bastante molestia en los pacientes (Kidd, 1991).

En cuanto a tejidos de la cavidad bucal se ha identificado parotiditis e irritación de la lengua en niños de 10 a 18 años que han utilizado enjuagues bucales con clorhexidina y una intensificación en el acúmulo de sarro dental. Para niños más pequeños una ingesta de más de 100ml de clorhexidina puede dar síntomas de intoxicación alcohólica, náuseas y vómito por lo que su uso es delicado (Alderete D. y cols, 2017) (Kidd, 1991).

Existen reacciones alérgicas locales por el uso de clorhexidina con síntomas como broncoespasmo, tos, disnea, prurito, congestión nasal, rash vesicular, urticaria y picazón (Kidd, 1991) (Alderete D. y cols, 2017).

En cuanto a la teratogenicidad, la clorhexidina está en clasificación B de la FDA lo que significa que se ha realizado estudios en animales sin riesgo teratógeno sin embargo no existe evidencia en embarazadas y en está grupo poblacional no es recomendado (Alderete D. y cols, 2017).

Estudios han demostrado la efectividad de la terapia periodontal al combinar el cepillado con el uso de clorhexidina para la reducción de sangrado gingival en niños, pues la remoción mecánica interdental con la acción química bactericida y bacteriostática dan excelentes resultados (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008) (Binney, 1993) (Quiryneen, 2001).

Estudio de Contreras en el 2008, muestra la eficacia de la clorhexidina conjunto con el control mecánico de la placa, en niños entre 10 a 12 años contra la gingivitis, sangrado y a favor del control de patógenos periodontales (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008).

Se reporta una baja toxicidad sistémica del uso de clorhexidina, sin embargo puede producir lesiones graves en ojos y oídos, irritabilidad de piel y mucosa. A su vez tiene efectos

sobre los fibroblastos gingivales y los neutrófilos causando la lisis y reduciendo la proliferación celular. Por la naturaleza de la sustancia y sus propiedades se reporta una alteración del gusto, sobre todo pérdida de reconocimiento del sabor salado y amargo (Hernandez JJ y Martinez GM, 2004).

2.4.4 Cloruro de Cetilpiridinio

El cloruro de cetilpiridinio (CPC) también es otro compuesto de amonio cuaternario, con espectro de actividad anti-bacteriana. Es utilizado para combatir enfermedades periodontales por su actividad antimicrobiana. Su mecanismo de acción se basa en la carga positiva fuerte y la región hidrófoba del cloruro de cetilpiridinio que permiten la interacción con la superficie celular microbiana y se integra con la membrana celular. A esta interacción le prosigue la fuga de componentes citoplasmáticos en el metabolismo celular por una interrupción de la integridad de la membrana, la inhibición del crecimiento celular y por ende la muerte celular. Por último la coagregación de bacterias, interfiere la maduración de la placa, inhibiendo la síntesis de glucano insoluble por la glucosiltransferasa, adsorbido al esmalte cubierto con película e inhibiendo la coadhesión de bacterias, y uniendo los biofilms (Bascones & Morante, Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual, 2006).

Se recomienda su uso en tratamientos periodontales con una dosis de 15 ml en enjuagues 3 veces al día por 30 segundos como mínimo después del cepillado (Arévalo JM, Arribas JL y cols, 2009).

Dentro de los efectos adversos se reportan muy raros y con leve sintomatología los cambios de coloración de tejidos dentinarios, irritación de mucosas bucales o aparición de aftas bucales. (Bascones & Morante, Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual, 2006).

2.4.5 Xilitol

El xilitol es un alcohol de azúcar de origen natural a base de en plantas y materiales agrícolas. Su uso empezó en los años sesenta para terapia de infusión para pacientes postoperatorios, quemados y de shock, en la dieta para pacientes diabéticos y actualmente como edulcorante en productos de higiene bucal (Janakiram C, Deepan Kumar CV and Joseph J, 2017).

El mecanismo de acción del xilitol se basa en alterar los procesos de producción de energía de la membrana celular, así se conduce a la muerte celular, reduce la formación de placa y la adherencia bacteriana, inhibe la desmineralización del esmalte pues reduce la producción de ácido y tiene un efecto inhibitor directo sobre la mitosis (Janakiram C, Deepan Kumar CV and Joseph J, 2017).

La mayor ventaja del xilitol, es la no presencia de efectos adversos o secundarios durante su uso y ha sido muy bien utilizado para la prevención de caries, sin embargo no se reporta su efecto contra patógenos periodontales.

Partiendo de la revisión bibliográfica e investigaciones observadas, es necesario realizar en nuestro medio un estudio donde se evidencie estas características de los enjuagues bucales pediátricos a base de cloruro de cetilpiridinio y xilitol, conjunto con un control positivo a base de clorhexidina al 0.12%, sobre este tipo de patógeno periodontal que afecta en edades tempranas.

CAPÍTULO III

3. Marco Metodológico

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Este estudio de tipo experimental, in vitro, comparativo, cuanti y cualitativo y comparativo, evaluó si existe o no crecimiento del halo de inhibición de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC® 29522) por parte de distintos dentífricos y enjuagues pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador. (Factura de la compra de la bacteria consta en el anexo 1).

Se describe al estudio como experimental debido a que se realizó una manipulación artificial en laboratorio para la activación de la bacteria, con circunstancias controladas para lograr medir el halo de inhibición de las variables controladas y así verificar la hipótesis del estudio.

El estudio in vitro fue ejecutado en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador, para lo cual se realizó el pedido como estudiante de la Facultad de Odontología de la Universidad San Francisco de Quito para la realización del estudio (anexo 2) en la Facultad de Bioquímica. Tras obtener la autorización de dicha Facultad (anexo 3) con un protocolo específico de manejo de desechos infecciosos (anexo 4) y la certificación de esterilización del material a utilizarse en el experimento (anexo 5), se dio inicio a la investigación.

Es un estudio cualitativo pues se observó si existe o no crecimiento del halo de inhibición de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC® 29522) por parte de los cinco distintos dentífricos y tres enjuagues pediátricos.

Es un estudio cuantitativo pues se midió el halo de inhibición de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC® 29522) por parte de los cinco distintos dentífricos y tres enjuagues pediátricos.

Además es un estudio comparativo porque se utilizó dentífricos y enjuagues pediátricos y las diferencias de sus resultados fueron analizadas y, es un estudio descriptivo donde se detallarán los cambios en la inhibición del crecimiento de la cepa al contacto con los agentes de cuidado bucal.

3.2 Población del estudio

Como población y muestra se utiliza cepas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* las cuales fueron activadas para medir el halo de inhibición de crecimiento utilizando productos de higiene bucal pediátricos.

Se determinó el tamaño de la muestra de cepas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* estadísticamente para la obtención de un nivel de confianza del 95% con la fórmula de comparación de medias para datos cuantitativos.

3.2.1 Selección y tamaño de la muestra

$$n = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \times S^2}{d^2}$$

Donde reemplazamos:

n = tamaño de la muestra

Z = valores correspondientes al riesgo deseado

S² = varianza de la variable cuantitativa relacionado con el grupo de control observado

d² = valor mínimo de la diferencia que se desea detectar con datos cuantitativos

α = grupo A

β = grupo B

Utilizamos la potencia como la probabilidad de que la hipótesis nula sea rechazada cuando la hipótesis alternativa es verdadera, es decir, la probabilidad de no cometer un error del tipo II para que nuestro estudio tenga una significancia estadística correcta con un error significativo mínimo del 0.050.

$$n = \frac{2(1,960 + 1,645)^2 \times (1,75)^2}{(2,30)^2}$$

α	test bilateral de dos colas
0,200	1,282
0,150	1,440
0,100	1,645
0,050	1,960
0,025	2,240
0,010	2,576

β	1- β	$z\beta$
0,010	0,990	2,326
0,050	0,950	1,645
0,100	0,900	1,282
0,150	0,850	1,036
0,200	0,800	0,843

$$n = \frac{79,605}{5,29} = 15,04$$

Se obtuvo como tamaño de muestra necesario, 15 mediciones.

3.2.2 Muestra de productos de higiene bucal pediátricos

Se selecciona dentífricos pediátricos expendidos en autoservicios y farmacias de la ciudad de Quito, Ecuador: Colgate Smiles, Denture Kids, Blendy de Blendax, Bucal-B Pro-Salud Stages, Aquafresh kids de Aquafresh, indicados para uso de niños desde los 3 años de edad por su contenido químico, referido por los fabricantes.

Se selecciona enjuagues pediátricos expendidos en autoservicios y farmacias de la ciudad de Quito, Ecuador: Colgate Plax Kids, Blendy con Xilitol y Denture Kids, indicados para uso de niños desde los 3 años de edad por su contenido químico, referido por fabricantes

Tabla 4. Componentes químicos de dentífricos pediátricos

Composición Química y función de los ingredientes de las pastas dentífricas pediátricas estudiadas						
Composición Química	Función	Colgate ProSmiles	Oral B Stages	Denture Kids	Blendy con Xilitol	Little Kids Aquafresh
Abrasivo	agente limpiador	silica hidratada	silica hidratada / pirofosfato disódico	silica hidratada / lactato de calcio / dióxido de silicio	silica	silice hidratada / carbonato de calcio / bicarbonato de sodio
Humectantes	evitar el secado y endurecimiento del producto	sorbitol / PEG12 / polietilenglicol	sorbitol	sorbitol / xilitol / PEG8 / polietilenglicol / glicerina	sorbitol / xilitol	glicerina / PEG8
Conservantes	estabilidad microbiológica	n/a	n/a	metilparabeno / propilparabeno	n/a	benzoato de sodio
Espesantes y Fijadores	ajuste de la viscosidad, textura y consistencia agradable. Estabilidad de la suspensión	goma celulosa	goma celulosa / carbomer / hidróxido de sodio	carboximetilcelulosa	goma celulosa	goma celulosa
Detergentes	formar espuma	laurilsulfato de sodio	laurilsulfato de sodio	laurilsulfato de sodio / trietanolamina		laurilsulfato de sodio
Saborizantes	sensación de frescura	bubble fruit / aroma	frutas silvestres / aroma	chicle	tutti frutti	bubblemint aroma
Edulcorantes	mejora el sabor, enmascara sabor desagradable	sacarina sódica / sorbitol	sacarina sódica / sorbitol	sacarina sódica / sorbitol / xilitol	sacarina sódica / sorbitol / xilitol	sacarina Sódica / sorbitol
Colorantes	efecto visual agradable	pigmento azul	pigmento azul	pigmento verde	varios pigmentos / Dióxido de titanio	varios pigmentos / dióxido de titanio
Agentes antibacterianos	efecto contra bacterias	floururo de sodio 500ppm	floururo de sodio 500ppm	monoflourfosfato de sodio 900ppm	floururo de sodio 500ppm	monoflourfosfato de sodio 1100ppm
Excipientes	medio dispersante	agua	agua	agua	agua	agua

Autor: Dra. Ana María Cabezas

Tabla 5. Componentes químicos de enjuagues pediátricos.

Composición Química y función de los ingredientes de enjuagues pediátricos				
Composición Química	Función	Colgate Plax Kids	Blendy con xilitol	Denture Kids
Humectantes	evitar el secado y endurecimiento del producto	sorbitol / PEG12 / polietilenglicol	xilitol / propilenglicol /	xilitol / PEG40 / glicerina
Detergentes	emulsiona y disuelve grasas	cloruro de cetilpiridinio 0,05%	polisorbato / trideceth / laureth	propilenglicol / trideceth
Saborizantes	sensación de frescura	tuttifruta	tuttifruta mentol	mentol
Edulcorantes	mejora el sabor, enmascara sabor desagradable	sacarina sódica / sorbitol	aspartame / xilitol / acesulfamo de potasio	sucralosa / xilitol
Colorantes	efecto visual agradable	pigmento rosa	pigmento rosa	pigmento Verde
Olor	dar olor agradable	aroma	aroma	aroma
Agentes antibacterianos	efecto contra bacterias	floururo de sodio 250ppm	floururo de sodio 250ppm	monoflourfosfato de sodio 250ppm
Excipientes	medio dispersante	agua	agua	agua
Autor: Dra. Ana María Cabezas				

3.3 Criterios de inclusión y exclusión

3.3.1 Criterios de inclusión

Como criterios de inclusión para este estudio se utilizó:

- Cepas puras de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522
- Dentífricos pediátricos expendidos en autoservicios y farmacias de la ciudad de Quito Ecuador: Colgate Smiles, Denture Kids, Blendy de

Blendax, Bucal-B Pro-Salud Stages, Aquafresh kids de Aquafresh, indicados para uso de niños desde los 3 años de edad por su contenido químico, referido por los fabricantes.

- Enjuagues pediátricos expendidos en autoservicios y farmacias de la ciudad de Quito Ecuador: Colgate Plax Kids, Denture Kids y Blendy con Xilitol, indicados para uso de niños desde los 3 de edad por su contenido químico, referido por los fabricantes.

3.3.2 Criterios de exclusión

Como criterios de exclusión para este estudio se presenta:

- Cultivo Agar Chocolate que presente en crecimiento de bacterias u otro microorganismo ajeno a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
- Dentífricos y enjuagues pediátricos con sello de seguridad abierto o fechas de caducidad de producto vencidas.
- Dentífricos y enjuagues pediátricos que no poseen en caja o cubierta su composición química completa.
- Dentífricos y enjuagues de uso diario para pacientes adultos.

3.4 Variables

Dentro de este estudio tenemos:

3.4.1 Variables Dependientes

Se considera variable dependiente al **efecto inhibitorio**, el cual es el efecto de una sustancia para impedir el crecimiento de un microorganismo, en el caso de este estudio es la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522. Se la determina a través de la medición de los halos de inhibición con el método Kirby-Bauer, utilizando regla milimétrica. Como indicadores se registra a mediciones menores de 8 mm como resistente (0), de 8 a 13 mm sensible al límite (1), de 14 a 18 mm muy sensible (2) y mayor a 18mm es sumamente sensible (3).

Como variable dependiente dentro de esta investigación se considera de igual manera a la **cepa pura** de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522.

3.4.2 Variables independientes

Se considera como variables independientes a las **pastas dentífricas y enjuagues bucales** de uso pediátrico a la venta en autoservicios y farmacias de Quito, Ecuador, de ellos se considera los agentes antisépticos capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de microorganismos. Se evalúa la inhibición o no del producto comercial a utilizar con una escala netamente cualitativa.

3.4.3 Variable control

Se utilizan **sustancias control** probadas de inhibición o no de crecimiento, como control positivo se utiliza la clorhexidina tanto enjuague como dentífrico al 0.12% con producto comercial Encident® (escala 0) y como control negativo suero fisiológico (escala 1).

3.4.4 Variable subjetiva

Se utiliza un **solo observador** para la medición del halo de inhibición, con conocimiento y experiencia previa, para eliminar una variable subjetiva.

Tabla 6. Variables del estudio.

Variables del estudio

Tipo de variable	Concepto	Medición	Escala
variable dependiente	efecto inhibitorio	medición de halos de inhibición con el método Kirby- Bauer, con regla milimétrica y microscopio	menor de 8 mm = resistente (0), 8 a 13 mm = sensible al límite (1), 14 a 18 mm = muy sensible (2), mayor a 18 mm = sumamente sensible (3)
	cepa pura de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC® 29522	no aplica	no aplica
Variable independiente	dentífricos y enjuagues de uso pediátrico a la venta en autoservicios y farmacias de Quito, Ecuador, se considera los agentes antisépticos capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de microorganismos.	se evalúa la inhibición o no del producto comercial	escala netamente cualitativa (si o no)
Variable control	sustancias de control probadas de inhibición o no,	control positivo con clorhexidina al 0.12% (producto comercial Encident ® enjuague y dentífrico) y control negativo suero fisiológico	escala 0 = control positivo, escala 1 = control negativo
Variable subjetiva	un solo observador para la medición del halo de inhibición, con conocimiento y experiencia previa	eliminación de variable subjetiva	no aplica

Autor: Dra. Ana María Cabezas

3.5 Recursos materiales e instrumental

Los materiales utilizados en esta investigación se encuentran detallados a continuación:

Materiales

- Cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522
- Placas de Agar Chocolate
- Pastas dentífricas pediátricas: Colgate Smiles® de Colgate, Denture Kids® de Lamosan, Blendy® de Blendax, Bucal-B Pro-Salud Stages® de Bucal B, y Aquafresh kids® de Aquafresh
- Enjuagues bucales pediátricos: Colgate Plax Kids® de Colgate, Denture Kids® de Lamosan y Blendy con Xilitol® de Blendax
- Controles positivos y negativos: suero fisiológico y clorhexidina 0,12% enjuague y dentífrico Encident®
- Cajas Petri
- Incubadora
- Discos de papel
- Estufa
- Pipetas
- Agitador
- Pinzas
- Hisopos estériles
- Guantes
- Mascarillas
- Gorro
- Regla Milimétrica
- Sobres para generación de condiciones anaerobias AnaeroGen™ 2.5L

3.6 Procedimientos y técnicas

3.6.1 Procedimientos

La activación de la cepa se realizó siguiendo el manual con las especificaciones del fabricante, se anexa el método de activación (anexo 6). Con el sobre de Agar Chocolate se realizó la siembra de la cepa incubándola a 35 °C en 5% de CO₂ en un periodo de 48 horas.

Una vez activada, la bacteria se la recopiló durante pocos minutos, observando colonias de aproximadamente 0,5 - 1 mm de diámetro, con características de forma circular, convexa, bordes irregulares, de tipo estrella y con coloración de cocobacilos gram negativos.

Una vez preparado el Agar Chocolate, se colocó en una caja Petri una siembra de la bacteria con técnica de estriación y se las llevó a incubación en un periodo de 48 horas para tener un respaldo de la bacteria.

Para el estudio experimental, se tomó la muestra de la bacteria y se realizó la siembra de 15 cajas Petri. En cada una de las cajas se colocó cinco discos de papel blanco estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron embadurnados cada uno con 0.20 mililitros de dentífricos pediátricos ya mencionados diluidos con suero fisiológico en una relación de 5 gramos a 10 mililitros de suero fisiológico, obteniendo una concentración de 0.05% y llevados a incubación por 48 horas con sobres para generación de condiciones anaerobias AnaeroGen™ 2.5L (anexo 8).

De igual manera, se colocó en cajas Petri con muestra de bacteria pre sembrada, discos de papel blanco estériles (factura de discos en anexo 7) de 6 mm de diámetro embadurnados cada uno con 0.20 mililitros de enjuagues pediátricos previamente descritos y llevados a incubación por 48 horas con sobres para generación de condiciones anaerobias AnaeroGen™ 2.5L (anexo 8).

Posterior a las 48 horas, se realizó la observación del halo de inhibición que produjeron los dentífricos y enjuagues pediátricos a la muestra bacteriana, esta lectura se realizó mediante la técnica de Kirby-Baurer, y se comparó los resultados de las muestras de dentífricos y enjuagues pediátricos según sus principios activos, con un control positivo de un colutorio de clorhexidina al 0.12% y con un control negativo de suero fisiológico.

3.6.2 Estandarización de la experimentación

Para la estandarización del experimento se contó con cepas estándar que aseguran comportamientos homogéneos de la muestra, se adjunta el certificado de autenticidad de la bacteria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522 por el laboratorio Microbiologics® (anexo 9).

Con el fin de eliminar la varianza subjetiva, para asegurar la objetividad a lo largo del análisis y lograr una correcta estandarización de la evaluación de los resultados, el presente estudio fue realizado por un solo investigador. Para la medición de halos se utilizaron protocolos estandarizados en el laboratorio clínico y bacteriológico de microbiología de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador a cargo de la doctora Rachide Acosta, microbióloga.

3.6.3 Métodos de recolección de información y manejo de datos

La recolección de la información de este estudio experimental, se la realizó con un enfoque cualitativo y cuantitativo, en el cual se observó la inhibición o no del halo de crecimiento de la cepa bacteriana por medio de los dentífricos y enjuagues pediátricos y el tamaño de dicho halo para conocer la eficacia de los productos frente a la enfermedad periodontal.

Para evaluar los resultados se utilizó un microscopio y una regla milimetrada con la cual se determinó manualmente la medición del halo de inhibición de la bacteria frente a los dentífricos y enjuagues mencionados y se realizó un informe de los resultados organizados en tablas de Microsoft Excel establecidas (anexo 10).

3.6.4 Análisis Estadístico

Los datos fueron tabulados en una hoja de Microsoft Excel según cada caja Petri, código de disco utilizado, diámetro de halo medido y otorgando a cada uno el nivel de sensibilidad preestablecido.

El análisis estadístico se lo llevó a cabo con el programa SPSS, con el cual se determinó con pruebas paramétricas y no paramétricas el nivel de significancia estadística de los resultados de las muestras.

3.7 Aspectos Éticos

Este estudio experimental no tuvo ningún contacto con humanos ni seres vivos, se realizó la investigación con la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522, la cual fue activada, incubada y se la llevó a análisis en laboratorio con junto con dentífricos y enjuagues pediátricos para obtener nuestros resultados.

- a. Riesgos Potenciales: la investigación no tiene ningún tipo de efecto para el investigador.
- b. Beneficios Potenciales: Aportar científicamente conocimiento sobre la inhibición de crecimiento de la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* que produce enfermedad periodontal crónica por parte de productos dentales pediátricos de uso terapéutico en niños.
- c. Conflicto de intereses: La investigadora y la directora de esta tesis de investigación declaran no tener relación alguna con entidades públicas o privadas con las cuales se pudiera tener algún posible conflicto de interés ocasionando un sesgo en la investigación (anexo 11 y 12).

3.8 Autorizaciones solicitadas

Previa a la realización de este estudio experimental se solicitó la autorización de la decana de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador, la doctora Isabel Freire, para el uso de los laboratorios. La solicitud se realizó con el fin de informar cuales eran los objetivos de nuestro estudio y los protocolos a seguir (anexo 2).

Se realizó la solicitud de aprobación de un estudio de investigación con el protocolo al comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito, siendo aprobada por el mismo (anexo 13).

CAPÍTULO IV

4. Procesamiento de datos y análisis de resultados

4.1 Resultados

4.1.1 Dentífricos y enjuagues bucales expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador

Tabla 7. Dentífricos y enjuagues pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador.

Enjuagues expendidos	Dentífricos expendidos
Denture Kids	Denture Kids
Blendy con xilitol by Blendax	Blendy Kids con xilitol by Blendax
Colgate Plax Kids	Colgate Smiles
	Little Teeth by Aquafresh
	Oral-B ProSalud Stages

Elaborado por: Dra Ana María Cabezas



Fotografía 1. Dentífricos pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador.



Fotografía 2. Enjuagues pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador.

4.1.2 Resultados de medición de halos de inhibición

CLIENTE: ANA MARÍA CABEZAS ESPINOSA											
MUESTRA: PRODUCTOS ORALES PEDIÁTRICOS											
FECHA DE ANÁLISIS: 2017/06/19											
EFECTO INHIBIDOR DE CRECIMIENTO DE LA CEPA PURA DE AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCONCOMITANS DE PRODUCTOS DE HIGIENE ORAL DE USO PEDIATRICO											
CEPA DE ESTUDIO: AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCONCOMITANS											
ATCC	295-22										
LOTE	1175-02-2										
FECHA DE CADUCIDAD	2017-07										
RESULTADOS											
	AQUA FRESH	ORAL B PASTA	COLGATE PASTA	DENTURE PASTA	BLENDAX PASTA	COLGATE ENJUAGE	BLENDY ENJUAGE	DENTURE ENJUAGE	ENCIDENT PASTA	SUERO FISIOLÓGICO	CLORHEXIDINA 0,12%
REPETICIÓN	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)										
1	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	28
2	0	0	0	0	0	12	0	0	17	0	26
3	0	0	0	0	0	13	0	0	18	0	28
4	0	0	0	0	0	12	0	0	18	0	28
5	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	27
6	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	28
7	0	0	0	0	0	13	0	0	19	0	27
8	0	0	0	0	0	12	0	0	18	0	28
9	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	26
10	0	0	0	0	0	12	0	0	17	0	28
11	0	0	0	0	0	13	0	0	18	0	28
12	0	0	0	0	0	12	0	0	18	0	26
13	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	28
14	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	28
15	0	0	0	0	0	13	0	0	19	0	26
DRA. RACHIDE ACOSTA											

Gráfico 7. Resultados sobre el efecto inhibidor de crecimiento de la cepa pura de Aggregatibacter actinomycetemcomitans de productos de higiene bucal de uso pediátricos.

La tabla muestra el halo de inhibición de cada uno de los productos sujetos a experimentación, del control positivo y control negativo de la muestra y sus repeticiones.

4.2 Análisis Estadístico

4.2.1 Prueba de Normalidad

Las muestras fueron analizadas mediante prueba de Shapiro – Wilk para verificar si provenían de una población con distribución **Normal o no**.

Para realizar la prueba de Shapiro – Wilk planteamos dos hipótesis a demostrar:

Ho: Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal

Ha. Las muestras no provienen de poblaciones con distribución Normal

Prueba de Normalidad: Muestra Colgate Kids Enjuague

Tabla 8. Prueba de Normalidad: Muestra Colgate Kids Enjuague.

	SHAPIRO-WILK		
	Estadístico	gl	Sig.
COLGATE ENJUAGUE	,782	15	,002

La prueba Shapiro-Wilk empleada para verificar la normalidad indica que la significación está por debajo de 5% (realizado con el 95% de confiabilidad, alfa es el complemento 5%, si Sig < 5% los datos no proceden de una distribución normal), por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal. Se rechaza la hipótesis de normalidad para la muestra.

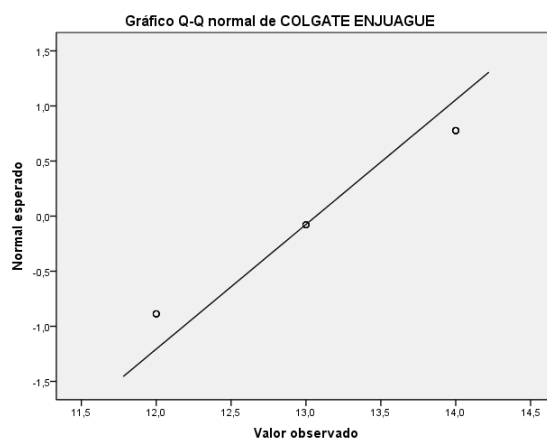


Gráfico 8. Prueba de Normalidad: Muestra Colgate Kids Enjuague.

De manera gráfica observamos la ausencia de normalidad en los datos, debido a que los puntos de las muestras no se ubican sobre la línea trazada.

Prueba de Normalidad: Muestra Encident Pasta

Tabla 9. Prueba de Normalidad: Encident Pasta.

	SHAPIRO-WILK		
	Estadístico	Gl	Sig.
ENCIDENT PASTA	,755	15	,001

La prueba Shapiro-Wilk empleada para realizar la prueba de normalidad (por 15 observaciones) indica que la significación está por debajo de 5%, por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal. Se rechaza la hipótesis de normalidad para la muestra.

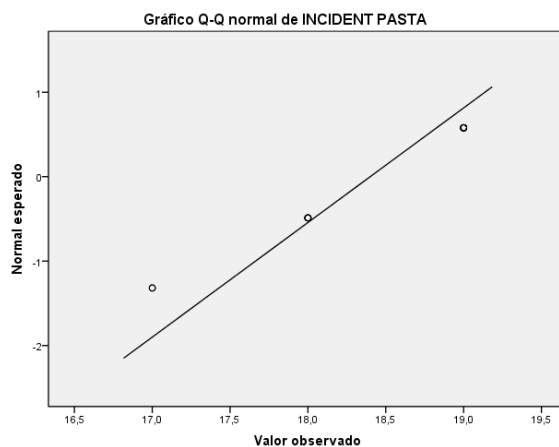


Gráfico 9. prueba de Normalidad: Muestra Incident Pasta.

De manera gráfica observamos la ausencia de normalidad en los datos, debido a que los puntos no se ubican sobre la línea trazada.

Prueba de Normalidad: Muestra Clorhexidina 0.12%

Tabla 10. Prueba de Normalidad: Muestra Clorhexidina 0.12%.

	SHAPIRO-WILK		
	Estadístico	gl	Sig.
CLORHEXIDINA 0.12%	,686	15	,000

La prueba Shapiro-Wilk empleada para realizar la prueba de normalidad indica que la significación está por debajo de 5%, por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal y se rechaza la hipótesis de normalidad para la muestra.

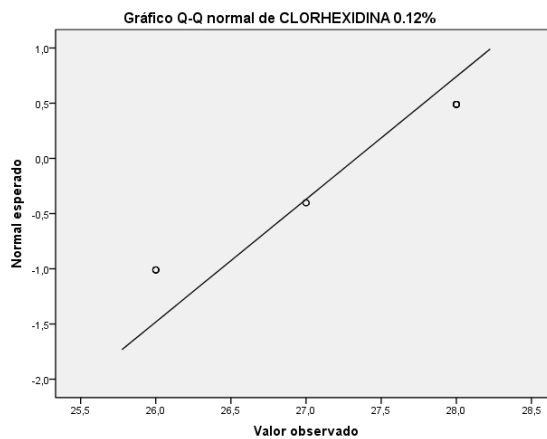


Gráfico 10. Prueba de Normalidad: Muestra Clorhexidina 0.12%.

El gráfico muestra ausencia de normalidad debido a que los datos no se muestran sobre la línea trazada.

Tabla 11. Test de normalidad de variables estudiadas.

TEST SHAPIRO –WILK			
	ESTADISTICO	MUESTRA	SIGNIFICANCIA
COLGATE ENJUAGUE	0,782	15	0.002
ENCIDENT PASTA	0.755	15	0.001
CLORHEXIDINA 0,12%	0.686	15	0.000
ADVERTENCIAS			
AQUA FRESH PASTA	CONSTANTE		
BUCAL B PASTA	CONSTANTE		
COLGATE KIDS PASTA	CONSTANTE		
DENTURE PASTA	CONSTANTE		
BLENDAX PASTA	CONSTANTE		
BLENDY ENJUAGUE	CONSTANTE		
DENTURE ENJUAGUE	CONSTANTE		
SUERO FISIOLÓGICO	CONSTANTE		

Fuente: base de datos. Elaborado por: Ana María Cabezas

El resto de variables mantienen un valor constante en cero por lo que estadísticamente no se realizan pruebas, se otorga una evaluación de variable cualitativa.

4.2.2 Estadística descriptiva de la muestra

Tabla 12. Estadísticos descriptivos: Muestra Colgate Plax Kids Enjuague.

		Estadístico	
COLGATE ENJUAGUE	Media	13,07	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	12,58
		Límite superior	13,56
	Mediana	13,00	
	Varianza	,781	
	Desv. típ.	,884	
	Mínimo	12	
	Máximo	14	
	Rango	2	
	Coefficiente de variación	6,76%	
	Amplitud intercuartil	2	
	Asimetría	-,142	
Curtosis	-1,783		

La tabla demuestra la salida de los estadísticos descriptivos para los halos con el producto Colgate Plax Kids Enjuague. Se obtiene un promedio de 13 mm de Halos de Inhibición, intervalo del 95% para la media y la mediana resultó levemente menor a la media. Al analizar la dispersión de los datos, el coeficiente de variación que indica que es solo un 6,76%, obteniendo una baja dispersión y alta concentración de los datos. Los coeficientes de asimetría y curtosis muestran una leve asimetría negativa y distribución más aplanada que la normal, respectivamente.

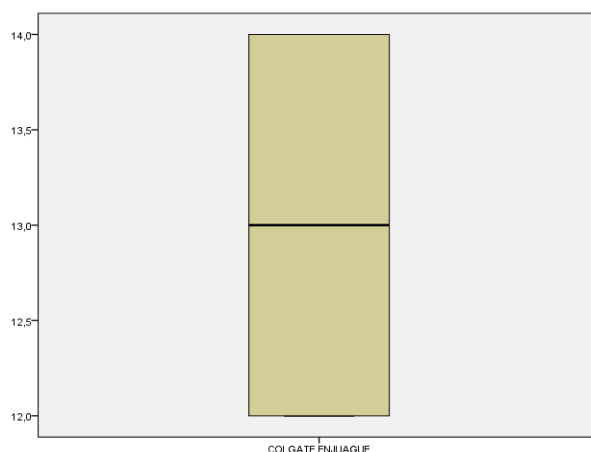


Gráfico 11. Distribución de datos para la muestra: Colgate Plax Kids Enjuague.

El gráfico de caja evidencia que no existen datos atípicos ni extremos, una alta concentración y leve asimetría de la muestra.

Tabla 13. Estadísticos descriptivos: Encident Pasta.

		Estadístico	
ENCIDENT PASTA	Media	18,40	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	17,99
		Límite superior	18,81
	Mediana	19,00	
	Varianza	,543	
	Desv. típ.	,737	
	Mínimo	17	
	Máximo	19	
	Rango	2	
	Amplitud intercuartil	1	
	Coeficiente de variación	4%	
	Asimetría	-,841	
	Curtosis	-,470	

La salida de los estadísticos descriptivos para las muestras con el producto Pasta Encident presenta un promedio de 18,4 mm de Halos de Inhibición, con un intervalo del 95% para la media y la mediana resultó mayor a la media, presentando asimetría. Al analizar la dispersión de los datos nos centramos en el coeficiente de variación que indica que es solo un 4% presentando baja dispersión y alta concentración de la muestra. Los coeficientes de

asimetría y curtosis muestran una fuerte asimetría negativa y distribución más aplanada que la normal, respectivamente.

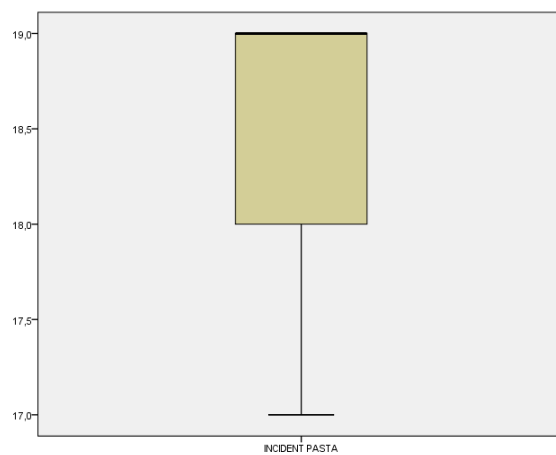


Gráfico 12. Distribución de datos para la muestra: Incident Pasta.

El gráfico de caja evidencia claramente la alta asimetría en la distribución de los datos y también la alta concentración de la muestra.

Tabla 14. Estadísticos descriptivos: Clorhexidina 0.12%.

		Estadístico	
CLORHEXIDINA 0.12%	Media	27,33	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	26,84
		Límite superior	27,83
	Mediana	28,00	
	Varianza	,810	
	Desv. típ.	,900	
	Mínimo	26	
	Máximo	28	
	Rango	2	
	Amplitud intercuartil	2	
	Coeficiente de variación	3,29%	
	Asimetría	-,780	
	Curtosis	-1,347	

La salida de los estadísticos descriptivos para los datos de la muestra con el producto Clorhexidina 0.12% presentan un promedio de 27,33mm de Halos de Inhibición,

con intervalo del 95% para la media y la mediana resultó mayor a la media. Al analizar la dispersión de los datos el coeficiente de variación indica que es solo un 3,29% presentando baja dispersión y alta concentración de la muestra. Los coeficientes de asimetría y curtosis muestran una fuerte asimetría negativa y distribución más aplanada que la normal, respectivamente.

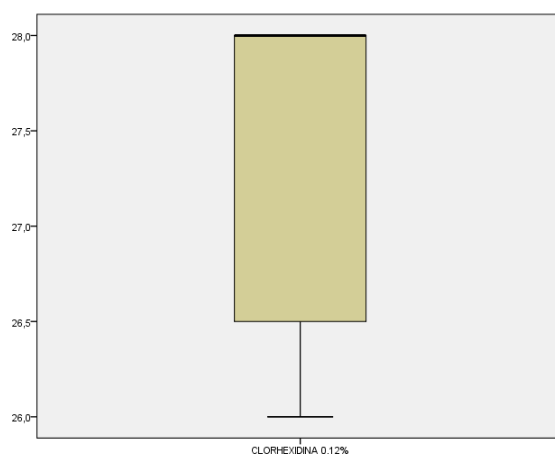


Gráfico 13. Distribución de datos para la muestra: Clorhexidina 0.12%.

En el gráfico de caja se observa la alta asimetría de la distribución y alta concentración de los datos de la muestra.

4.2.3 Prueba no paramétrica

Debido a la ausencia de normalidad en la distribución de los datos, se procede a realizar la prueba no paramétrica para determinar si existen diferencias significativas entre las medias de cada uno de los halos de inhibición para los productos evaluados.

Se plantea así dos hipótesis a comprobar

Ho: No hay diferencia entre los halos de inhibición promedio

Ha: Si existe diferencia en al menos uno de los promedios

4.2.3.1 Estadísticos de contraste

Tabla 15. Prueba de Kruskal-Wallis para estadísticos de contraste.

	HALOS DE INHIBICIÓN(MM)
Chi-cuadrado	39,922
GI	2
Sig. asintót.	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: Producto

Dado que la significación es menor al 5% se rechaza la hipótesis de igualdad, por lo tanto se puede asumir diferencias significativas en los promedios de los halos de inhibición generados por los productos.

4.2.3.2 Pruebas no paramétricas

Se plantea así dos hipótesis:

Ho: Las muestras proceden de poblaciones con la misma distribución de probabilidad (medias similares)

Ha: Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones (medias no similares)



Gráfico 14. Promedio en mm de halo de inhibición de las muestras.

Se puede observar la presencia de diferencias en al menos un promedio por lo que se procede a realizar los contrastes dos a dos.

4.2.3.3 Contrastes dos a dos

Se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: Promedios de halos de inhibición de Colgate Enjuague = Promedios de halos de inhibición de Encident Pasta

Tabla 16. Comparación dos a dos Colgate Plax Kids enjuague y Encident Pasta.

Estadísticos de contraste ^b	
	HALOS DE INHIBICIÓN(MM)
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	120,000
Z	-4,757
Sig. asintót. (bilateral)	,000
Sig. exacta [2* (Sig. unilateral)]	,000 ^a

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: PRODUCTO

Ho: Promedios de halos de inhibición de Colgate Enjuague = Promedios de halos de inhibición de Clorhexidina 0,12%

Tabla 17. Comparación dos a dos Colgate Plax Kids enjuague y enjuague clorhexidina al 0.12%.

Estadísticos de contraste^b	
	HALOS DE INHIBICIÓN(MM)
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	120,000
Z	-4,771
Sig. asintót. (bilateral)	,000
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,000 ^a

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: PRODUCTO

Ho: Promedios de halos de inhibición de Encident Pasta = Promedios de halos de inhibición de Clorhexidina 0,12%

Tabla 18. Comparación dos a dos Encident Pasta y enjuague con clorhexidina al 0.12%.

Estadísticos de contraste^b	
	HALOS DE INHIBICIÓN(MM)
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	120,000
Z	-4,794
Sig. asintót. (bilateral)	,000
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,000 ^a

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: PRODUCTO

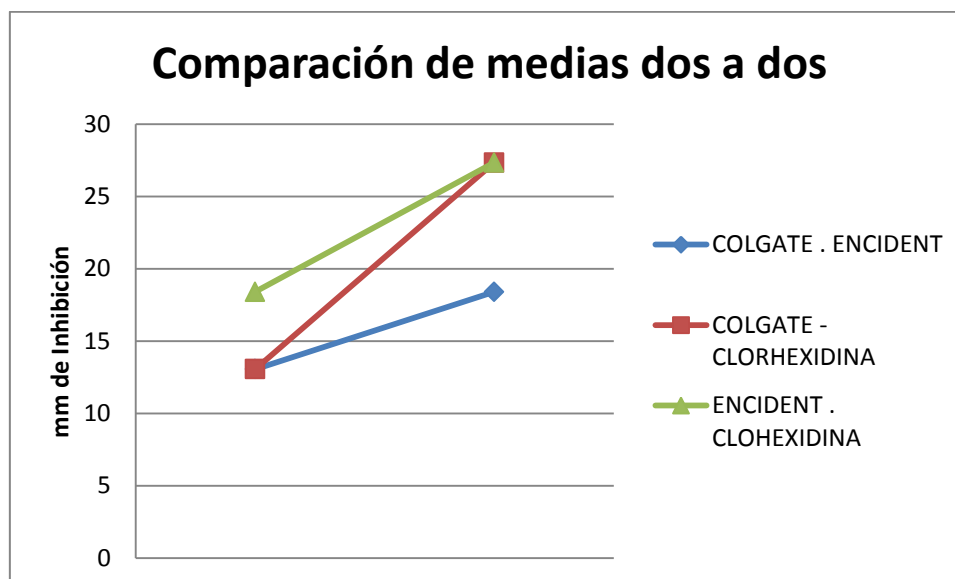


Gráfico 15. Comparación de medias dos a dos.

Conclusión de los tres contrastes:

Para los tres contrastes, la significación es menor al 5%, por lo tanto se rechaza la hipótesis de igualdad de los promedios de halos de inhibición en los productos, se puede afirmar si se encuentran diferencias significativas entre los pares contrastados.

4.2.4 Análisis cualitativo de muestras con valor constante.

Tabla 19. Muestras con valor constante.

ADVERTENCIAS		Mm de inhibición
AQUA FRESH PASTA	CONSTANTE	0 mm
BUCAL B PASTA	CONSTANTE	0 mm
COLGATE KIDS PASTA	CONSTANTE	0 mm
DENTURE PASTA	CONSTANTE	0 mm
BLENDAX PASTA	CONSTANTE	0 mm
BLENDY ENJUAGUE	CONSTANTE	0 mm
DENTURE ENJUAGUE	CONSTANTE	0 mm
SUERO FISIOLÓGICO	CONSTANTE	0 mm

Fuente: Base de datos Elaborado por: Ana María Cabezas

A las variables que mantienen un valor constante en cero se las otorga una evaluación de la variable cualitativamente.

Tabla 20. Valoración cualitativa de variables constantes.

<u>VALORACIÓN CUALITATIVA DE VARIABLES CONSTANTES</u>	
AQUA FRESH PASTA	NO INHIBE
BUCAL B PASTA	NO INHIBE
COLGATE KIDS PASTA	NO INHIBE
DENTURE PASTA	NO INHIBE
BLENDAX PASTA	NO INHIBE
BLENDY ENJUAGUE	NO INHIBE
DENTURE ENJUAGUE	NO INHIBE
SUERO FISIOLÓGICO	NO INHIBE

Se describe cualitativamente la no inhibición por parte de las muestras Aqua Fresh Pasta, Bucal B Kids Pasta, Colgate Kids Pasta, Denture Pasta, Blandax Kids Pasta, Blendy Enjuague, Denture Enjuague y Suero Fisiológico.

Algunos productos de higiene bucal presentaron crecimiento de la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

4.3 Discusión

Este estudio in vitro del efecto inhibitorio de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de dentífricos y enjuagues bucales de uso pediátrico tiene ciertos aspectos que comparados con otros estudios se ponen en consideración para valorar o determinar la validez de los hallazgos encontrados.

La fase experimental de medición del halo de inhibición de crecimiento de la cepa, fue realizada utilizando el protocolo de activación de la bacteria en agar chocolate a 35 grados durante 48 horas como lo realizó Andrade en el 2017, de esta manera se obtuvo una correcta activación de la cepa para fines de nuestra investigación (Andrade, 2017).

Se realizaron 15 muestras de cada dentífrico y enjuague pediátrico estudiado, 15 del control positivo en pasta y líquido y 15 del control negativo. Hallando diferencias estadísticamente significativas entre el promedio de halos inhibitorios de los antisépticos.

El cloruro de cetilpiridinio y la clorhexidina 0,12%, obtuvieron resultados positivos en la inhibición de crecimiento de la cepa, sin embargo presentan diferencias estadísticas significativas.

Acerca del efecto antiséptico del cloruro de cetilpiridinio sobre la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* se encuentran la investigación de Andrade en el 2017, que muestren su efecto en menor grado que la clorhexidina 0,12%, sin embargo nuestra investigación le otorga un efecto aceptable de inhibición frente a esta cepa (Andrade, 2017).

El efecto de la clorhexidina al 0,12% utilizada como control positivo tanto en dentífrico como enjuague bucal para la inhibición de crecimiento del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ha sido comprobado previamente, con buenos resultados para el control de gingivitis, sangrado y eliminación de patógenos periodontales (Bascones & Morante, 2006) (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008). Dando como resultados favorables para el agente antiséptico como lo comprobado en nuestro estudio.

El agente antiséptico de la clorhexidina al 0.12% tanto en dentífrico como enjuague mostró la mayor inhibición de crecimiento del patógeno periodontal a estudiar, sin embargo sus limitaciones, efectos secundarios y reacciones adversas han sido bien descritas. Advirtiendo de las más importantes como la ototoxicidad, pérdida de sabores, sabor amargo en boca y manchas y tinciones en dientes, restauraciones, sellantes, prótesis y aparatos de ortopedia (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008) (Arora, 2014).

Existen reacciones alérgicas locales por el uso de clorhexidina con síntomas como broncoespasmo, tos, disnea, prurito, congestión nasal, rash vesicular, urticaria y picazón. En cavidad bucal se reporta casos de parotiditis e irritación de la lengua (Kidd, 1991) (Alderete D. y cols, 2017).

Se reporta una baja toxicidad sistémica del uso de clorhexidina, sin embargo puede producir lesiones graves en ojos y oídos, irritabilidad de piel y mucosa. A su vez tiene efectos sobre los fibroblastos gingivales y los neutrófilos causando la lisis y

reduciendo la proliferación celular. Por la naturaleza de la sustancia y sus propiedades se reporta una alteración del gusto, sobre todo pérdida de reconocimiento del sabor salado y amargo (Hernandez JJ y Martinez GM, 2004)

Si bien se conoce numerosos estudios en el uso del xilitol como agente terapéutico contra la carie, se evalúa su ineficacia contra el patógeno *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, tanto en dentífricos como en colutorios de uso pediátrico ya que no se expresó inhibición de crecimiento de la cepa en este estudio (Janakiram C, Deepan Kumar CV and Joseph J, 2017).

Estudios han demostrado la efectividad de la terapia periodontal al combinar el cepillado con el uso de clorhexidina para la reducción de sangrado gingival en niños, pues la remoción mecánica interdental con la acción química bactericida y bacteriostática dan excelentes resultados (Contreras C, Vasquez MP y Maita LM, 2008) (Binney, 1993) (Quirynen, 2001).

En esta investigación, el halo de inhibición de crecimiento de la cepa del patógeno a estudiar del cloruro de cetilpiridinio fue menor que la clorhexidina al 0,12% pero su efecto antiséptico y bajo reporte de reacciones adversas lo convierte en un antiséptico conveniente para pacientes pediátricos. Pérez en el 2015 reportó al cloruro de cetilpiridinio como un antiséptico eficaz para la prevención de enfermedad periodontal, que no presenta reacciones secundarias importantes ni resistencia bacteriana, con un sabor agradable que permite que los pacientes se adhieran mejor al tratamiento (Pérez, 2015).

Sobre el uso de dentífricos pediátricos para el control de patógenos periodontales no se encuentra investigaciones. El estudio realizado muestra una ineficacia por parte de los agentes terapéuticos de los dentífricos pediátricos expendidos en Quito, sin embargo se recomienda continuar con investigaciones de estos productos con diferentes patógenos de cavidad bucal.

Un tratamiento bucal apropiado contra la enfermedad periodontal, debe abarcar tanto una terapia mecánica, como química para lograr tener éxito en el control de los patógenos. Para ello, tanto los agentes terapéuticos de los dentífricos como los antisépticos de los enjuagues bucales son de gran importancia. Sin embargo, el presente estudio muestra una

ineficacia de los dentífricos con distintos componentes y concentraciones para la inhibición de crecimiento de la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

La intención de este estudio es crear conciencia entre la población, odontólogos y fabricantes sobre el efecto de los productos de higiene bucal pediátrica en la prevención del patógeno periodontal *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* para un apropiado uso de los mismos.

CAPÍTULO V

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

En base a la metodología utilizada en las distintas etapas de esta investigación las siguientes conclusiones parecen ser válidas:

1. Los dentífricos pediátricos expendidos en autoservicios y farmacias de la ciudad de Quito, Ecuador son: Colgate Smiles, Denture Kids, Blendy de Blendax, Bucal-B Pro-Salud Stages, Aquafresh kids de Aquafresh y los enjuagues pediátricos expendidos son: Colgate Plax Kids, Blendy con Xilitol y Denture Kids.
2. Los dentífricos pediátricos expendidos en la ciudad de Quito, no resultaron eficaces para la inhibición del halo en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. El dentífrico efectivo frente a la cepa específica fue a base de gluconato de clorhexidina al 0.12% utilizado en comparación como control positivo.
3. En cuanto a los antisépticos bucales, el cloruro de cetilpiridinio tuvo un efecto inhibidor del halo en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, en menor grado al obtenido con clorhexidina 0,12%, sin embargo su efecto antiséptico fue aceptable, presentándose así como la mejor opción pediátrica frente a esta cepa.
4. En esta investigación, si se detectó diferencia significativa en cuanto a la acción antiséptica de los productos pediátricos del efecto de la clorhexidina y el cloruro de cetilpiridinio con el xilitol, según la inhibición del halo de crecimiento en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

5. El xilitol tanto en dentífricos y enjuagues de uso pediátrico no presentan efecto inhibidor del halo en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
6. De los productos utilizados en esta investigación, el enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio podría ser utilizado para prevenir una afectación por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por pacientes pediátricos.
7. Sin embargo, la clorhexidina al 0,12% tanto en dentífrico y enjuague, resultó ser el más efectivo antiséptico bucal en inhibición del halo en *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, siendo superior su acción a la obtenida con antisépticos a base de xilitol y cloruro de cetilpiridinio.
8. Las hipótesis presentadas al inicio de este estudio fueran negativas, ninguno de los dentífricos pediátricos utilizados inhibieron el halo de crecimiento de la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, mientras que en enjuagues solamente el cloruro de cetilpiridinio presentó inhibición del crecimiento del halo para esta bacteria específicamente.

5.2 Recomendaciones

Las recomendaciones que surgen de esta investigación son:

A investigadores:

1. Profundizar en el estudio de antisépticos bucales para el control de la placa con *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por ser un patógeno periodontal de alta prevalencia e incidencia en la población.
2. Se recomienda experimentar con la cepa de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* utilizando productos con agentes antisépticos naturales que puedan ser utilizados en pacientes pediátricos.
3. Se recomienda realizar esta investigación primero in vivo con animales de estudio para después realizarla con pacientes reales y así contrastar los resultados.
4. Investigar sobre las cepas periodontales más agresivas que se presentan actualmente con mayor frecuencia en las poblaciones pediátricas.

Al odontólogo:

1. Mantenerse actualizado en las investigaciones realizadas de los medicamentos, para que su elección de productos a recetar otorgue a sus pacientes mejores resultados.
2. Realizar reportes de casos de enfermedades periodontales pediátricas con sus correspondientes tratamientos y controles de seguimiento para comparar con las investigaciones descritas.
3. Fortalecer la prevención de enfermedades periodontales con el uso de antisépticos bucales, conjunto con el cepillado mecánico, para evitar la formación de biopelículas y patologías periodontales.

Se recomienda una mayor vigilancia de las etiquetas de los productos expendidos, para verificar porcentajes de sus contenidos y dosificaciones sobre todo de agentes terapéuticos, por parte de las direcciones correspondientes del Ministerio de Salud Pública

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bibliografía

- Administration, U. F. (02 de 09 de 2016). *U.S. Food and Drug Administration*. Obtenido de La FDA emite la regla definitiva sobre la seguridad y la eficacia de los jabones antibacterianos: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/ComunicadosdePrensa/ucm519089.htm>
- Alderete D. y cols. (13 de 10 de 2017). *Vademécum Hospital Pedro del Elizalde*. Obtenido de Vademécum Hospital Pedro del Elizalde: http://www.hospitalelizalde.org/area_medica/vademecum.pdf
- Alvear FS, V. M. (2010). Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*, 22(1), 109-116.
- Alves Fernandes, Rita María. (2009). Estudo in vitro da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. *Porto*, 85.
- American Academy of Periodontology. (1996). Position paper: periodontal diseases of children and adolescents. *J Periodontol*, 504-507.
- Andrade, D. (2017). Inhibición del crecimiento de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, con 4 antisépticos orales: Clorhexidina 0.12%, aceites esenciales, perborato de sodio y cloruro de cetilpiridinio. *Universidad Central del Ecuador*, 1-120.
- Angarita BP, Mejía AC. (2000). Encuesta de prevalencia de cálculo dental en escolares de 5 a 14 años en Bogota. *Secretaria Distrital de Salud*, 7-16.
- Arangannal, P y cols. (2013). Detection of putative periodontopathic bacteria in type 1 diabetic and healthy children: a comparative study. *Indian J Dent Res*, 342-346.
- Arévalo JM, Arribas JL y cols. (2009). Guía de utilización de antisépticos. *Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higinene*, 1-11.
- Arora, V. (2014). Eficacia del Hilo Dental y el Enjuague Oral de Clorhexidina como Coadyuvantes Removiendo la Placa y en Inflamación Gingival, prueba de cruce de tres variantes. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 01-04.
- Bascones, A., & Morante, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Av Periodon Implantol*, 18(1), 11-39.

- Bascones, M., Mudaraa, M., & Perea, E. (2002). Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol*, 14(3), 101-114.
- Binney, A. (1993). The plaque removal effects of single rinsing and brushing. *J Periodontol*, 181-183.
- Bozdogan, E. y cols. (2016). Presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in saliva and cardiac tissue samples of children with congenital heart disease. *J Dent Res*, 637-642.
- Calvaca, S. (2009). Clinical status and detection of periodontopathogens and *Streptococcus mutans* in children with high levels of supragingival film. *Braz Oral Res*, 23(3):313-8.
- Campos, F. (2016). Longitudinal study on clinica and microbial analysis of periodontal status in pregnancy. *Braz. Oral Res. 2016;30(1):e87*, 1-8.
- Caridad, C. (2011). *El pH, Flujo Salival y Capacidad Buffer en Relación a la Formación de la Placa Dental*. Venezuela: Universidad de Caraboco. Facultad de Odontología.
- Carranza FA, Sznajder NG. (1996). *Compendio de periodoncia*. Argentina: Médica Panamericana.
- Cavalca, S. (2009). Clinical status and detection of periodontopathogens and *Streptococcus mutans* in children with high levels of supragingival biofilm. *Braz. Oral Res*, 313-318.
- Colgate. (20 de 02 de 2014). *La placa dental como biofilm: ¿Como eliminarla?* España: RCOE.
- Contreras C, Vasquez MP y Maita LM. (2008). Eficacia de la clorhexidina y del control mecánico en la reducción de gingivitis en niños de 10 a 12 años. *Kiru*, 65-69.
- Cortelli, J. (2008). Etiological Analysis of Initial Colonization of Periodontal Pathogens in Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 1322-1329.
- Demir T, Orbak R, Tezel A, Canakc V, Kaya H. (2009). The changes in the T-lymphocyte subsets in a population of Turkish children with puberty gingivitis. *Int J Paediatr Dent*, 19:206--212.
- Díaz, J., Yáñez, J., & Melgar, S. (2012). *Virulencia y variabilidad de Porphyromonas gingivalis y Aggregatibacter actinomycetemcomitans y su asociación a la periodontitis*. Chile: Universidad de Chile.

- Díaz-Zúñiga J y cols. (2012). Virulencia y variabilidad de *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y su asociación a la periodontitis. *Rev. Clin. Periodonco Implantol. Rehabil. Oral*, 40-45.
- Emmaty R and cols. (2013). Comparative evaluation of subgingival plaque microflora in pregnant and non-pregnant women: A clinical and microbiologic study. *Indian Soc Periodontol.*, 47-51.
- Enrile, F., & Fuenmayor, E. (2010). *Manual de higiene bucal*. Buenos Aires: Panamericana.
- Escudero, N., Perea, M., & Bascones, A. (2008). Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol*, 20(1), 27-37.
- Fine, D. (2007). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and Its Relationship to Initiation of Localized Aggressive Periodontitis: Longitudinal Cohort Study of Initially Healthy Adolescents. *Journal of Clinical Microbiology*, 3859-3869.
- Fine, D. H. (2013). Can salivary activity predict periodontal breakdown in *A. actinomycetemcomitans* infected adolescents? *Arch Oral Biol.*, 611-620.
- Gafan, G. (2004). Prevalence of Periodontal Pathogens in Dental Plaque of Children. *Journal of Clinical Microbiology*, 4141-4146.
- García, B. (1990). Gingivitis y periodontitis. *Revisión y conceptos actuales*, 343-9.
- Glickman, I. (1994). *Periodontología Clínica*. México: México Interamericana.
- Haraszthy VI y cols. (2000). Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol*, 1554-1560.
- Harris. (2001). *Odontología preventiva primaria* . Mexico: Manual Moderno .
- Harris, N., & García, F. (2014). *Odontología preventiva primaria*. México: Manual moderno.
- Hernandez JJ y Martinez GM. (Noviembre de 2004). Evaluación documental del gluconato de clorhexidina en colutorios: concentración, factores que la afectan y consecuencias. Ciudad Universitaria, El Salvador: Universidad del El Salvador.
- Herrera, M. (2014). *El papel del biofilm en el proceso infeccioso* . Colombia: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
- Heywood W, Henderson B, Nair SP. (2005). Cytolethal distending toxin: Creating a gap in the cell cycle. *J Med Microbiol*, 207-216.

- Ishihara K y cols. (2004). Correlation between detection rates of periodontopathis bacteria DNA in coronary stenotic artery plaque and in dental plaque samples. *J Clin Microbiol*, 1313-1315.
- Janakiram C, Deepan Kumar CV and Joseph J. (2017). Xylitol in preventing dental caries: A systematic review and meta-analysis. *J Nat Sci Bio Med*, 16-21.
- Juárez-López, ML y cols. (2004). Prevalencia y factores de riesgo asociados a enfermedad periodontal en preescolares de la Ciudad de México. *Scielo*, 1-6.
- Kadkhoda, Z. (2015). Antimicrobial effect of chlorhexidine on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* biofilms associated with peri-implantitis. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 1-5.
- Kidd, E. (1991). Role of chlorhexidine in the management of dental caries . *Int Dent J* , 279-86.
- Kolenbrander, P. (2000). Oral Microbial Communities: Biofilms, Interactions, and Genetic Systems. *Annual Review of Microbiology*, 54(2), 413-437.
- Lameli, C. (2000). Acquisition and Colonization Stability of Acquisition and Colonization Stability of *Porphyromonas gingivalis* in Children. *Journal of Clinical Microbiology*, 1-4.
- Lamell, C. (2004). Acquisition and Colonization Stability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in Children. *Journal of clinical microbiology*, 1196–1199.
- Law, C. (2014). Enfermedades gingivales en la niñez. En M. Newman, *Periodoncia Clínica de Carranza* (págs. 151-160). New York: Amolca.
- Lindhe. (2009). *Periodoncia clínica e Implantología Odontológica*. Madrid: Editoria Médica Panamericana .
- Machado FC, Cesar DE, Assis AV y cols. (2012). Detection and enumeration of periodontopathogenic bacteria in subgingival biofilm of pregnant women. *Braz Oral Res*, 1-8.
- Machado, F. (2016). Longitudinal study on clinical and microbial analysis of periodontal status in pregnancy. *Braz. Oral Res*, 1-8.
- Magalhaes AC, Moron B, Comar L, Buzala M. (2011). Uso racional dos dentífricos. *Rev Gaucha Odontologica*, 615-625.
- May AC, Ehrlich RL, Balashov S, Ehrlich GD, Shanmugam M, Fine DH, Ramasubbu N, Mell JC, Cugini C. (2016). Complete Genome Sequence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Strain IDH781. *Genome Announc*, 1-2.

- Maya JJ y cols. (2011). Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infectio.*, 98-107.
- Morinushi T, Lopatin DE, Van Poperin N, Ueda Y. (2000). The relationship between gingivitis and colonization of Porphyromonas gingivalis and Actinobacillus actinomycetemcomitans in children. *J Periodontol* , 71:403-409.
- Najafi S y cols. (2016). An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidina, on Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *J Lasers Med Sci*, 21-25.
- Naka S y cols. (2009). Distribution of periodontopathic bacterial species in Japanese children with developmental disabilities. *BMC Oral Health*, 9-24.
- Naka, S. (2009). Distribution of periodontopathic bacterial species in Japanese children with developmental disabilities. *BMC Oral Health*, 1-10.
- Nakano K y cols. (2009). Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. *Oral Microbiol Immunol*, 64-68.
- Nørskov-Lauritsen N, Kilian M. (2006). "Reclassification of Actinobacillus actinomycetemcomitans, H. aphrophilus, H. paraphrophilus and H. segnis as Aggregatibacter actinomycetemcomitans, A. aphrophilus and A. segnis and emended description of A. Aphrophilus to include V factor dependent... *Int J Syst Evol*, 2135-2146.
- OMS. (30 de 10 de 2017). *OMS Salud buco dental*. Obtenido de OMS Salud buco dental: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
- Orozco y colaboradores. (2002). Prevalencia de gingivitis en adolescentes de Tlalnepantla. *ADM*, 16-21.
- Ortega, P. (2016). La enfermedad periodontal, concepto, causas, tratamiento. *Cirugía e implantología dental*, 25(2), 26-31.
- Padilla y cols. (2006). Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 350-353.
- Perez, A. (2013). *La Biopelícula : una nueva visión de la placa dental*. Perú: Universidad de Lima. Facultad de odontología.
- Pillaca, P. (2016). Quorum Sensing: la comunicación microbiana. *Open Mind*, 16(5).
- Psoter, WJ y cols. (2011). PCR detection of Streptococcus mutans and Aggregatibacter actinomycetemcomitans in dental plaque samples from Haitian adolescent. *Clin Oral Investig*, 461-469.

- Quirynen, M. (2001). Effect o different Chlorhexidine formulations in mouthrinses on the novo plaque formation. *J Clin Periodontol*, 1127-1136.
- Raja, M y cols. (2014). Aggregatibacter actinomycetemcomitans: A tooth killer? *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 12-16.
- Ramos D y cols. (2010). Aggregatibacter actinomycetemcomitans: patogeno importante en la periodontitis. *Odontologia SanMarquina*, 42-45.
- Ramos, D. (2011). Aggregatibacter actinomycetemcomitans: Patógeno importante en la periodontitis agresiva. *Kiru*, 115-121.
- Rego, R. (2007). Transmission of Aggregatibacter actinomycetemcomitans between Brazilian Women with Severe Chronic Periodontitis and their Children. *Braz Dent J*, 220-224.
- Rizwana, N. (2013). *The Role of Cetylpyridinium Chloride Mouthwash In The Treatment of Periodontitis*. Estados Unidos: International Journal of Pharmaceutical Science Invention.
- Shaddox LM y cols. (2012). Microbiological Characterization in Children with Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *J Dent Res*, 927-933.
- Sharma et al. (2017). Aggregatibacter actinomycetemcomitans osteomyelitis in a 12 year old boy: case report emphasizing the importance of tissue culture and review of literature. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 12-17.
- Shles, A, Wolach B, Levi A, Gottesman G. (2010). Actinobacillus actinomycetemcomitans endocarditis in a 1.5 years old toddler. *BMJ Case Reports*, 1-2.
- Xynogala I y cols. (2009). Evaluation of the humoral immune response to the cytolethal distending toxin of Aggregatibacter actinomycetemcomitans in subjects with localized aggressive periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 116-123.

ANEXOS

Anexo 1. Factura de compra de bacteria.



1991

IMPORTADOR - DISTRIBUIDOR
Proveedor Integral para Laboratorio
www.medibac.com medibac@medibac.com
ESTABLECIDOS EN 1991



25
1991-2016

MATRIZ
Guayaquil : Enrique Ortega Moreira (Av. Las Aguas) 1111 y Laureles (Urdesa Central)
Teléfonos: (04) 238 1414 - 238 8597 - 288 1887
Celular: (09) 98574 829

SUCURSAL MULTIPLE GUAYAQUIL
Victor Emilio Estrada # 916 e Ilanes (Urdesa Central)
Telfs: (04) 602 999 - 238 7418 - 288 3948 - 612 069 - 548 929 - 549 210

SUCURSAL QUITO
Av. República de El Salvador N34-399 e Irlanda. (La Carolina)
Edificio Rosania. Planta Baja, Oficinas 4 y 6
Teléfonos: (02) 226 1478 - 246 6318

SUCURSAL PORTOVIEJO
Cda. Los Mangos calle Elias Cedeño E/ Bolívar Avila y Manuel Andrade
Piso 1.
Telf.: (05) 256 5182 Celular: 0958935253

R.U.C. 0992401494001

FACTURA

002-001-00005246

Autorización S.R.I. 1119461840

FECHA DE AUTORIZACIÓN: 15 /Septiembre/2016

Documento Categorizado: NO

Cliente: DJAMEL ANDRADE
Dirección: ARIAS DE UGARTE N29-96 Y DIAS DE LA MADRID
R.U.C. / C.C.: 1002616371
Teléfono: 0987462545

Asesor Comercial: CARMITA PAZMIÑO
Fecha de Emisión: 01/11/2016
Fecha de Vencimiento: 02/11/2016
Orden de Pedido: 12.820

CANT.	CÓDIGO	MARCA	DESCRIPCIÓN	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
1	01175P		AGREGATIBACTER ACTIOMYCETEM ATCC 28522	189,73	189,73



Innovación, Calidad y Servicio

FORMA DE PAGO

EFFECTIVO 216,29

SUMAN \$ **189,73**

DESCUENTO

BASE 0 **0,00**

BASE

I.V.A. 14 % **189,73**

I.V.A. 14 % **26,56**

TOTAL \$ **216,29**

Son: **Doscientos Dieciséis Y 29 / 100 Dólares Americanos** Dólares


 Firma Autorizada
 MEDIBAC INC. S.A.
 GABRIEL MANTUA


 Firma Cliente
 DJAMEL ANDRADE

FAVOR EMITIR CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE MEDIBAC INC. S.A.
 Declaro recibir la mercadería de esta FACTURA a mi entera conformidad, por lo tanto, DEBO Y PAGARE a la orden de MEDIBAC INC S.A.
 Esta factura de encontrarse vencida, al siguiente día devengará el máximo de INTERES POR MORA autorizado por la LEY, más todos los gastos de cobranzas ocasionados. En caso de juicio me sujetaré a los jueces competentes de la ciudad de Guayaquil y a la acción ejecutiva para lo cual renuncio a fuero y domicilio. **PASADO LOS CINCO DIAS DE SALIDA LA MERCADERIA NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES.**
 SOLICITE SU RECIBO DE COBRO AL CANCELAR ESTA FACTURA. ORIGINAL: ADQUIRENTE // COPIA 1: EMISOR COPIA 2: S.R.I.

Anexo 2. Solicitud de uso de laboratorio.

Quito, 6 de Junio de 2017

Doctora
Isabel Fierro
Decana de la Facultad de Química
Universidad Central del Ecuador
Quito
Presente.-

Por medio de la presente me dirijo a usted, tras darle un cordial saludo, yo Ana María Cabezas Espinosa con cédula de identidad 1714111042, estudiante de Odontopediatría de la Escuela de Odontología de la Universidad San Francisco de Quito, solicitando su autorización del uso de las instalaciones del laboratorio de bioquímica para el estudio experimental de mi investigación de tesis que mantengo realizando. Con tema de tesis: "Efecto inhibidor de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de dentífricos orales de uso pediátrico" para dar continuación a investigaciones realizadas por la Universidad Central del Ecuador, solicito amablemente su cooperación para el mismo.

Agradeciéndole desde ya por su gentileza y ayuda en mi investigación,

Atentamente,

Qdt. Ana María Cabezas

Teléfono de contacto: 0990449540

Anexo 3. Certificación de uso de laboratorio.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

CERTIFICADO

Certifico que la Señorita CABEZAS ESPINOSA ANA MARIA, con Cédula de Identidad No. 171411104-2, realizó las pruebas diagnósticas bacteriológicas en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador en conjunto con la Dra. Rachide Acosta, para el estudio de su tesis con el tema "EFECTO INHIBIDOR DE CRECIMIENTO DE LA CEPA PURA DE AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS DE DENTIFRICOS ORALES DE USO PEDIATRICO". Dicho estudio fue realizado con las normas de calidad establecidas.

La mencionada señorita puede hacer uso de este documento como crea conveniente a sus intereses.

Quito, 4 de septiembre del 2017

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

Alexandra



Anexo 4. Protocolo específico de manejo de desechos infecciosos.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

PROTOCOLO DE MANEJO DE DESECHOS INFECCIOSOS

- a) Los cultivos de agentes infecciosos y desechos biológicos, cajas Petri, placas de frotis y todos los instrumentos para manipular, mezclar o inocular microorganismos son recolectados en un recipiente específico rotulado y son llevados al "área de generación".
- b) Los desechos serán clasificados y separados, por los responsables en el área de generación.
- c) Las Cajas Petri, los tubos de ensayo de vidrio, Hisopos contaminados se colocaran en autoclave para el proceso de esterilización mediante la combinación de calor y presión proporcionada por el vapor de agua, en un tiempo determinado a 134° C, a 1,1 atmósferas por un periodo de 30 min.
- d) Se deja enfriar aproximadamente por 30 minutos.
- e) Las placas, portaobjetos y cubreobjetos, se deja en un recipiente de vidrio para su posterior descontaminación (hipoclorito 5.000 ppm durante 20 minutos), se lava con agua y detergente.
- f) Posterior a ello todo el material de desechos generado y previamente tratado se coloca en funda roja rotulada que contiene la siguiente información: contenido (cortopunzante, infeccioso), peso, fecha y persona responsable. Se realiza el traslado del material generado al cuarto de Depósito Final de Desechos de la Facultad de Ciencias químicas hasta su recolección.
- g) El personal responsable observando los lineamientos de bioseguridad correspondiente usa guantes, mascarilla, gorro, que posteriormente son desechados en fundas rojas.
- h) El manejo externo de desechos biológicos, es efectuado por la Empresa Pública Metropolitana Integral de Residuos Sólidos. "EMGIRS-EP", quienes trabajan conjuntamente con el laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas, y son los encargados de retirar del área de Depósito los desechos Infecciosos, biológicos y especiales.

Quito, 4 de septiembre del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
LABORATORIO CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Anexo 5. Certificación de esterilización del material utilizado.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

CERTIFICADO

El Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador, certifica que todo el material utilizado en la realización de las tesis de la Facultad de Odontología, es sometido a proceso de esterilización previo a su uso.

Quito, 4 de septiembre del 2017

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

Alexandra



Anexo 6. Método de activación de bacterias.

TECHNICAL INFORMATION BULLETIN

TIB.081



RECOMMENDED GROWTH REQUIREMENTS

LYFO DISK® AND KWIK-STIK™ Microorganisms

SELECTION OF GROWTH REQUIREMENTS

1. Primary growth on a nonselective agar medium is preferred. Primary growth in a fluid medium should only occur in special instances or when recommended. Because of the manipulations required during hydration, it is difficult to obtain purity of a lyophilized strain in a fluid medium. A contaminant may completely overgrow and obscure the presence of the lyophilized strain.
2. The following information lists which method should be used to grow the various microorganism species. Descriptions of methods follow the microorganism list.

<i>Acetobacter</i> sp.	Method 3
Note: Incubate at 25°C in CO ₂ for 3-4 days.	
<i>Achromobacter</i> sp.	Method 1
<i>Acinetobacter</i> sp.	Method 1
<i>Actinobacillus</i> sp.	Method 3
<i>Actinomyces</i> sp.	Method 4
<i>Aerococcus</i> sp.	Method 1
<i>Aeromonas</i> sp.	Method 2
Note: <i>A. hydrophila</i> should be incubated at 30°C. <i>A. salmonicida</i> should be incubated at 25°C.	
<i>Aggregatibacter</i> sp.	Method 3
<i>Alcaligenes</i> sp.	Method 1
<i>Alicyclobacillus</i> sp.	Method 12
Note: <i>A. acidoterrestris</i> , Microbiologics #0265, should be incubated at 45°C.	
<i>Alloicoccus</i> sp.	Method 2
<i>Amylomyces</i> sp.	Method 5
<i>Aneurinibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Aquaspirillum</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C for 6 days.	
<i>Arcanobacterium</i> sp.	Method 2
<i>Arthrobacter</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Aspergillus</i> sp.	Method 5
Note: <i>A. flavus</i> does not grow well on Standard Methods Agar (Plate Count Agar).	
<i>Bacillus</i> sp.	Method 1
Note: Some <i>Bacillus</i> sp. demonstrate better recovery on subculture when the stock organism growth is maintained at room temperature rather than 2-8°C.	
<i>Bacteroides</i> sp.	Method 4
Note: <i>B. ureolyticus</i> should be incubated 5 days. The colonies are very small. Several subculture plates may need to be inoculated in order to have sufficient quantity of the microorganism for testing.	
<i>Bifidobacterium</i> sp.	Method 4
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Method 20
<i>Bordetella parapertussis</i>	Method 21
<i>Bordetella pertussis</i>	Method 21
<i>Brevibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Brevundimonas</i> sp.	Method 1
<i>Brochothrix</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Budvicia</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Burkholderia</i> sp.	Method 1
<i>Campylobacter</i> sp.	Method 6

Continuación Anexo 6

TECHNICAL INFORMATION BULLETIN

TIB.081

<i>Rhodotorula</i> sp.	Method 5
<i>Saccharomyces</i> sp.	Method 5
Note: Sabouraud Dextrose Emmons Agar is the best medium for growth of <i>Saccharomyces</i> sp.	
<i>Salmonella</i> sp.	Method 1
<i>Scopulariopsis</i> sp.	Method 5
<i>Serratia</i> sp.	Method 1
<i>Shewanella</i> sp.	Method 10
<i>Shigella</i> sp.	Method 1
<i>Sordaria</i> sp.	Method 5
Note: <i>Sordaria</i> sp. sporulates better on Sabouraud Dextrose Emmons Agar than on Sabouraud Dextrose Agar.	
<i>Sphingobacterium</i> sp.	Method 1
<i>Sphingomonas</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 25°C.	
<i>Sporidobolus</i> sp.	Method 5
<i>Staphylococcus</i> sp.	Method 1
Note: The degree of resistance of <i>S. aureus</i> , Microbiologics #0158, to Vancomycin tends to decrease depending on age of culture, type of media, and number of subcultures. For best results, propagate strain on Brian Heart Infusion Agar with 4mcg/mL Vancomycin.	
<i>Stenotrophomonas</i> sp.	Method 1
Note: Incubate at 30°C.	
<i>Streptococcus</i> sp.	Method 2
Note: <i>S. cricetus</i> must be incubated in a microaerophilic environment. <i>Streptococcus</i> sp., Microbiologics #0978, should be grown in CO ₂ .	
<i>Streptomyces</i> sp.	Method 5
Note: <i>Streptomyces</i> sp. does not grow on Potato Dextrose Agar.	
<i>Thermoanaerobacterium</i> sp.	Method 4
Note: Primary growth medium for <i>T. thermosaccharolyticum</i> , Microbiologics #0728, is Cooked Meat Medium. Incubation at 45°C for 72 hours is required. After initial growth, organism may be grown on Anaerobic Blood Agar which is incubated at 45°C for 72 hours in anaerobic atmosphere.	
<i>Trichophyton</i> sp.	Method 5
<i>Trichosporon</i> sp.	Method 5
<i>Ureaplasma</i> sp.	Method 13
<i>Veillonella</i> sp.	Method 4
<i>Vibrio</i> sp.	Method 10
<i>Virgibacillus</i> sp.	Method 1
<i>Yarrowia</i> sp.	Method 5
<i>Yersinia</i> sp.	Method 1
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	Method 5
Note: <i>Z. bailii</i> , Microbiologics #01011, does not grow well on nonselective Sheep Blood Agar, Nutrient Agar, or Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar).	

3. The following information lists methods for growing microorganisms. When possible, more than one type of agar medium per method is listed.

Method 1

- Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), nonselective Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar (Plate Count Agar) or Nutrient Agar - 35°C in aerobic atmosphere - 24 to 48 hours.

Method 2

- Nonselective Sheep Blood Agar - 35°C in aerobic atmosphere - 24 to 72 hours. Growth of some species such as *Streptococcus* and *Arcanobacterium* are enhanced by CO₂ enrichment of the incubation atmosphere. 5% CO₂ is recommended for the culture of *Streptococcus pneumoniae* and other streptococcal species of the viridians group.

Method 3

- Chocolate Agar - 35°C in 5% to 7% CO₂ - 24 to 48 hours.

Method 4


- Anaerobic Blood Agar 35°C in Anaerobic Environment - 48 to 72 hours.
- Some obligate anaerobes may require 5 to 7 days to demonstrate sufficient growth.
- Fresh prepared Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), Standard Methods Agar (Plate Count Agar) are appropriate alternatives for some *Clostridium* species together with an additional period (24 hours) of incubation.

Anexo 7. Factura de discos de papel estériles.



MEDIBAC
(1991)

IMPORTADOR - DISTRIBUIDOR
Proveedor Integral para Laboratorio
www.medibac.com medibac@medibac.com
ESTABLECIDOS EN 1991



25
AÑOS

MATRIZ
Guayaquil : Enrique Ortega Moreira (Av. Las Aguas) 1111
y Laureles (Urdesa Central)
Teléfonos: (04) 288 1414 - 238 8597 - 288 1887
Celular: (09) 98574 829

SUCURSAL MULTIPLE GUAYAQUIL
Victor Emilio Estrada # 916 e Ilanes (Urdesa Central)
Telfs.: (04) 602 999 - 238 7418 - 288 3948 - 612 069 - 548 929 - 549 210

SUCURSAL QUITO
Av. República de El Salvador N34-399 e Irlanda. (La Carolina)
Edificio Rosania, Planta Baja, Oficinas 4 y 6
Teléfonos: (02) 226 1478 - 246 6318

SUCURSAL PORTOVIEJO
Cda. Los Mangos calle Elias Cedeño E/ Bolívar Avila y Manuel Andrade
Piso 1.
Telf.: (05) 256 5182 Celular: 0958935253

R.U.C. 0992401494001

FACTURA

002-001-000006105

Autorización S.R.I. 1119461840

FECHA DE AUTORIZACIÓN: 15 /Septiembre/2016

Documento Categorizado: NO

Cliente: CABEZAS ESPINOZA ANA MARIA

Dirección: GRANDA CENTENO

R.U.C. / C.C.: 1714111042

Teléfono: 02-2267347

Asesor Comercial: CARMITA PAZMIÑO

Fecha de Emisión: 08/06/2017

Fecha de Vencimiento: 09/06/2017

Orden de Compra:

Orden de Pedido: 16.842

CANT.	CÓDIGO	MARCA	DESCRIPCIÓN	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
10	CT0998B	OXOID	BLANK CT998 OXOID	4,50	45,00



Innovación, Calidad y Servicio

FORMA DE PAGO

OTROS 50,40

Son: Cincuenta Y 40 / 100 Dólares Americanos Dólares

SUMAN \$ 45,00

DESCUENTO

BASE 0 0,00

BASE 12 45,00

I.V.A. 12% 5,40

TOTAL \$ 50,40

MEDIBAC INC S.A. Firma Autorizada Firma Cliente

FAVOR EMITIR CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE MEDIBAC INC. S.A. Declaro recibir la mercadería de esta FACTURA a mi entera conformidad; por lo tanto, DEBO Y PAGARÉ a la orden de MEDIBAC INC S.A. Esta factura de encontrarse vencida, al siguiente día devengará el máximo de INTERES POR MORA autorizado por la LEY, más todos los gastos de cobranzas ocasionados. En caso de juicio me sujetaré a los jueces competentes de la ciudad de Guayaquil y a la acción ejecutiva para lo cual renuncio a fuero y domicilio. PASADO LOS CINCO DIAS DE SALIDA LA MERCADERIA NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES. ORIGINAL: ADQUIRENTE // COPIA 1: EMISOR COPIA 2: S.R.I. SOLICITE SU RECIBO DE COBRO AL CANCELAR ESTA FACTURA


Anexo 8. Sobres para generación de condiciones anaerobias.



Anexo 9. Certificado de Autenticidad de la bacteria *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC® 29522.

Microbiologics®

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

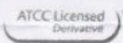
<p>Specifications</p> <p>Microorganism Name: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (serotype B)</p> <p>Catalog Number: 01175</p> <p>Lot Number: 1175-02</p> <p>Reference Number: ATCC® 29522™*</p> <p>Purity: < 0.1% Total Pellet CFU</p> <p>Recovery: > 1000 CFUs per Pellet</p> <p>Passage from Reference: 4</p>	<p>Expiration Date: 2017/7/31</p> <p>Release Information:</p> <p>Quality Control Technologist: Christine Condon</p> <p>Release Date: 2015/9/14</p>
<p>Macroscopic Features: Medium, circular, entire edges, light grey in color</p> <p>Microscopic Features: Gram negative short fat rods</p> <p>ID System: Vitek NH (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	<p style="text-align: center;">Performance</p> <p>Medium: Chocolate</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p> <p>Other Features/ Challenges: Results</p> <p>V factor (disks): positive/growth</p> <p>X factor (disks): positive/growth</p> <p>XV factor (disks): positive/growth</p> <p>(1) Oxidase (Kovacs): positive</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">  Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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

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


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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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


 TESTING CERT #2655.01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303

Page 1 of 1

DOC-286

Anexo 11. Declaración de no conflicto de interés (investigadora).



Documento de declaración de conflictos de interés.

Yo Ana María Cabezas Espinosa con cédula de identidad # 1714111042 en calidad investigadora; declaro que, no existe relación alguna entre mi parte y cualquier entidad pública o privada de la cual se pudiera derivar algún posible conflicto de interés que pudiera surgir por distintos tipos de relaciones, pasadas o presentes, tales como: labores, de contratación, consultoría, inversión, financiación de la investigación, relación familiar, y otras, que pudieran ocasionar un sesgo no intencionado del presente manuscrito.

Dra. Ana María Cabezas Espinosa

C.I. 1714111042

Anexo 12. Declaración de no conflicto de interés (directora de tesis).



Documento de declaración de conflictos de interés.


Yo Jenny Edith Collantes Acuña con cédula de identidad # 1708684103 en calidad de tutor del trabajo de investigación; declaro que, no existe relación alguna entre mi parte y cualquier entidad pública o privada de la cual se pudiera derivar algún posible conflicto de interés que pudiera surgir por distintos tipos de relaciones, pasadas o presentes, tales como: labores, de contratación, consultoría, inversión, financiación de la investigación, relación familiar, y otras, que pudieran ocasionar un sesgo no intencionado del presente manuscrito.

Dra. Jenny Edith Collantes Acuña

C.I. 1708684103

Anexo 13. Aprobación de protocolo investigación.

2017-004T



Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos
Universidad San Francisco de Quito

El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ

Aprobación MSP, Oficio No. MSP-VGV5-2016-0244-O, 26 de Abril de 2016

Quito, 06 de junio de 2017

Señorita
 Ana María Cabezas
 Investigadora Principal
 UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO
 Ciudad

De mi mejor consideración:

Por medio de la presente, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad San Francisco de Quito se complace en informarle que su solicitud de revisión y aprobación del estudio de investigación "Efecto inhibidor de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de dentífricos orales de uso pediátrico", ha sido aprobada el día de hoy como un estudio *exento*.

El CEISH - USFQ aprueba el estudio ya que cumple con los siguientes parámetros:

- El proyecto de investigación muestra metas y/o objetivos de significancia científica con una justificación y referencias.
- El protocolo cuenta con provisiones para proteger la privacidad y confidencialidad de los participantes del estudio en sus procesos de recolección, manejo y almacenamiento de datos
- El protocolo detalla las responsabilidades del investigador

Además el investigador principal de este estudio ha dado contestación a todas las dudas y realizado todas las modificaciones que este Comité ha solicitado en varias revisiones. Los documentos que se aprueban y que sustentan este estudio es la versión # 1 de mayo 31, 2017 que incluyen:

- Solicitud de revisión y aprobación de estudio de investigación, 7 páginas;
- Solicitud de NO aplicación al consentimiento informado por escrito, 1 páginas;
- Hoja de vida de la Investigadora Principal, 2 páginas;

Esta aprobación tiene una duración de **un año (365 días)** transcurrido el cual se deberá solicitar una extensión si fuere necesario. En toda correspondencia con el Comité de Bioética favor referirse al siguiente código de aprobación: **2017-004T**. El Comité estará dispuesto a lo largo de la implementación del estudio a responder cualquier inquietud que pudiese surgir tanto de los participantes como de los investigadores.

Casilla Postal 17-12-841, Quito, Ecuador
 comitebioetica@usfq.edu.ec
 PBX (593-2) 297-1700 ext 1149

Continuación Anexo 13

T400-004T

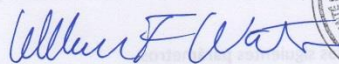
2017-004T

Favor tomar nota de los siguientes puntos relacionados con las responsabilidades del investigador para este Comité:

1. El Comité no se responsabiliza por los datos que hayan sido recolectados antes de la fecha de esta carta; los datos recolectados antes de la fecha de esta carta no podrán ser publicados o incluidos en los resultados.
2. El Comité ha otorgado la presente aprobación en base a la información entregada por los solicitantes, quienes al presentarla asumen la veracidad, corrección y autoría de los documentos entregados.
3. De igual forma, los solicitantes de la aprobación son los responsables por la ejecución correcta y ética de la investigación, respetando los documentos y condiciones aprobadas por el Comité, así como la legislación vigente aplicable y los estándares nacionales e internacionales en la materia.

Deseándole los mejores éxitos en su investigación, se solicita a los investigadores que notifiquen al Comité la fecha de terminación del estudio.

Atentamente,




William F. Waters, PhD

Presidente Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos USFQ
cc. Archivo general, Archivo protocolo

FOTOGRAFÍAS



Fotografía 3. Dentífricos pediátricos utilizados.



Fotografía 4. Enjuagues pediátricos utilizados.



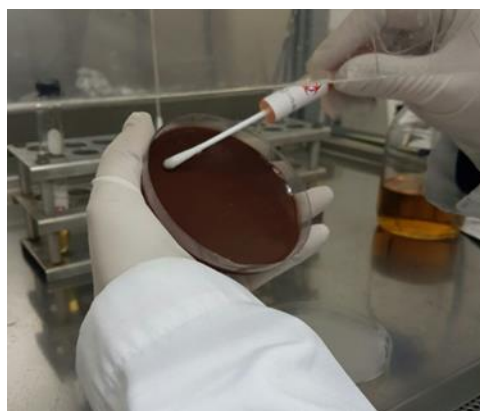
Fotografía 5. Sobre de cepa de *A. Actinomycetemcomitans*.



Fotografía 6. Constatación del laboratorio de microbiología.



Fotografía 7. Proceso de esterilización de material experimental.



Fotografía 8. Activación de la cepa.



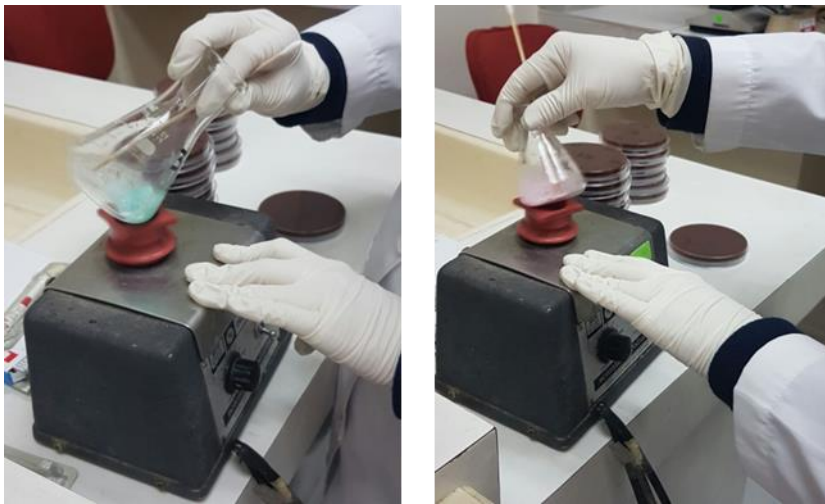
Fotografía 9. Incubación de la cepa.



Fotografía 10. Colocación de la cepa para experimentación.



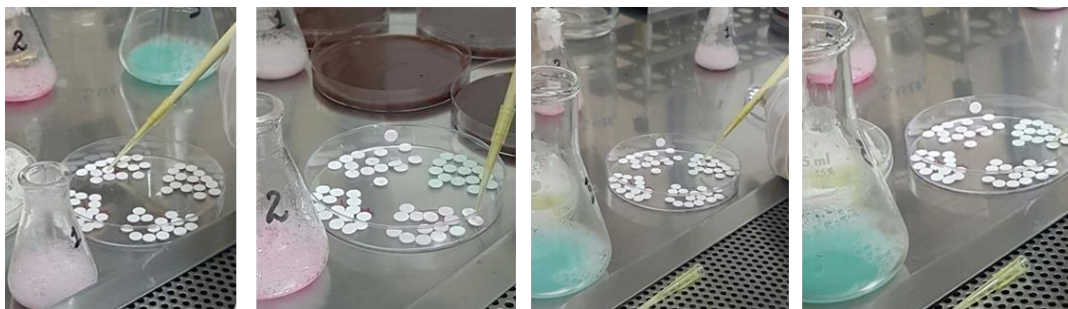
Fotografía 11. Pesaje de muestras.



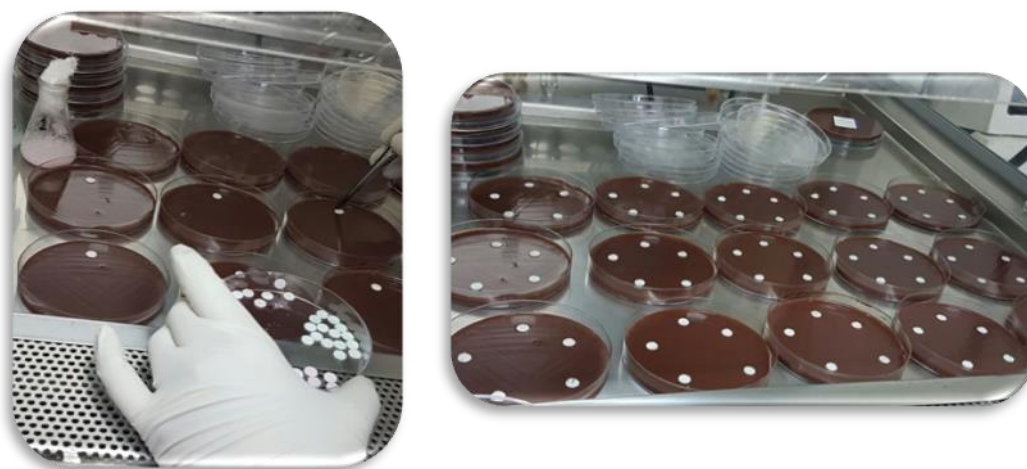
Fotografía 12. Homogenización de la muestra.



Fotografía 13. Identificación de cajas Petri.



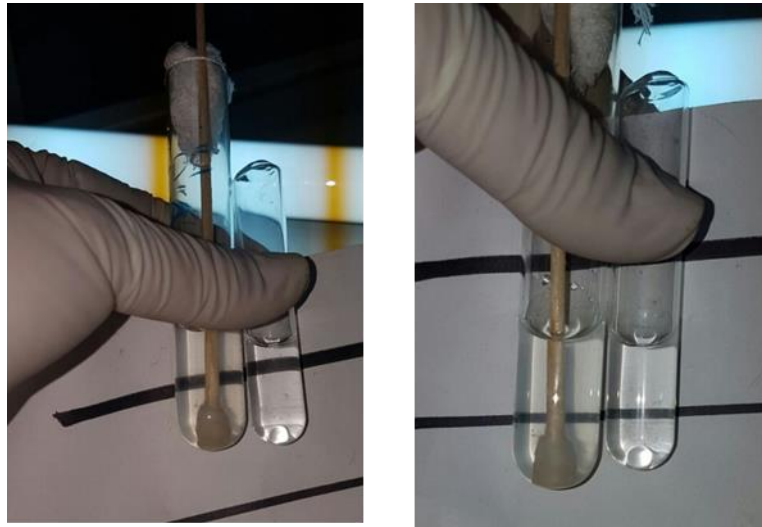
Fotografía 14. Embadurnamiento de discos dentífricos pediátricos.



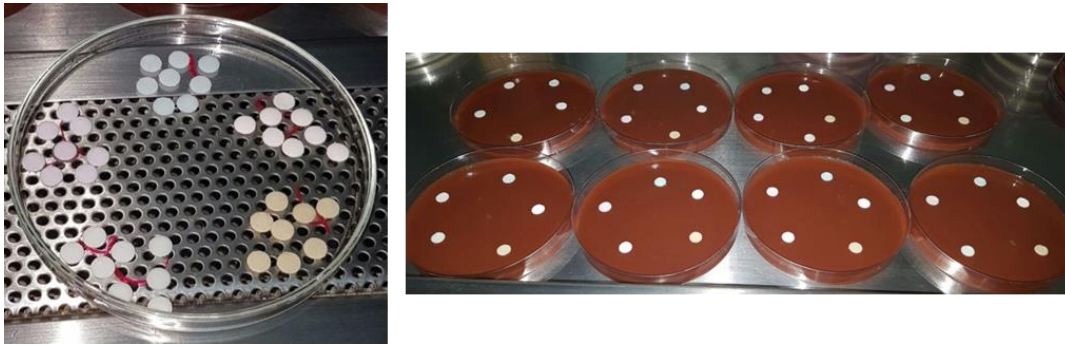
Fotografía 15. Colocación de discos en cajas Petri.



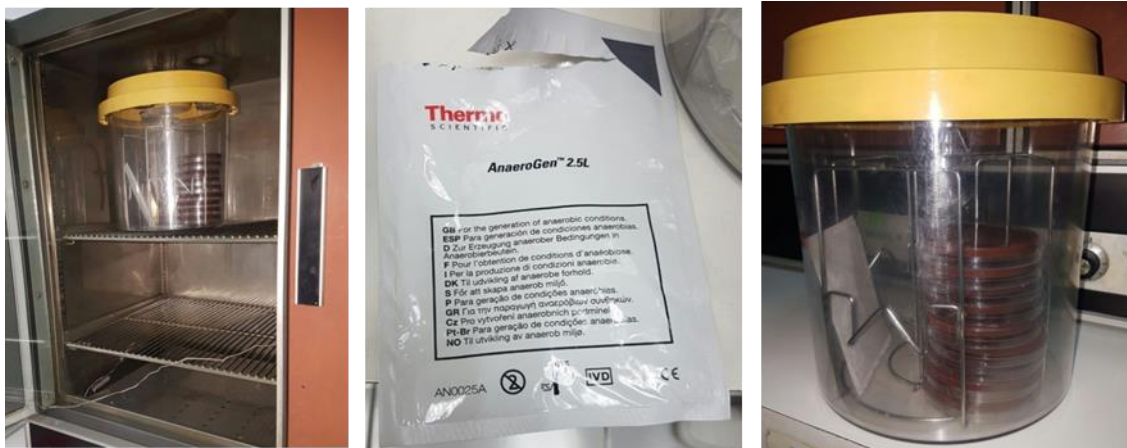
Fotografía 16. Incubación en condiciones anaerobias.



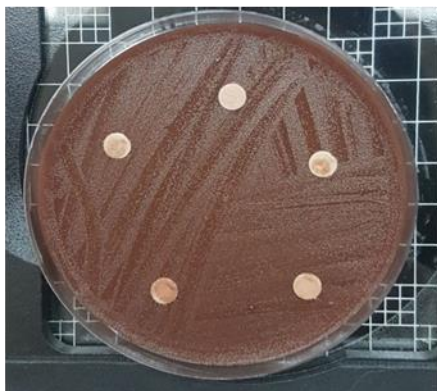
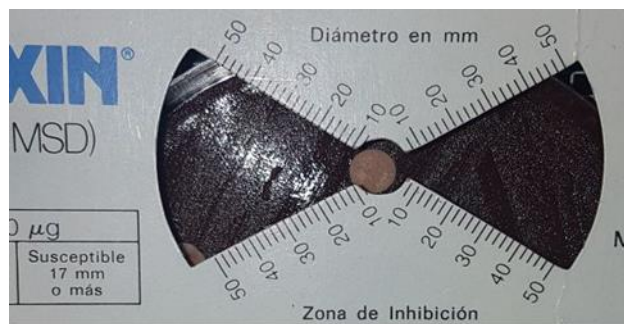
Fotografía 17. Reactivación de cepa.



Fotografía 18. Embadurnamiento y colocación de discos en caja con enjuagues pediátricos.



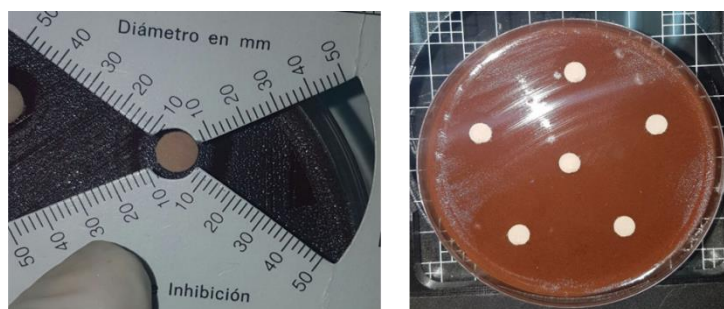
Fotografía 19. Incubación en condiciones anaerobias apropiadas.



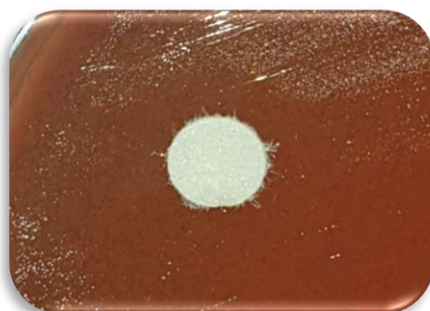
Fotografía 20. Medición de halos de inhibición: dentífricos.



Fotografía 21. Medición de halos de inhibición: enjuagues.



Fotografía 22. Medición de halos de inhibición: control positivo dentífrico y enjuague.



Fotografía 23. Medición de halos de inhibición: control negativo.