



Recepción: 15 / 04 / 2017

Aceptación: 01 / 05 / 2017

Publicación: 15 / 05 / 2017

Ciencias Médicas

Artículo Científico

Efecto inhibidor del colutorio de ciruela pasa sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, y comparación con dos colutorios comerciales

Inhibitory effect of prune mouthwash on Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus, and comparison with two commercial mouthwashes

O efeito inibidor de ameixa seca bochecho em Streptococcus mutans e Lactobacillus acidophilus, e em comparação com duas colutórios comerciais

Paola C. Sandoval-Pérez^I
pao-sando.psp@hotmail.com

Juan A. Viteri-Moya^{II}
drdjuanvimo@hotmail.com

Correspondencia: drdjuanvimo@hotmail.com

^I Odontólogo, Universidad Central del Ecuador.

^{II} Magister en Microbiología mención Biomédica; Diploma Superior de Aparatología Miofuncional de Ortopedia Dentomaxilofacial; Diploma Superior en Técnica Amalgamada de Ortodoncia; Diploma Superior en Gestión para el Aprendizaje Universitario; Doctor en Odontología; Universidad Central del Ecuador.

Resumen

Debido a que la caries es considerada como un problema de salud pública, el objetivo de esta investigación es la elaboración de un colutorio que sirva como medio de prevención alternativo ante este problema. La “ciruela pasa”, por poseer un triterpenoide capaz de inhibir bacterias causantes de caries fue la base para este colutorio. El estudio se realizó en la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, en el que se determinó el efecto inhibitor del colutorio de ciruela pasa sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, bacterias presentes en caries; y a la vez se realizó la comparación con dos colutorios comerciales muy usados por los ecuatorianos. El proceso inició con la obtención del extracto de ciruela pasa mediante maceración en alcohol y destilación por arrastre de vapor, seguido de pruebas de valoración que determinaron la concentración al 5% del extracto para elaborar el colutorio; posteriormente se realizó el estudio in-vitro con cepas puras de la bacterias ya mencionadas, con una muestra total de 90 medios de cultivo, 45 por cepa bacteriana y usando sensodiscos embebidos con los 3 colutorios. Se obtuvo así que *Streptococcus mutans* fue un 93,3% resistente y *Lactobacillus acidophilus* un 88.9% resistente al colutorio de ciruela pasa; *Streptococcus mutans* un 82,2% sensible y *Lactobacillus acidophilus* un 93.3% sensible al colutorio comercial #1 (D); *Streptococcus mutans* un 91.1% resistente y *Lactobacillus acidophilus* un 82.2% resistente al colutorio comercial #2 (O).

Palabras clave: Inhibición; colutorio; ciruela pasa; *streptococcus mutans*; *lactobacillus acidophilus*.

Abstract

Due to the fact caries is considered a public health problem; the purpose of this investigation is preparing a mouthwash usable as an alternative prevention means of de problem. Prune, due to the fact it has triterpenoid capable to inhibit bacteria that causes caries was the base for such mouthwash. The study was conducted in the School of Dentistry of the Universidad Central del Ecuador, where the inhibiting effect of the mouthwash made with prune was determined on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, bacteria involved in caries; and at the same time, a comparison with commercial mouthwashes used by Ecuadorian inhabitants was made. The process started with the obtaining of prune extract obtained through alcohol maceration and distillation by steam drag, followed by valuation test to determine 5% concentration of the extract to prepare mouthwash. Afterwards, an in-vitro study of pure strains of above-referred bacteria, with a total sample of 90 culture means, 45 for bacterial strain and using sensitive-disc embedded with 3 mouthwashes. *Streptococcus mutans* was found 93.3% resistant and *Lactobacillus acidophilus*, a 88.9% was resistant to plum mouthwash; *Streptococcus mutans*, a 82.2% was sensitive, and *Lactobacillus acidophilus* an 93.3% was sensitive to commercial mouthwash #1 (D); *Streptococcus mutans*, a 91.1% was resistant, and *Lactobacillus acidophilus*, a 82.2% was resistant to commercial mouthwash #2 (O).

Key words: Inhibition; mouthwash; prune; *streptococcus mutans*; *lactobacillus acidophilus*.

Resumo

Devido ao fato, a cárie é considerada um problema de saúde pública; O objetivo desta investigação é preparar um enxaguatório bucal utilizável como um meio de prevenção alternativa do problema. A poda, devido ao fato de ter triterpenoid capaz de inibir bactérias que causam cárie, foi a base para esse enxaguatório bucal. O estudo foi realizado na Faculdade de Odontologia da Universidade Central do Equador, onde o efeito inibidor do enxaguatório feito com ameixa foi determinado em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, bactérias envolvidas em cáries; E, ao mesmo tempo, foi feita uma comparação com os enxaguatórios bucais comerciais usados pelos habitantes equatorianos. O processo começou com a obtenção de extrato de ameixa obtido através de maceração e destilação de álcool por vapor de arrasto, seguido de teste de avaliação para determinar a concentração de 5% do extrato para preparar o enxaguatório bucal. Posteriormente, um estudo in vitro de estirpes puras de bactérias acima referidas, com uma amostra total de 90 meios culturais, 45 para estirpe bacteriana e uso de disco sensível embutido com 3 enxaguatórios bucais. *Streptococcus mutans* foi encontrado 93,3% resistente e *Lactobacillus acidophilus*, um 88,9% foi resistente ao enxaguatório de ameixa; *Streptococcus mutans*, um 82,2% era sensível, e *Lactobacillus acidophilus* 93,3% era sensível ao enxaguatório bucal comercial # 1 (D); *Streptococcus mutans*, 91,1% era resistente e *Lactobacillus acidophilus*, um 82,2% era resistente ao enxaguatório bucal comercial # 2 (O).

Palavras chave: Inibição; Lavagem bucal; ameixa seca; *Streptococcus mutans*; *Lactobacillus acidophilus*.

Introducción.

Las personas necesitan una salud bucal óptima para un mejor desenvolvimiento en la sociedad, el deber del profesional es utilizar medios de prevención para evitar caries y enfermedad periodontal que son las más comunes. (1) La caries es una de las principales causas de pérdida de piezas dentales y por eso hay que tomar en cuenta su proceso de formación y los medios de prevención. (2)

El investigador mexicano Rivero J, 2008, (3) mencionó la existencia de muchas especies bacterianas en cavidad oral, siendo varias de ellas patógenas; al determinar que la ciruela pasa contiene triterpenoide que actúa como inhibidor de *Porphyromona gingivalis* y *Streptococcus mutans* causantes de enfermedad periodontal y caries respectivamente, mencionó que estas dos enfermedades pueden ser prevenidas gracias a la ciruela pasa como medio alternativo. Así como Brown K; et al, 2013, (4) refieren que existen medios preventivos pero también debe haber la intervención del odontólogo.

Palma & Sánchez, 2013, (5) indicaron que la mejor forma para evitar caries es: acudir al odontólogo, sellar fosas y fisuras de piezas dentales, tener técnicas de cepillado, usar hilo dental, enjuague bucal y una dieta no cariogénica. Al ser la caries un problema común en los ecuatorianos y en el mundo con unos 5 mil millones de personas según la OMS en el 2007, en muchas ocasiones debido a la escasa información, pocos cuidados y a la falta de una gran variedad de productos de higiene oral no nocivos.

El estudio se realizará en la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador en el Área de Microbiología, el estudio utilizará la técnica in-vitro, con cepas bacterias puras, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, especies presentes en caries; se elaborará un

colutorio a base de ciruela pasa por su propiedad inhibitoria y se comparará con dos colutorios comerciales, por la falta de información de estudios realizados en México, se espera que los resultados obtenidos gracias a esta investigación sirvan como fuente de información para ser utilizado por los estudiantes de la Universidad Central del Ecuador y por el público en general, quienes deseen conocer nuevas alternativas de prevención e higiene oral.

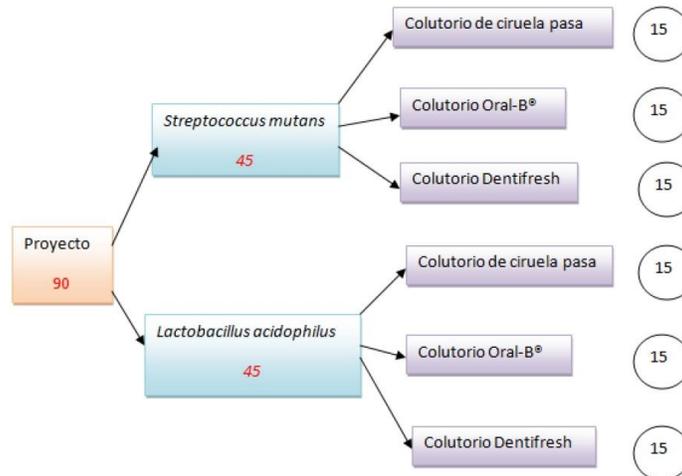
Materiales y métodos.

El presente trabajo de investigación será explicativo, experimental, prospectivo, transversal y comparativo.

Será explicativo ya que el presente trabajo tendrá más de dos variables y está sujeta al análisis, experimental ya que serán realizados por el investigador, prospectivo ya que los resultados obtenidos en México sirven como base y el nuestro posiblemente puede ser empleado posteriormente como fuente de nuevas investigaciones, transversal ya que se mide una sola vez y comparativo ya que se hace comparación entre tres tipos de colutorios, que ya hemos mencionado.

La muestra quedará conformada por 90 medios de cultivo en total que se organizaran en los dos grupos de estudio, 45 por cada especie de bacteria que vamos a estudiar, utilizando el muestreo estratificado; Malhotra, 2004, (6) menciona que el muestreo estratificado es un proceso constituido por dos fases y la población puede dividirse en subpoblaciones y también conocidos como estratos. Vivanco 2005, (7) menciona al respecto, que ésta técnica se caracteriza por utilizar información auxiliar que permite agrupar en elementos, este muestreo es igual o mejor que el muestreo aleatorio.

Por lo que la distribución de las unidades muestrales se desarrolló de la siguiente manera:



Criterios de Inclusión

Principales bacterias causantes de caries dental, como son *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, siendo procedentes de cepas puras.

Criterios de Exclusión

Bacterias causantes de otras patologías orales como, gingivitis a causa de *Porphyromona gingivalis*, etc.

La técnica a emplearse será de tipo tanto directa como indirecta. Indirecta ya que las cepas con las cuales se realizará el estudio son puras, y no son obtenidas de cavidad oral, y directa ya que se las hará sobre estas cepas, colocando cada uno de los colutorios como se tiene previsto, mediante el uso de discos de sensibilidad en blanco, para facilitar el trabajo y medición de halos de inhibición.

Método.

Se procedió a macerar 1kg de ciruela pasa en agua para posteriormente ser llevada a destilación.

Al momento de realizar el procedimiento de destilación, el balón en el que se estaba trabajando comenzó a fracturarse siendo así un intento fallido, ya que la ciruela pasa se caramelizó con el agua y comenzó a quemarse.



Figura N° 1.- Maceración en agua, fallido

Se procedió a macerar en alcohol durante aproximadamente 5 días para posteriormente ser destilado, resultando de la manera deseada se obtuvo el extracto de ciruela pasa, con un total de 300ml.



Figura N° 2.- Obtención extracto de ciruela pasa

Se llevaron a cabo pruebas microbiológicas para determinar si el extracto de ciruela pasa era capaz de actuar contra algunas bacterias, entre ellas *Staphylococcus aureus*, resultando positivo en una concentración al 5%.

Una vez listo todo lo necesario se procede con la siembra de las cepas bacterianas en los medios de cultivo, que fueron 90 en total, 45 medios de cultivo para cada cepa bacteriana, y clasificándolos 15 cultivos para cada colutorio en estudio, dentro de cada medio de cultivo se colocaron tres sensodiscos en blanco que previamente fueron embebidos en cada colutorio en estudio.



Figura N° 3.- Siembra de cepas bacterianas y colocación de discos de sensibilidad embebidos en los tres colutorios en estudio.



Figura N° 4.- Colocación de discos en blanco en medios de cultivo con S. mutans y otro con L. acidophilus.



Figura N° 5.- Sensodiscos embebidos en los tres colutorios en estudio

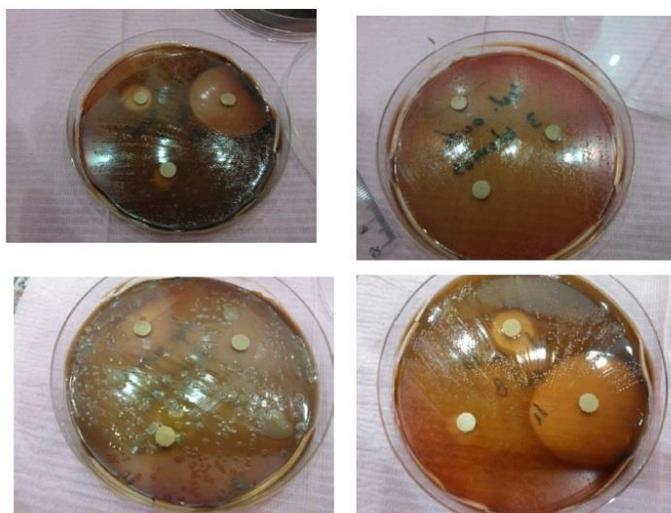


Figura N° 6.- Algunas de las muestras obtenidas (antibiograma)

Se utilizó paquetes estadísticos SPSS 22, con el cual se estimó el valor medio del halo de inhibición frente a cada cepa y para cada colutorio, se procedió a realizar la valoración de la sensibilidad de acuerdo a la escala propuesta. Finalmente se desarrolló la prueba de ANOVA para el análisis cuantitativo y la de Chi cuadrado para el análisis cualitativo, ambas pruebas a una significancia de 0,05.

Resultados.

Cepa	Grupo (I)	Grupo (J)	Diferencia de medias (I-J)	Significancia
Halo <i>Streptococcus mutans</i>	Ciruela	Dentifresh	-25,1	0,00
		Oral B	-1,7	0,26
	Dentifresh	Oral B	23,4	0,00
Cepa	Grupo (I)	Grupo (J)	Diferencia de medias (I-J)	Significancia
Halo <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Ciruela	Dentifresh	-22,33	0,00
		Oral B	-2,78	0,06
	Dentifresh	Oral B	19,56	0,00

Cuadro N° 1.- Test de Tukey

Al realizar la prueba ANOVA se obtuvo una significancia $p=0$ para el halo medio por colutorio frente a *Streptococcus mutans* y a *Lactobacillus acidophilus*, con lo que pudo concluirse que si existió diferencia significativa en el valor medio del halo de inhibición, por lo cual se procedió a desarrollar la prueba post Hoc de Tukey, con la que se determinó que el halo obtenido con el colutorio de ciruela difiere significativamente del obtenido con el colutorio comercial #1 (Dentifresh®) para las dos cepas ($p=0$), pero no difiere del obtenido con el colutorio comercial #2 (Oral B®) ($p>0,05$).

Cepa	Chi-cuadrado de Pearson	gl	Sig. asintótica (p)
<i>Streptococcus mutans</i>	98,8	4,0	0,0
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	105,1	4,0	0,0

Cuadro N° 2.- Prueba de chi cuadrado

Del análisis cualitativo que se presentó en las tablas 10 y 11 pudo estimarse la significancia para chi cuadrado, obteniéndose para las dos cepas que $p=0$ con lo que pudo concluirse que la sensibilidad y por lo tanto la eficacia dependió del tipo de colutorio empleado, obteniéndose mejor resultados con el colutorio comercial #1 (Dentifresh®), y resultados similares entre ciruela y colutorio comercial #2 (Oral B®).

Discusión.

Rivero J, 2008, (3) en su investigación menciona que la ciruela pasa contiene un triterpenoide que es capaz de inhibir bacterias como el *Streptococcus mutans*, una de las especies bacterias más predominantes en la formación de placa bacteriana y por ende de caries dental, pero no explica cómo obtenerlo; con información limitada en esta investigación, se realizó con ciruela tipo D'Agén, procedente de Chile, tal vez el medio de transporte y el tiempo del mismo fue un factor predominante para que nuestro estudio no resultara tan positivo como el realizado por el investigador mexicano. Probablemente el investigador realizó pasos preliminares y bajo ciertos parámetros que no estuvieron explicados en su publicación, lo cual no ayuda a posteriores investigaciones con respecto al tema y en este caso con respecto al uso de ciruela pasa para elaboración de productos para higiene oral.

Juárez, 2007, (8) nos mencionó que el investigador mexicano Dr. Rivero Cruz, de la UNAM (Universidad Autónoma de México) realizó investigaciones con frutas, entre ellas la ciruela pasa; en su estudio indica que la boca tiene muchas poblaciones bacterianas que pueden llegar a las “350 especies” y varias son patógenas; el Dr. Rivero estudió la ciruela pasa por sus múltiples propiedades, una de ellas la conservación de carnes, muy utilizado en Europa, demostrando su propiedad antibacteriana, la cual se ve comprobada en el transcurso de esta investigación porque hemos dejado una cantidad de extracto de ciruela pasa expuesto al ambiente durante 4 meses, se observa que no hay presencia de moho o levaduras y han muerto algunas hormigas que fueron atraídas por el dulce, la comprobación lo hemos anunciado en anexo No. 9, mediante imágenes.

Juárez, 2007, (8) mencionó que gracias al estudio del Dr. Fausto Rivero con ciruela pasa, descubrió la capacidad de esta para inhibir bacterias orales, entre ellas *Streptococcus mutans* que ocasionan caries; nuestro estudio se basó en dos bacterias principales, *Streptococcus mutans* ya estudiada por el investigador y *Lactobacillus acidophilus*, bacteria presente en caries de dentina; usando ciruela pasa en presentación de colutorio con una concentración al 5% del extracto, no fue tan efectiva como se esperaba, destacando que la iniciativa fue buena, tal vez la procedencia de la ciruela pasa, el medio de transporte, el tiempo, algunos conservantes o cambios producidos en el tiempo de estudio fueron factores preponderantes para su fallo; tal vez la concentración del extracto, otra fórmula de elaboración, u obtención específica del triterpenoide presente en la ciruela puedan dar hallaz Almeida, et al, 2009, (9) en su investigación sobre el enjuague bucal a base de tomillo, mencionaron que el enjuague bucal se usa para la rutina diaria de higiene oral y data de hace mucho tiempo, con el uso de productos caseros y naturales como el agua de manzanilla, hierba luisa, toronjil y entre otros; mencionaron que además de una buena técnica de cepillado se debe implementar el uso de enjuague bucal para disminuir el índice de caries, considerando que el 93% a

95% de pacientes en Ecuador presentan caries, al ser el colutorio un antiséptico es necesarios en la higiene oral. Destacaron también que el tomillo es un gran conservador de carnes al igual que la ciruela pasa, muy utilizada en Europa; siendo similares, con estudios más exhaustivos la ciruela pasa con su triterpenoide podría ser tan útil e importante como el tomillo, por su aceite esencial llamado timol, utilizado en la elaboración de varios colutorios. gos positivos e innovadores.

Colgate®, mencionó que los enjuagues con menos del 10% de alcohol en sus composiciones no producen daños en cavidad oral, al tener 25% o más de alcohol pueden provocar úlceras en cavidad oral, desprender epitelio y hasta producir gingivitis, por eso hay que destacar que para esta investigación nos hemos basado en un estudio realizado a Colgate Plax® que contiene un 7% de alcohol, siendo un enjuague bucal comercial y popular, utilizamos el mismo porcentaje de alcohol para evitar daños en el caso de realizar posteriores estudios in-vivo con nuestro enjuague a base de ciruela pasa.

El presente estudio tuvo muchas debilidades por los factores ya mencionados, pero hay que destacar que hubieron fortalezas, entre ellas, dar a conocer las múltiples propiedades de la ciruela pasa, no solo basándose en la más común como remedio para el estreñimiento, gracias a esta investigación se dan a conocer varios beneficios para la salud en general, y también a nivel de cavidad oral; tal vez con más estudios, más tiempo, más inversión, se obtengan hallazgos científicos más detallados e importantes, como Piñeiro & Zudaire, 2008, (10) lo mencionaron en su publicación “Ciruelas pasa para los huesos”, destacando un estudio in-vitro realizado en la Journal of Nutritional Biochemistry, que menciona la composición nutricional de la ciruela y como ayuda a los huesos, ya que esta tiene polifenoles que actúan sobre los osteoblastos que son las células formadoras de hueso, concluyendo con investigaciones realizadas en Oklahoma State University de U.S.A. en la que mencionan que la ciruela pasa puede utilizarse como alternativa para el tratamiento de osteoporosis.

Gaete & Oliva, 2012, (11) mencionaron en su publicación respecto al colutorio de manzanilla, este es natural y su uso es efectivo comparado con otros colutorios, destacando y comprobando que los colutorios con componentes naturales son mejores y generan más efectos positivos que efectos negativos, sin dejar de mencionar que nuestro colutorio a base de ciruela pasa con una fórmula mejorada, puede llegar a ser tan buena como la manzanilla y competir con otros colutorios con componentes naturales presentes en el mercado.

Conclusiones.

Con la comparación realizada entre los tres colutorios: ciruela pasa, comercial #1(D) y comercial #2(O) frente a *Streptococcus mutans*, se concluye que el mayor diámetro de halo de inhibición se obtuvo con el colutorio comercial #1(D), y frente a *Lactobacillus acidophilus* los resultados fueron similares, obteniendo mejor resultado de igual manera con el colutorio comercial #1(D).

Se determinó que el extracto de ciruela pasa a una concentración de 5%, es útil para la elaboración del colutorio, ya que frente a *Staphylococcus aureus* actuó a los 5, 10 y 20 minutos, lo que no sucedió con las otras de menor concentración analizadas.

Al medir la sensibilidad de *Streptococcus mutans* frente a los tres colutorios, se concluye que ciruela en colutorio no fue muy efectiva, apenas en 2,2% de los casos se obtuvo un nivel sumamente sensible, en tanto que el 93,3% se valoró como resistente, un comportamiento similar al obtenido con el colutorio comercial #2 (Oral B®), pero muy por debajo de la eficacia obtenida con colutorio comercial #1 (Dentifresh®) en el que el 82,2% de las muestras se valoraron como sumamente sensibles.

Al determinar la sensibilidad de *Lactobacillus acidophilus* frente a los tres colutorios se concluye que la ciruela en colutorio no fue muy efectiva, apenas en 6,7% de los casos se obtuvo un nivel sumamente sensible, en tanto que el 88,9% se valoró como resistente, un comportamiento ligeramente superior al obtenido con el colutorio comercial #2 (Oral B) ®, pero muy por debajo de la eficacia obtenida con colutorio comercial #1 (Dentifresh®) en el que el 93,3% de las muestras se valoraron como sumamente sensibles.

En base a la comparación estadística se concluye que la sensibilidad y por tanto la eficacia dependió del tipo de colutorio empleado, obteniéndose mejor resultados con el colutorio comercial #1 (Dentifresh®), y resultados similares entre ciruela y colutorio comercial #2 (Oral B®).

Bibliografía.

1. Barrancos M, Barrancos P. *Operatoria dental: Integración clínica*. 4th ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2006.
2. Nocchi Conceição E. *Odontología Restauradora: Salud y estética*. 2nd ed. Buenos Aires: Panamericana; 2008.
3. Rivero J. *Combate bacterias de gingivitis la ciruela pasa: Bacterias Gingivitis*. México: UNAN, Facultad de Química; 2008.
4. Brown K, Castillo P, López E, Roviroso A, Viramontes L. Comparación de actividad antibacteriana de pasta creada con ciruela *Spondias purpurea* y capulín *Prunus capuli* para la prevención y tratamiento de caries. In XXIV Congreso de Investigación CUAM-ACMor; 2013; México.
5. Palma Cárdenas A, Sánchez Aguilera F. *Técnicas de ayuda odontológica y estomatológica* Madrid: Paraninfo; 2007.
6. Malhotra NK. *Investigación de Mercados*. 4th ed. México: Pearson; 2004.
7. Vivanco. *Muestreo estadístico, diseño y aplicaciones* Chile: Editorial Universitaria S.A.; 2005.
8. Juárez. *La ciruela pasa, efectiva para combatir bacterias que causan gingivitis y caries*. México: Universidad Autónoma de México, Facultad de Química; 2007.
9. Barreno A, Villafuerte M. *Elaboración de un enjuague bucal a base de tomillo conservando sus propiedades antisépticas*. *Odontología*. 2009; 11(1).

10. Piñeiro E, Zudaire M. Ciruelas pasas para los huesos. EROSKI CONSUMER. 2008.
11. Gaete Forno MJ, Oliva Mella P. Efectividad del Colutorio de Manzanilla Comparado con Placebo y Clorhexidina en Pacientes con Gingivitis entre 19 y 25 Años: Ensayo Clínico Controlado. *International journal of odontostomatology*. 2012; 6(2).