



ARTÍCULO CIENTÍFICO

Efecto Antibacteriano de enjuagues bucales pediátricos comercializados en el Ecuador sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudio in vitro

Antibacterial effect of pediatric mouthwashes marketed in Ecuador on *Streptococcus Mutans* strains: In vitro study

Efeito antibacteriano de colutórios pediátricos comercializados no Equador sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudo in vitro

Vanessa Lema Tabango¹, Jorge Anibal Reyes Chacón², Elena Aillón Ayala³, Gustavo Tello⁴

RECIBIDO: 14/feb/2018 ACEPTADO: 10/nov/2018 PUBLICADO: 31/dic/2018

1. Odontóloga, Especialista en Odontopediatria por la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador (UCE).
2. Doctor-Microbiólogo, Responsable del Centro Nacional de Referencia RAM del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI). Profesor-Investigador de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (UCE).
3. Maestría y Especialista en Odontopediatria por la FOU SP, Brasil.
4. PhD en Odontopediatria por la FOU SP, Brasil. Profesor-Investigador Coordinador de Investigación del Posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador (UCE).

CORRESPONDENCIA

Vanessa Lema Tabango
Universidad Central del Ecuador
Facultad de Odontología, Posgrado
Av. America y Av. Universitaria
dravanelemat@gmail.com



RESUMEN

La caries dental es considerada un problema de salud pública, siendo los niños la población más vulnerable por presentar hábitos alimentarios e higiene bucal inadecuados. **Objetivo:** Determinar y comparar el efecto antibacteriano de enjuagues bucales pediátricos a base de Cloruro de Cetilpiridinio (0,075%) y Xilitol (10%), sobre cepas de *Streptococcus Mutans*. **Materiales y Métodos:** Estudio experimental in vitro, conformado por 20 cepas de *S. mutans* obtenidas del repositorio del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) que fueron sembradas en medio agar tripticasa soya. Las 60 Placas Petri (N=60) fueron divididas en tres grupos experimentales (N=20 cada uno) de 10 μ L, 15 μ L y 20 μ L para cada enjuague, en cada placa se colocaron 5 discos de papel impregnados con la solución de los grupos siendo: G1=Colgate Plax (Cloruro de Cetilpiridinio 0,075%), G2=Denture kids (Xilitol 10%), G3=Blendy (Xilitol 10%) C+= Control Positivo (Clorhexidina 0,12%) C-= Control Negativo (Agua Destilada). Las placas fueron llevadas a incubación a temperatura de 37°C con baja presión de oxígeno. Luego de 48 horas se observaron para medir los halos de inhibición. Fue realizado el análisis estadístico de *Kruskal Wallis* y *U Mann Whitney* con nivel de significancia del 5%. **Resultados:** Las cantidades de 10, 15 y 20 μ L de Cloruro de Cetilpiridinio mostraron aumento significativo del halo > 14mm (p= 0,001) altamente sensible. Los enjuagues con Xilitol mostraron menor halo de inhibición \geq 8mm (p=0,1) sensibilidad intermedia. La cantidad de 20 μ L de cloruro de cetilpiridinio no mostró diferencias significativas al compararlo con 15 μ L de Clorhexidina (p=1,0) **Conclusiones:** Los enjuagues bucales a base de Xilitol mostraron sensibilidad intermedia, siendo su efecto menor al compararlo con el Cloruro de Cetilpiridinio que se mostró altamente sensible.

Palabras claves: Caries Dental; Higiene Bucal; Promoción de la Salud; Antisépticos Bucales; Xilitol.

ABSTRACT

Dental caries is considered a public health problem, children being the most vulnerable population due to inadequate eating habits and oral hygiene. **Objective:** To determine and compare the antibacterial effect of pediatric mouthwashes based on Cetilpyridinium Chloride (0.075%) and Xylitol (10%), on strains of *Streptococcus Mutans*. **Materials and Methods:** In vitro experimental study, consisting of 20 strains of *S. mutans* obtained from the repository of the National Institute of Public Health Research (INSPI), which were planted in agar trypticase soy agar. The 60 Petri dishes (N = 60) were divided into three experimental groups (N = 20 each) of 10 μ L, 15 μ L and 20 μ L for each mouthwash, in each petri dishes were placed 5 paper discs impregnated with the solution of the groups being: G1= Colgate Plax (Cetylpyridinium Chloride 0.075%), G2= Denture kids (Xylitol 10%), G3= Blendy (Xylitol 10%) C+= Positive Control (Chlorhexidine 0.12%) C-= Negative Control (Distilled Water). Petri dishes were incubated at 37° C with low oxygen pressure. After 48 hours they were observed to measure the inhibition zones. The statistical analysis of *Kruskal Wallis* and *U Mann Whitney* with a level of significance of 5% was carried out. **Results:** The amounts of 10, 15 and 20 μ L of Cetilpyridinium Chloride showed a significant increase of halo > 14mm (p = 0.001) highly sensitive. The rinses with Xylitol showed a lower inhibition halo \geq 8mm (p = 0.1) intermediate sensitivity. The amount of 20 μ L of cetylpyridinium chloride did not show significant differences when compared to 15 μ L of Chlorhexidine (p = 1.0). **Conclusions:** Mouthwashes based on Xylitol showed intermediate sensitivity, its effect being lower when compared to the Cetylpyridinium chloride that was highly sensitive.

Keywords: Dental carie; Oral hygiene; Health promotion; Mouthwashes; Xylitol.

RESUMO

Cárie dentária é considerada um problema de saúde pública, sendo as crianças a população mais vulneráveis por apresentar hábitos alimentários e higiene oral inadequados. **Objetivo:** Determinar e comparar o efeito antibacteriano de colutórios pediátricos de cloreto de cetilpiridínio (0,075%) e xilitol (10%), sob cepas de *Streptococcus mutans*. **Materiais e Métodos:** Estudo experimental in vitro, constituído por 20 cepas de *S. mutans* obtidas no repositório do Instituto Nacional de Pesquisa em Saúde Pública (INSPI), que foram semeadas em ágar tripticase de soja. 60 placas de Petri (N = 60) foram divididos em três grupos experimentais (n = 20 cada) 10 μ L, 15 μ L e 20 μ L para cada colutório, em cada placa de petri 5 discos de papel impregnados com cada solução foram impregnados sendo os grupos: G1 = Colgate Plax (cloreto de cetilpiridínio 0,075%), G2 = Denture Kids (Xilitol 10%), G3 = Blendy (Xilitol 10%), C+= Controle positivo (0,12% de clorexidina) e C-= Controle Negativo (Água Destilada). As placas de petri foram incubadas a 37° C com baixa pressão de oxigênio. Após 48 horas eles foram observados para medir as zonas de inibição. Foi realizada a análise estatística de *Kruskal Wallis* e *Mann Whitney* com um nível de significância de 5%. **Resultados:** As quantidades de 10, 15 e 20 μ L de cloreto de cetilpiridínio mostraram um incremento do halo de inibição > 14 mm (p = 0,001) sendo altamente sensível. Os colutórios com xilitol mostrou um menor halo de inibição \geq 8 mm (p = 0,1) sensibilidade intermediária. A quantidade de 20 μ L de cloreto de cetilpiridínio não mostrou nenhuma diferença significativa quando comparado com 15 μ L de clorexidina (p = 1,0). **Conclusão:** Colutórios com xilitol mostraram sensibilidade intermediária, sendo menor o efeito quando comparado com Cloreto de cetilpiridínio que mostrou-se altamente sensível.

Palavras chave: Cárie dentária; Higiene bucal; Promoção da saúde; Antissépticos bucais; Xilitol.



INTRODUCCIÓN

La caries dental según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es definida como un proceso de origen multifactorial que produce el reblandecimiento del tejido duro del diente, evolucionando hasta la formación de una cavidad.¹ Epidemiológicamente la caries dental constituye un problema de salud pública con un alto grado de morbilidad y elevada prevalencia.²

Según la OMS, la prevalencia de caries dental en el mundo, está presente entre el 60% al 90% de los niños en edad escolar y cerca del 100% en los adultos.³

En Ecuador, los índices de CPO-D (dientes cariados, perdidos u obturados) a los 12 años es 2.95 y a los 15 años 4.64, colocándose en un nivel severo de acuerdo a lo establecido por la OMS.³

El principal microorganismo causante de la caries dental es el *streptococcus mutans* que se encuentra en la cavidad bucal humana y prevalece en el biofilm de los individuos con mayor gravedad de la enfermedad caries dental.⁴⁻⁵

La prevención de caries implica una serie de técnicas y productos para la higiene bucal, es así que, los enjuagues bucales han sido utilizados como coadyuvantes en el control del biofilm dental y podrían tener algún efecto sobre la enfermedad caries dental.⁶

Algunos enjuagues contienen ingredientes activos antibacterianos que muestran efectos sobre el *S. mutans*, uno de ellos es el cloruro de cetilpiridinio que ha demostrado ser un antimicrobiano de amplio espectro con efectos similares a la Clorhexidina.⁷

Una reciente revisión sistemática concluye que el xilitol podría ayudar a prevenir la caries dental, pero, la evidencia sobre los efectos de los productos que contienen xilitol no es muy clara, por lo que, es importante realizar más estudios para determinar su eficacia y seguridad en productos de uso bucal.⁸

Por lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue determinar y comparar el efecto antibacteriano de tres enjuagues bucales fluorados de uso pediátrico sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio de tipo experimental in vitro fue aprobado por el Subcomité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad Central del Ecuador (SEI-SH-UCE).

Para el estudio se utilizó 20 cepas de *Streptococcus mutans* que permanecían almacenadas en el cepario del Laboratorio del Centro de Referencia y Resistencia a los Antimicrobianos del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) y los enjuagues bucales pediátricos utilizados fueron: G1=Plax Kids (Colgate); G2 = Denture Kids (Lamosan); G3=Blendy (Blendax) (Ver figura 1).

Como grupos control: Clorhexidina 0.12% (C+) y Agua Destilada (C-).

INTRODUCTION

Dental caries according to the World Health Organization (WHO) is a process of multifactorial origin that produces the softening of the hard tissue of the tooth, evolving to the formation of a cavity.¹ Epidemiologically, dental caries is a public health problem with a high degree of morbidity and high prevalence.²

According to the WHO, the prevalence of dental caries in the world, is present between 60% to 90% of children of school age and close to 100% in adults.³

In Ecuador, the DLF-T indexes (decayed, lost or filled teeth) at 12 years is 2.95 and at 15 years 4.64, being placed at a severe level according to the WHO.³

The main microorganism that causes dental caries is *streptococcus mutans* that is found in the human oral caries and prevails in the biofilm of the teeth in people with higher severity of dental caries disease.⁴⁻⁵

The prevention of caries involves a series of techniques and products for oral hygiene, so, mouth rinses have been used as adjuvants in the control of dental biofilms and have an effect on dental caries disease.⁶

Some rinses contain antibacterial active ingredients that show effects on *S. mutans*, one of which is cetylpyridinium chloride, which has been shown to be a broad spectrum antimicrobial with effects similar to chlorhexidine.⁷

A recent systematic review concludes that xylitol could help to prevent dental caries but, the evidence on the effects of products containing xylitol is not very clear, so it is important to conduct further studies to determine its efficacy and safety in products for oral use.⁸

The objective of the present study was to determine and compare the antibacterial effect of three fluoride mouth rinses of pediatric use on strains of *Streptococcus mutans*.

MATERIALS AND METHODS

The present in vitro experimental study was approved by the Human Research Ethics Subcommittee of the Central University of Ecuador (HRES-CUE).

For the study, 20 strains of *Streptococcus mutans* were used, which were stored in the laboratory stock of the Center for Reference and Resistance to Antimicrobials of the National Institute of Public Health Research (NIPHR) and the pediatric mouth rinses used were: G1 = Plax Kids (Colgate); G2 = Denture Kids (Lamosan); G3 = Blendy (Blendax) (See figure 1).

As control groups: Chlorhexidine 0.12% (C +) and Distilled Water (C-).






		
G1= PLAX KIDS (Colgate) Ingrediente Activo: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225pp • Cloruro de Cetilpiridinio 0,075% , Sorbitol 	G2=DENTURE KIDS (Lamosan) Ingrediente Activo: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225ppm • Xilitol al 10% • Sucralosa 	G3= BLENDY (Blendax) Ingrediente Activo: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225ppm • Xilitol al 10% • Sorbitol
G1= PLAX KIDS (Colgate) Active Ingredient: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225ppm • Cetylpyridinium Chloride 0,075% , Sorbitol 	G2=DENTURE KIDS (Lamosan) Active Ingredient: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225ppm • Xylitol al 10% • Sucralose 	G3= BLENDY (Blendax) Active Ingredient: <ul style="list-style-type: none"> • FNa 225ppm • Xylitol al 10% • Sorbitol

Figura 1: Enjuagues bucales pediátricos

Figure 1: Pediatric mouth rinses

Activación de la cepa

Las prueba de sensibilidad para aislar la cepa se realizó como lo recomienda la *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.⁹ Se tomó las placas que contienen las cepas del *S. mutans* y con la ayuda de un hisopo se toca la colonia bacteriana para llevarla al caldo de cultivo. (Ver figura 2).

Activation of the strain

The sensitivity test to isolate the strain was carried out as recommended by the *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (9). The plates containing the strains of *S. mutans* were taken and with the help of a swab the bacterial colony was taken to the culture broth. (See figure 2).



Figura 2: Colección de Cepas de S. Mutans

Figure 2: Collection of S. Mutans strains

La bacteria inoculada en el tubo fue sometida a centrifugación para luego realizar la estandarización de la cepa según la escala de *McFarland* 0.5 (Ver figura 3).

The bacterium inoculated in the tube was subjected to centrifugation to then standardize the strain according to the *McFarland* 0.5 scale (See Figure 3).



Figura 3: Medición de turbidez 0.5 McFarland

Figure 3: Turbidity measurement 0.5 McFarland

Obtenida la muestra de la cepa se procedió a realizar el método de difusión en disco según Kirby-Bauer.¹⁰

Sembrado y grupos de estudio

Las cepas de *S. Mutans* fueron sembradas en medio agar tripticosa soya y distribuidas en 60 placas Petri (N=60) las mismas que fueron divididas en tres grupos experimentales (N=20) cada uno con la cantidad de 10uL, 15uL y 20uL de solución (G1, G2, G3), más 15uL de los dos grupos control (C+,C-). (Ver figura 5).

Once the sample of the strain was obtained, the disc diffusion method according to Kirby-Bauer¹⁰ was carried out.

Sown and study groups

The strains of *S. Mutans* were seeded on trypticase soy agar medium and distributed in 60 Petri dishes (N = 60) which were divided into three experimental groups (N = 20) each with the amount of 10uL, 15uL and 20uL of solution (G1, G2, G3), plus 15uL of the two control groups (C +, C-). (See figure 5).

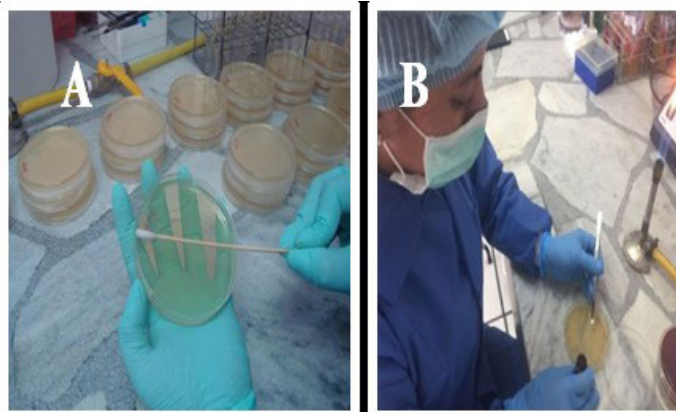


Figura 4:

- A. Siembra de las bacterias**
- B. Colocación de los discos de papel**

Figure 4:

- A. Sowing the bacteria**
- B. Distribution of paper discs**



En cada placa se colocaron 5 discos de papel, cada uno impregnado con las soluciones en las diferentes cantidades: G1=Colgate Plax (cloruro de cetilpiridinio 0,075% + sorbitol), G2=Denture Kids (xilitol 10% + sucralosa), G3=Blendy (xilitol 10% + sorbitol). Adicionalmente en cada placa Petri se colocó dos discos de control C+ = control positivo (clorhexidina 0,12%) y C- = control negativo (agua destilada)¹¹. (Ver figura 5).

Five discs of paper were placed in each plate, each impregnated with the solutions in the different quantities: G1 = Colgate Plax (cetylpyridinium chloride 0.075% + sorbitol), G2 = Denture Kids (xylitol 10% + sucralose), G3 = Blendy (xylitol 10% + sorbitol). Additionally, in each Petri dish, two control disks were placed: C+ = positive control (chlorhexidine 0.12%) and C- = negative control (distilled water)¹¹. (See figure 5).

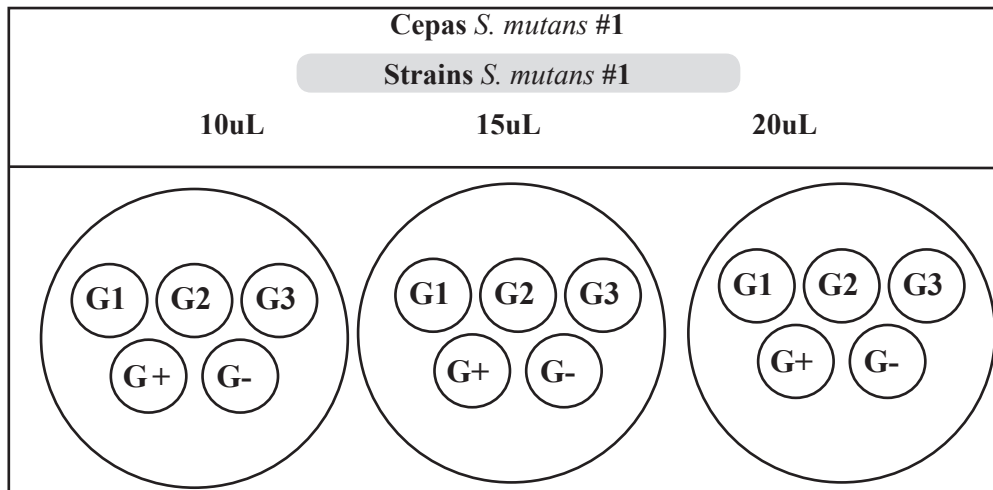


Figura 5: Distribución de los discos de papel en las diferentes cantidades (10, 15, 20 uL) de los tres grupos experimentales (G1, G2, G3) mas los dos grupos control (C+, C-)

Figure 5: Distribution of the paper discs in the different quantities (10, 15, 20 uL) of the three experimental groups (G1, G2, G3) plus the two control groups (C+, C-)

Las placas listas fueron llevadas a incubación a temperatura de 37°C con baja presión de oxígeno. Luego de 48 horas se midieron los halos de inhibición con la ayuda de una regla milimetrada. (Ver figura 6).

The finished plates were taken to incubation at a temperature of 37 ° C with low oxygen pressure. After 48 hours, the inhibition zones were measured with the help of a millimeter ruler. (See figure 6).

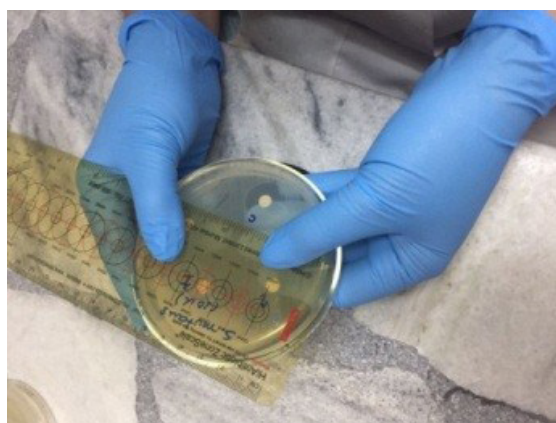


Figura 6: Medición del halo de hibiación en mm

Figure 6: Measurement of the halo of hibition in mm

Los resultados obtenidos se evaluaron según los criterios de sensibilidad de las soluciones frente a *S. mutans* empleando la siguiente escala de medición.^{6,12}

The results obtained were evaluated according to the sensitivity criteria of the solutions against *S. mutans* using the following measurement scale.^{6,12}

Estatus	<i>Halo inhibición (mm)</i>
Status	<i>Halo inhibition(mm)</i>
Sumamente Sensible	> 14mm
Extremely sensitivity	
Sensibilidad Intermedia	≤8mm/≤14mm
Intermediate sensitivity	
Resistente	<8mm
Resistant	

Tabla 1: Criterio de los halos de inhibición para el *S. mutans*

Table 1: Criterion of inhibition zones for the *S. mutans*

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y la Prueba de *U Mann Whitney* con un nivel de significancia del 5%.

Statistic analysis

The data were analyzed with nonparametric tests of Kruskal Wallis and the *U Mann Whitney* test with a level of significance of 5%.

RESULTADOS

Los tres enjuagues bucales pediátricos estudiados presentaron un efecto antibacteriano. El disco de control positivo (clorhexidina al 0,12%) mostró el halo de inhibición promedio de 20mm de diámetro.

RESULTS

The three pediatric mouth rinses studied had an antibacterial effect. The positive control disk (0.12% chlorhexidine) showed the average inhibition halo of 20mm in diameter.

Los resultados indican que las soluciones de 10, 15 y 20ul de cloruro de cetilpiridinio al 0,075%, mostraron un aumento del halo de inhibición cuando la cantidad de enjuague utilizado aumentaba 16,2; 18,1; 20,4mm siendo todos sumamente sensibles ($p \leq 0,001$); así como, los enjuagues a base de Xilitol al 10% mostraron menor halo de inhibición ubicándose en la escala de ≥ 8 mm (sensibilidad intermedia) sin mostrar diferencias estadísticamente significativas con el aumento se las cantidades de enjuague ($p=0,1$) (Ver Cuadro 2).

The results indicate that the solutions of 10, 15 and 20ul of 0.075% cetylpyridinium chloride, showed an increase of the inhibition halo when the amount of rinse used increased 16.2; 18.1; 20.4mm being all extremely sensitive ($p < 0.001$); Likewise, the 10% Xylitol-based rinses showed less inhibition halo, being located on the ≥ 8 mm scale (intermediate sensitivity) without showing statistically significant differences with the increase of the amounts of rinse ($p = 0.1$) (See Table 2).

La cantidad de 20μL de cloruro de cetilpiridinio no mostró diferencias significativas al compararlo con 15μL de Clorhexidina ($p=1,0$). En el nivel de sensibilidad del grupo se observó que el control positivo y los tres subgrupos de Colgate Plax Kids en las cantidades de 10, 15, 20μL resultaron ser sumamente sensibles, mientras que los enjuagues bucales Denture Kids y Blendy mostraron una sensibilidad intermedia.

The amount of 20μL of cetylpyridinium chloride did not show significant differences when compared with 15μL of Chlorhexidine ($p = 1.0$). In the sensitivity level of the group it was observed that the positive control and the three subgroups of Colgate Plax Kids in the amounts of 10, 15, 20μL were extremely sensitive, while the mouthwashes Denture Kids and Blendy showed an intermediate sensitivity.

La prueba *U Mann Whitney* mostró que la cantidad de 20μL de cloruro de cetilpiridinio al 0,075% no tuvo diferencias significativas al compararlo con la Clorhexidina ($p=1,0$) y que las cantidades de 10, 15 y 20μL de los enjuagues bucales que contienen xilitol al 10% mostraron diferencias significativas al compararlo con la Clorhexidina ($p \leq 0,001$) (Ver Cuadro 3).

The *U Mann Whitney* test showed that the amount of 20μL of 0.075% cetylpyridinium chloride did not differ significantly when compared to Chlorhexidine ($p = 1.0$) and that the amounts of 10, 15 and 20μL of the Mouth rinses containing 10% xylitol showed significant differences when compared to Chlorhexidine ($p < 0.001$) (See Table 3).



Solución	Cant. μL	M ± (mm)	p
G1= Colgate Plax Kids (Cloruro de cetilpiridinio 0,075%)	10μL	16,25 ± 0,18	0,001
	15μL	18,15 ± 0,20	
	20μL	20,37 ± 0,25	
G2= Denture Kids (Xylitol 10%)	10μL	8,32 ± 0,09	0,1
	15μL	8,54 ± 0,04	
	20μL	8,64 ± 0,04	
G3 = Blendy (Xylitol 10%)	10μL	8,26 ± 0,11	0,1
	15μL	8,48 ± 0,09	
	20μL	8,52 ± 0,04	
C+ Clorhexidina 0,12%	15μL	20,19 ± 0,27	0,001
C- Agua Destilada	15μL	0 ± 0,00	

Tabla 2: Media del halo de inhibición y desviación estándar de los diferentes grupos de estudio con relación a la cantidad de cada uno de los enjuagues (H- test)

Solution	Quantity μL	M ± (mm)	p
G1= Colgate Plax Kids (Cloruro de cetilpiridinio 0,075%)	M + (mm)	16,25 ± 0,18	0,001
	15μL	18,15 ± 0,20	
	20μL	20,37 ± 0,25	
G2= Denture Kids (Xylitol 10%)	10μL	8,32 ± 0,09	0,1
	15μL	8,54 ± 0,04	
	20μL	8,64 ± 0,04	
G3 = Blendy (Xylitol 10%)	10μL	8,26 ± 0,11	0,1
	15μL	8,48 ± 0,09	
	20μL	8,52 ± 0,04	
C+ Chlorhexidine 0,12%	15μL	20,19 ± 0,27	0,001
C- Distilled water	15μL	0 ± 0,00	

Table 2: Mean inhibition halo and standard deviation of the different study groups in relation to the amount of each of the rinses (H-test)

GRUPO(I) μL =cantidad	GRUPO (J)	Diferencia de medias (I-J)	p
GROUP(I) μL =quantity	GROUP (J)	Difference of measures (I-J)	
COLGATE PLAX KIDS (10 μL)	COLGATE PLAX KIDS (15 μL)	-1,9	<0,001
	COLGATE PLAX KIDS (20 μL)	-4,1	<0,001
	DENTURE KIDS (10 μL)	7,9	<0,001
	DENTURE KIDS (15 μL)	7,7	<0,001
	DENTURE KIDS (20 μL)	7,6	<0,001
	BLENDY (10 μL)	8,0	<0,001
	BLENDY (15 μL)	7,8	<0,001
	BLENDY (20μL)	7,7	<0,001
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-3,9	<0,001
COLGATE PLAX KIDS (15 μL)	COLGATE PLAX KIDS (20 μL)	-2,2	<0,001
	DENTURE KIDS (10 μL)	9,8	<0,001
	DENTURE KIDS (15 μL)	9,6	<0,001
	DENTURE KIDS (20 μL)	9,5	<0,001
	BLENDY (10 μL)	9,9	<0,001
	BLENDY (15 μL)	9,7	<0,001
	BLENDY (20 μL)	9,6	<0,001
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-2,0	<0,001

COLGATE PLAX KIDS (20 μL)	DENTURE KIDS (10 μL)	12,1	<0,001
	DENTURE KIDS (15 μL)	11,8	<0,001
	DENTURE KIDS (20 μL)	11,7	<0,001
	BLENDY (10 μL)	12,1	<0,001
	BLENDY (15 μL)	11,9	<0,001
	BLENDY (20 μL)	11,9	<0,001
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	0,2	1,00
DENTURE KIDS (10 μL)	DENTURE KIDS (15 μL)	-0,2	1,00
	DENTURE KIDS (20 μL)	-0,3	,99
	BLENDY (10 μL)	0,1	1,00
	BLENDY (15 μL)	-0,2	1,00
	BLENDY (20 μL)	-0,2	1,00
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,9	<0,001
DENTURE KIDS (15 μL)	DENTURE KIDS (20 μL)	-0,1	1,00
	BLENDY (10 μL)	0,3	1,00
	BLENDY (15 μL)	0,1	1,00
	BLENDY (20 μL)	0,0	1,00
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,7	<0,001
DENTURE KIDS (20 μL)	BLENDY (10 μL)	0,4	,97
	BLENDY (15 μL)	0,2	1,00
	BLENDY (20 μL)	0,1	1,00
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,6	<0,001
BLENDY (10 μL)	BLENDY (15 μL)	-0,2	1,00
	BLENDY (20 μL)	-0,3	1,00
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,9	<0,001
BLENDY (15 μL)	DENTURE KIDS (20 μL)	-0,2	1,00
	BLENDY (10 μL)	0,2	1,00
	BLENDY (20 μL)	0,0	1,00
	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,7	<0,001
BLENDY (20 μL)	CLORHEXIDINA 0,12% (15 μL)	-11,7	<0,001

Tabla 3: Prueba de U Mann Whitney. Analizando los diferentes grupos y sub-grupos con las diferentes cantidades de los enjuagues

Table 3: U Mann Whitney test. Analyzing the different groups and sub-groups with the different categories of the rinses



DISCUSIÓN

La caries dental es el principal problema de salud bucal en los países desarrollados y en desarrollo, el cual provoca un impacto negativo en la calidad de vida de los niños y sus familias¹³ por esto, es importante establecer medidas de prevención eficaces con hábitos de higiene bucal como el cepillado dental asociado al uso de productos odontológicos que brinden un efecto antibacteriano sobre la caries dental.¹⁴⁻¹⁵

En varios estudios¹⁵⁻¹⁸ se ha mencionado que el consumo de xilitol y azúcares no fermentables podrían ayudar a prevenir la caries dental, pero, la evidencia sobre los efectos de los productos que contienen xilitol no está clara, es por esto que, Riley et al. 2015⁸, en una revisión sistemática evaluaron el efecto de los productos que contienen xilitol y encontraron que la evidencia disponible es de baja calidad, sugiriendo más estudios para comprobar el efecto de este producto para la prevención de caries en la población.

Amaechi et al. 1999¹⁷ y Cobos & Valenzuela, 2013¹⁸ evaluaron en un estudio in vitro la influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol 10% sobre el esmalte dental, obteniendo como resultado que el xilitol en conjunto con el fluoruro, ejercen mayor efecto inhibitorio del crecimiento de los microorganismos cariogénicos (*S. mutans*), los resultados mencionados concuerdan con el presente estudio que muestra que los enjuagues bucales a base de xilitol al 10%, (Denture Kids y Blendy) presentan un efecto antibacteriano con resistencia intermedia frente al *S. mutans*.

Maguirre & Rugg-Gunn, 2003¹⁹ y Hogan 2010²⁰ realizaron un estudio comparativo sobre la actividad antibacteriana de productos que contiene xilitol 5% + sorbitol y xilitol + sacarosa, concluyendo que el sorbitol potencializa la acción del xilitol. Los resultados del presente estudio indican una diferencia mínima en la medición de los halos de inhibición entre los enjuagues Denture Kids y Blendy que contienen sucralosa y sorbitol respectivamente, siendo el enjuague con sucralosa el que presenta mayor efecto antibacteriano, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre los dos enjuagues.

Valerie et al., 2010²¹ investigaron la actividad anticaries del Gluconato de Clorhexidina al 0,12% y una nanoemulsión a base de cloruro de cetilpiridinio sobre un modelo de biopelícula de doble organismo (*S. mutans* y *Lactobacillus casei*), que actúa como boca artificial y simula las actividades biológicas y fisiológicas observadas en el ambiente oral, los resultados indicaron que la emulsión era significativamente menor que la Clorhexidina, lo cual difiere de los resultados obtenidos en esta investigación, ya que el enjuague que contiene cloruro de cetilpiridinio al 0,075% en cantidad de 20µL tuvo un halo de inhibición similar a la Clorhexidina 0,12% (15µL) sobre el *S. mutans*.

Una revisión sistemática realizada por Walsh et al., 2015¹⁴ evalúa los efectos de los productos orales que contienen formulaciones de clorhexidina al (1%, 10%, 40%) y gel de clorhexidina al 0,12% mostrando ser eficaces en la inhibición de la progresión de caries en niños y adolescentes., esto corrobora lo expuesto en esta investigación que indica que la clorhexidina tiene un efecto antibacteriano significativo frente al *S. mutans*, por lo cual, es considerado padrón oro en los estudios laboratoriales, sin embargo, la clorhexidina no es de uso frecuente en niños y adolescentes, lo que hace que se busque otras alternativas preventivas para el uso diario en niños.

En el presente estudio el xilitol contenido en los enjuagues bucales presentó una resistencia intermedia en las diferentes cantidades utilizadas, pero ninguna de estas

DISCUSSION

Dental caries is the main problem of oral health in developed and developing countries, which causes a negative impact about children's quality life and their families.¹³ Therefore, it is important to establish effective prevention measures with habits of oral hygiene such as dental brushing associated with the use of dental products that provide an antibacterial effect on dental caries.¹⁴⁻¹⁵

In several studies¹⁵⁻¹⁸ it has been mentioned that the consumption of xylitol and non-fermentable sugars could help prevent dental caries, but, evidence about the effects of products containing xylitol is not clear, this is why, Riley et al. 2015⁸, in a systematic review evaluated the effect of products containing xylitol and they found that the available evidence is of low quality, suggesting more studies to verify the effect of this product for the prevention of caries in the population.

Amaechi et al. 1999¹⁷ and Cobos & Valenzuela, 2013¹⁸ evaluated in an in vitro study the influence of a rinse based about fluoride and xylitol 10% about dental enamel, obtaining as a result that xylitol in conjunction with fluoride, exercise greater inhibitory effect of the growth of cariogenic microorganisms (*S. mutans*), the mentioned results agree with the present study that shows that mouth rinses based on 10% xylitol, (Denture Kids and Blendy) have an antibacterial effect with resistance intermediate in front of *S. mutans*.

Maguirre & Rugg-Gunn, 2003¹⁹, and Hogan 2010²⁰, conducted a comparative study about the antibacterial activity of products containing xylitol 5% + sorbitol and xylitol + sucrose, concluding that sorbitol potentiates the action of xylitol. The results of the present study indicate a minimum difference in the measurement of the inhibition zones between the Denture Kids and Blendy mouthwashes containing sucralose and sorbitol respectively, being the rinse with sucralose the one with the highest antibacterial effect, without showing statistically significant differences between the two rinses.

Valerie et al., 2010²¹ investigated the anti-caries activity of 0.12% Chlorhexidine Gluconate and a cetylpyridinium chloride-based nanoemulsion about a double organism biofilm model (*S. mutans* and *Lactobacillus casei*), which acts as a artificial mouth and simulates the biological and physiological activities observed in the oral environment, the results indicated that the emulsion was significantly lower than Chlorhexidine, which differs from the results obtained in this investigation, since the rinse containing 0.075% cetylpyridinium chloride in the amount of 20µL had a inhibition halo similar to 0.12% Chlorhexidine (15µL) on *S. mutans*.

A systematic review carried out by Walsh et al., 2015¹⁴ evaluates the effects of oral products containing chlorhexidine formulations at (1%, 10%, 40%) and 0.12% chlorhexidine gel, showing to be effective in the inhibition of caries progression in children and adolescents, corroborates the findings of this research that indicates that chlorhexidine has a significant antibacterial effect against *S. mutans*, which it is considered gold standard in laboratory studies, however, chlorhexidine is not often used in children and adolescents, which makes it look for other preventive alternatives for daily use in children.

In the present study, the xylitol contained in the mouth rinses showed intermediate resistance in the different amounts used, but none of them presented an antibacterial

presentó un efecto antibacteriano similar al cloruro de cetilpiridinio y menos a la clorhexidina que mostraron un efecto sumamente sensible sobre *S. mutans*.

Un reciente estudio realizado en la Universidad Central del Ecuador por Orellana & Aguilera 2016²², muestra que la combinación del xilitol + sucralosa tiene mayor efecto inhibitorio que el xilitol + sorbitol sobre *S mutans*, lo que corrobora los resultados encontrados en esta investigación en los que Denture Kids por contener xilitol + sucralosa tiene un efecto mayor muy leve comparado con el enjuague Blendy (xilitol + sorbitol) en la inhibición del *S. mutans*, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre los dos.

Por lo expuesto, debe considerarse estos resultados para la elección de los diferentes principios activos que contienen los enjuagues bucales que se prescribe a los niños con alto riesgo de caries o pacientes vulnerables, para lograr una prevención eficaz contra la caries dental.

CONCLUSIÓN

Todos los enjuagues bucales estudiados fueron eficaces contra *S mutans*. Los enjuagues bucales a base de xilitol mostraron sensibilidad intermedia, siendo menor su efecto al compararlo con el cloruro de cetilpiridinio. El enjuague a base de cloruro de cetilpiridinio (20µL) presentó mayor efecto antibacteriano similar a la Clorhexidina.

AGRADECIMIENTOS

A los Docentes y Autoridades de la Facultad de Odontología (UCE) por su apoyo en la investigación, al Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) lugar en el que se realizó el estudio in vitro, especialmente a la Srta. Carolina Satan microbióloga del Instituto.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. OMS. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2013 [cited 2014 06 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>.
2. Oropeza A, Yasmin Z. Caries dental en primeros molares permanentes de escolares de la delegación Tláhuac. ADM. 2012 Abril; LXIX(2): p. 63-69.
3. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. [Online]. Quito- Ecuador; 2015 [cited 2016 Abril 20]. Available from: <https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/GPC%20Caries%20final%20%2024-12-2014.pdf>.
4. Palomer L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Chilena de Odontopediatría. 2006; 77(1): p. 56-60.
5. Argandoña R, Duque C, Sampaio K, Rodrigues V, Aguiar M, Colombo N, et al. Genotypic diversity and phenotypic traits of streptococcus mutans isolates and their relation to severity of early childhood caries. BMC Oral Health. 2017; 17(115): p. 1-9.
6. Camejo M. Sensibilidad in vitro del streptococcus mutans a sanguinarina, compuesto fenólico y clorhexidina. Revista Venezolana de Odontología. 1999; 37(2): p. 1-37.
7. Hurt A, Coleman N, Tuzuner T, Bagis B, Korkmas F, Nicholson J. Release of cetyl pyridinium chloride from fatty acid chelate temporary dental cement. Acta Biomater Odontol Scan. 2016; 2(1): p. 1-6.

effect similar to cetylpyridinium chloride and less to chlorhexidine, which showed an extremely sensitive effect on *S. mutans*.

A recent study conducted at the Central University of Ecuador by Orellana & Aguilera 2016²², about the combination of xylitol + sucralose has a greater inhibitory effect than xylitol + sorbitol on *S mutans*, which corroborates the results found in this research in the that Denture Kids for containing xylitol + sucralose has a very slight greater effect compared to the Blendy rinse (xylitol + sorbitol) in the inhibition of *S. mutans*, without showing statistically significant differences between two of them.

For the exposed, these results should be considered for the choice of the different active ingredients that contain mouthwashes that are prescribed to children at high risk of caries or vulnerable patients, to achieve effective prevention against dental caries.

CONCLUSION

All the mouthwashes studied were effective against *S mutans*. Mouth rinses based on xylitol showed intermediate sensitivity, its effect being lower when compared with cetylpyridinium chloride. The rinse based on cetylpyridinium chloride (20µL) presented a greater antibacterial effect similar to the chlorhexidine.

ACKNOWLEDGEMENT

To the Teachers and Authorities of the Faculty of Dentistry (CUE) for their support in the research, to the National Institute of Public Health Research (NIPHR) where the in vitro study was conducted, especially to Miss Carolina Satan microbiologist from high school.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that they have no conflicts of interest.

8. Riley P, Moore D, Ahmed F, Sharif M, Worthington H. Xylitol-containing products for preventing dental caries in children and adults. Cochrane Database Syst Rev. 2015; 26(3): p. 1-64.
9. Jorgensen J, Turnidge J. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In Manual of Clinical Microbiology. American Society of Microbiology. 2015; 10(112): p. 1253-73.
10. Cercenado E, Saavedra-Lozano J. El antibiograma. Interpretación del antibiograma : conceptos generales. An pediatr Contin. 2009; 7(4): p. 2014-7.
11. Ronanki S, Kulkarni S, Hemalatha R, Kumar M, Reddy P. Efficacy of commercially available chlorhexidine mouthrinses against specific oral microflora. Indian J Dent Res. 2016; 27(1): p. 48-53.
12. Aguilera M, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad del Streptococcus Mutans a tres enjuagues bucales comerciales. ODOUS CI-ENTIFICA. 2011; 1(7): p. 7-13.
13. Bonecker M, Abanto J, Tello G, Oliveira I. Impact of dental caries on preschool childrens quality of life an update. Braz Oral Res. 2012; 26(1): p. 103-7.
14. Walsh T, Oliveira-Neto J, Moore D. Chlorhexidine treatment for the prevention of dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2015; 13(4): p. 1-65.
15. Cuadrado D, Peña R, Gómez J. El concepto de caries: hacia un tratamiento no invasivo. ADM. 2013; 70(2): p. 54-60.



16. González Á, González B, González E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutrición Hospitalaria*. 2013; 28(4): p. 64-71.
17. Amaechi BT, Higham S, Edgar W. Caries inhibiting and remineralizing effect of xylitol in vitro. *J Oral Sci*. 1999; 41(2): p. 71-6.
18. Cobos C, Valenzuela E. Influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol en la remineralización in vitro del esmalte en dientes temporales. *Odontológica Mexicana*. 2013; 17(4): p. 204-09.
19. Maguirre A, Rugg-Gunn A. Xylitol and caries prevention is it a magic bullet. *British Dental Journal*. 2003; 26(1): p. 429-36.
20. Hogan A. The effect of Splenda and Xylitol on the growth of streptococcus mutans. *Access*. 2010; 24(5): p. 4-13.
21. Valerie A, Lee , Ramalingam K, Rawis R, Benntt A. Anticariogenic effect of a cetylpyridinium chloride containing nanoemulsion. *J Dent*. 2010; 38(9): p. 742-49.
22. Orellana R, Aguilera F. Inhibición del streptococcus mutans aislado de la saliva de niños de 6 a 7 años de la Unidad Educativa Milenio Bicentenario en el año lectivo 2015, en medios que contengan edulcorantes artificiales xilitol, sorbitol y sucralosa. Estudio in vitro. Tesis para optar por el título de Especialista en Odontopediatría UCE, 2016.

CITE ESTE ARTÍCULO COMO / CITE THIS ARTICLE AS

Lema V, Reyes J, Aillón E, Tello G. Efecto Antibacteriano de enjuagues bucales pediátricos comercializados en Ecuador sobre cepas de Streptococcus Mutans: Estudio in vitro. *Odontología*. 2018; 20(2): 57-68.
<http://dx.doi.org/10.29166/odontologia.vol20.n2.2018-56-67>