

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“ EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE TRES TIPOS DE  
DENTÍFRICOS SOBRE AISLAMIENTOS ORALES DE *Candida spp.*”**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR**

**MIRIAN DEL ROCIO MUYULEMA MUYULEMA**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2011**

## **DEDICATORIA**

*A Dios por ser mi creador, amparo y fortaleza cuando más lo necesito y por hacer palpable su amor a través de cada uno de los que me rodean.*

*Con mucho amor y cariño a mis inolvidables padres Ernesto y Olga que han sido pilares fundamentales en mi camino, formando parte de este logro que me abre puertas inimaginables en mi desarrollo profesional.*

*A mis queridos hermanos y Esposo por la comprensión y el apoyo en los momentos más difíciles.*

## **AGRADECIMIENTO**

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*

*A la Dra. Janeth Gallegos y Olga Lucero por su valiosa  
colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente  
Tesis*

*A todas las personas que colaboraron de cualquier manera  
para la culminación de este trabajo de investigación*

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dr. Yolanda Díaz DECANA FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Luis Guevara DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
Dra. Janeth Gallegos DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
Dra. Olga Lucero MIEMBRO DEL TRIBAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodriguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
<b>NOTA DE TESIS</b>	-----	

Yo, Mirian del Rocio Muyulema Muyulema, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

MIRIAN DEL ROCIO MUYULEMA MUYULEMA

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
cm	Centímetros
g	Gramos
h	Hora
I	Intermedio
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
Kg	Kilogramos
L	litros
mm	Milímetros
mL	Mililitros
Nº	Número
nm	Nanométros
pH	Potencial de Hidrógeno
R	Resistente
S	Sensible
St	Estandar
TSA	Agar Soya Trypticasa
TSB	Caldo Soya Trypticasa
UFC	Unidades Formadoras de colonias
µg	Microgramos
µm	Micrómetro
°C	Grados centígrados
%	Porcentaje

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	1
1.1	Actividad antimicrobiana.....	1
1.1.1	Factores que inhiben la actividad antibacteriana.....	1
1.1.2	Especificidad.....	2
1.1.3	Elevada potencia biológica.....	2
1.1.4	Toxicidad selectiva.....	2
1.1.5	Clasificación de antimicrobianos.....	2
1.1.6	Tolerancia antimicrobiana.....	3
1.1.7	Resistencia.....	3
1.1.8	Tipos de interacciones entre los antimicrobianos.....	3
1.2	Dentífrico.....	4
1.2.1	Factores que afectan la eficacia de un dentífrico.....	5
1.2.1.1	Factores biológicos.....	6
1.2.2	Tipos de dentífricos.....	6
1.2.2.1	Dentífricos antisensibilizantes .....	6
1.2.2.2	Dentífricos antibacterianos.....	6
1.2.2.2.1	Triclosan.....	7
1.2.2.3	Dentífricos blanqueadores.....	7
1.2.2.4	Agentes limpiadores.....	8
1.3	Dentífricos herbales.....	8
1.4	Enfermedades periodontales.....	10
1.4.1	Microbiología periodontal.....	10
1.4.2	<i>Candida</i> como agentes de infecciones orales.....	11
1.4.3	Biopelículas formadas por <i>Candida</i> .....	13
1.4.4	Infecciones por <i>Candida</i> spp.....	14
1.4.5	Colonización por <i>Candida</i> spp.....	15
1.4.5.1	Propiedades de la saliva en la colonización por <i>Candida</i> spp.....	16
1.4.6	Especies de <i>Candida</i> spp.....	17

1.4.7	Las bacterias y las interacciones por <i>Candida</i> .....	17
1.4.8.	Candidiasis oral.....	18
1.4.8.1	Causas de Candidiasis oral.....	18
<b>2.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>20</b>
2.1	Lugar de la investigación.....	20
2.2	Materiales, Equipos y Reactivos.....	20
2.2.1	Material Biológico.....	20
2.2.2	Equipos.....	20
2.2.3	Reactivos.....	21
2.2.4	Material de laboratorio.....	21
2.3	Factores de estudio.....	22
2.4	Unidad experimental o de análisis.....	22
2.5	Metodología.....	23
2.5.1	Aislamiento de <i>Candida</i> spp.....	23
2.5.1.1	Recolección de muestras orales.....	23
2.5.1.2	Aislamientos de <i>Candida</i> spp.....	23
2.5.1.3	Identificación de <i>Candida</i> spp.....	23
2.5.1.4	Sistema de identificación de levaduras API <i>Candida</i> .....	23
2.5.1.5	Montaje de banco de cepas.....	24
2.5.2	Actividad anti fúngica de dentífricos.....	24
2.5.2.1	Evaluación de la actividad antifúngica de los dentífricos.....	24
2.5.3	Desarrollo de biopelículas.....	24
2.5.4	Análisis de los dentífricos de acuerdo a la NTE INEN 1602.....	25
2.5.4.1	Determinación de estabilidad química.....	25
2.5.4.2	Determinación de estabilidad microbiológica.....	25
2.5.4.3	Determinación de extracción del tubo.....	25
2.5.4.4	Determinación de apariencia.....	25
2.5.4.5	Determinación de pH.....	25
2.6	Diseño experimental.....	25
2.6.1	Tratamiento de la actividad <i>in vitro</i> .....	25
2.7	Análisis estadístico.....	26
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>27</b>
3.1	Aislamiento de <i>Candida</i> .....	27
3.1.1	Identificación de patógenos implicados en infecciones periodontales .....	28
3.1.1.1	Sistema de identificación de levaduras API <i>Candida</i> .....	29

3.1.2.	Producción de biopelículas a partir de <i>Candida albicans</i> aislada.....	29
3.2	Actividad antifúngica de los dentífricos.....	31
3.2.1	Actividad de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida albicans</i> .....	34
3.2.2	Actividad de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida glabrata</i> .....	35
3.2.3	Actividad de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida albicans</i> de biopelícula.....	36
3.3	Análisis de los dentífricos de acuerdo a NTE INEN 1602.....	38
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>6.</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>44</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>45</b>
<b>8.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Características macroscópicas de la colonia de las principales levaduras.....	12
TABLA No. 2	Factores aplicables a esta investigación .....	22
TABLA No. 3	Tratamientos realizados a cada tipo de dentífrico para actividad antimicrobiana .....	25
TABLA No. 4	Características morfo fisiológicas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i> .....	28
TABLA No. 5	Comportamiento de los tres tipos de dentífricos frente <i>Candida albicans</i> , <i>Candida glabrata</i> y <i>Candida albicans</i> procedente de biofilm .....	31
TABLA No. 6	Análisis de varianza de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida albicans</i> .....	34
TABLA No. 7	Análisis de varianza de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida glabrata</i> .....	35
TABLA No. 8	Análisis de varianza de tres tipos de dentífricos frente a <i>Candida albicans</i> procedente de biopelícula.....	36
TABLA No. 9	Dentífricos que cumplen algunos requisitos de la NTE INEN 1602.....	38

## ÍNDICE DE GRAFICOS

GRÁFICO No. 1	Frecuencia de estabilidad química de dentífricos según la norma INEN 1602.....	39
GRÁFICO No. 2	Frecuencia de estabilidad microbiológica de dentífricos según la norma INEN 1602.....	40
GRÁFICO No. 3	Frecuencia de cumplimiento de requisitos de dentífricos	40

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	<i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i> identificadas mediante la prueba bioquímica API.....	29
FOTOGRAFÍA No. 2	Colonias de <i>Candida albicans</i> en agar sangre.....	29
FOTOGRAFÍA No. 3	Biopelículas formada por <i>Candida albicans</i> .....	30
FOTOGRAFÍA No. 4	Actividad antimicrobiana de dentífricos convencionales y herbales frente a <i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> y <i>Candida albicans</i> procedente de biopelícula.....	32
FOTOGRAFÍA No. 5	Actividad antimicrobiana de dentífricos convencionales frente a <i>Candida albicans</i> .....	35
FOTOGRAFÍA No. 6	Actividad antimicrobiana de dentífricos convencionales frente a <i>Candida glabrata</i> .....	36
FOTOGRAFÍA No. 7	Actividad antimicrobiana de dentífricos convencionales frente a <i>Candida albicans</i> procedente de biopelícula.....	37
FOTOGRAFÍA No. 8	Dentífricos a y b que incumplen con la estabilidad microbiológica de la NTE INEN 1602.....	39

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Lista del perfil numérico de api ® <i>Candida</i> .....	50
ANEXO No. 2	Norma técnica 1602.....	52
ANEXO No. 3	Norma técnica 1596.....	53
ANEXO No. 4	Consentimiento informado.....	54
ANEXO No. 5	Base de datos de requisito de NTE INEN 1602.....	55
ANEXO No. 6	Análisis de ingredientes de dentífricos.....	56

## INTRODUCCIÓN

La gran incidencia de enfermedades periodontales (58%) entre adultos indica que en la mayoría de los casos la atención dental podría ser mejorada considerablemente, mediante la implementación de medidas preventivas. El efecto progresivo de enfermedades causadas por microorganismos sugiere la necesidad de adoptar una mejor limpieza bucal. Las enfermedades periodontales pueden ser minimizadas mediante el control eficaz de la placa, una limpieza interdental con el uso de hilo dental y el uso de agentes quimioterapéuticos que matan o inhiben el crecimiento de microorganismos. Por lo general los adultos no siguen una rutina adecuada de limpieza dental de modo que su tiempo de cepillado es corto, algunos pacientes no usan hilo dental o utilizan cantidades mínimas de dentífricos para su cepillado(8). Contribuyendo a la proliferación de microorganismos orales que forman biopelículas en las superficies del diente y en suaves tejidos epiteliales que a menudo contienen múltiples especies de bacterias(30). Algunas especies tales como *Candida albicans* también pueden estar presentes en la cavidad oral, causando patologías bajo condiciones específicas, ya que se encuentran como comensales en la boca de personas aparentemente sanas; factores pre disponentes son: debilidad crónica, tratamientos prolongados con antibióticos o drogas inmunosupresoras, embarazos, implantación de prótesis y factores de orden local, las prótesis dentales favorecen al desarrollo de la enfermedad produciendo candidiasis(30).

Por lo tanto, la colonización y el crecimiento de especies de *Candida* por prótesis son de importancia clínica (32). Recientemente, extractos de plantas han sido incorporados a las fórmulas de los dentífricos que coadyuvan al cuidado mediante fórmulas herbales. que además de desempeñar funciones cosméticas, tienen el objetivo principal de mejorar la acción antimicrobiana y actuar como agentes terapéuticos (12).

La acción antimicrobiana de estos dentífricos se ha atribuido a la presencia de principios fitoterapéuticos que actúan sobre una masa de bacterias extremadamente organizadas que se adhieren a las superficies dentales, dentro de estos agentes terapéuticos incorporados se destaca el Aloe Vera, o sábila (*Aloe barbadensis*) a la cual se atribuye la acción

antiinflamatoria y antibiótica derivadas de sus principios activos. El Aloe contiene mas del 75 componentes, ricos en aloferon que actúa sobre la multiplicación celular, el acemannan es un mucopolisacarido con acción antiviral, antibacteriana y antimicótica (21,35 ).

Otras plantas como la menta (*Menta piperita L.*) contienen en sus hojas un aceite esencial rico en mentol, mentonita y mentofurano, que posee propiedades antiespasmódicas, antiinflamatoria antiviral, utilizadas en inflamaciones bucales. El eucalipto (*Eucalipto globulus labill*) contiene de 3-5 % de aceite esencial, con 60 % o mas eucaliptol, principal responsable de su actividad antigripal, balsámica y astringente, siendo utilizado en el combate de la gingivitis (16).

Un análisis estadístico de los productos de uso popular propició que la fitoterapia se aproximara a Aloterapia, de tal forma que actualmente 80 % de productos de origen natural vendido en Alemania es elaborada con fitoterápicos. Sin embargo, a pesar de que algunas hierbas ya son bien conocidas, de otras no se sabe ni su composición (35).

En nuestro país no existen datos estadísticos del uso de productos de origen natural, ya que son utilizados de acuerdo a la economía del consumidor de modo que el porcentaje alto de consumo de dentífricos es de acuerdo al precio de estos, sin embargo se conoce que un gran número de personas en Ecuador alrededor del 55% están utilizando productos naturales a base hierbas para el cuidado de la salud general y bucal, en el mercado Ecuatoriano pueden encontrarse un sin número de dentífricos como por ejemplo, Colgate total 12 clean mint, Blendas menta + aloe vera, Blendas menta + manzanilla, Colgate total 12 clean profesional y cada vez se promocionan nuevas formulaciones, sin embargo pocos de estos productos han sido sometidos a pruebas rigurosas de efectividad.

Lo anterior justifica la necesidad de llevar a cabo un estudio *in vitro* de la actividad antimicrobiana de tres tipos de dentífricos sobre aislamientos orales de *Candida* spp mediante el aislamiento a partir de saliva, encías, placa dental y dentadura de adultos jóvenes saludables, y de la caracterización de *Candida* spp mediante ensayos

microbiológicos. Del cual se obtuvo *Candida albicans* y *Candida glabrata*, como patógenos oportunistas implicados en infecciones orales. Además de evaluar la actividad antimicrobiana de las formulaciones clásicas herbales y medicadas de dentífricos frente a *Candida* spp mediante la técnica de difusión en placa resaltando a las formulaciones convencionales como las eficaces. Analizar los dentífricos de acuerdo a la norma técnica ecuatoriana INEN 1602 evidenciando la inestabilidad microbiológica y química de la mayoría de los dentífricos y la estabilidad en cuanto a pH, apariencia y extrusión del tubo para los mismos.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La actividad antimicrobiana es la capacidad que presenta un compuesto para inhibir el aumento de una población bacteriana o para eliminarla, y que se puede expresar cuantitativamente con pruebas " *in vitro*". Se puede medir en concentración inhibitoria mínima CIM o en concentración máxima letal CML, y permite comparar diferentes compuestos. La baja actividad no significa resistencia; tampoco significa eficacia, fracaso terapéutico ni efectos adversos (25).

Un antimicrobiano es toda sustancia de origen natural, sintética o semisintética, que actúa inhibiendo los microorganismos a una baja concentración, y ejerce su acción a nivel molecular en un proceso metabólico o en una estructura concreta de un microorganismo (25).

##### 1.1.1 FACTORES QUE INCIDEN SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA:

Existen ciertos factores que inciden sobre la actividad antimicrobiana como: El tiempo de contacto, la concentración, la temperatura, el pH, la influencia de sustancias presentes. el espectro antimicrobiano, la estabilidad del desinfectante, la resistencia microbiana, y incompatibilidades e inactivación (25).

Los microorganismos son sensibles a los antibióticos porque son inhibidos a concentraciones menores que el límite de resistencia. La actividad corresponde al antibiótico y es un dato puro de laboratorio; la resistencia es otro concepto y corresponde al microorganismo (15).

En relación con el tipo de microorganismo que inactivan, los antimicrobianos se clasifican en: antibacterianos, antivíricos, antifúngicos, antiprotozoarios.

Un antimicrobiano, para ser considerado como tal (y diferenciarse de antisépticos y desinfectantes), ha de reunir las siguientes características (15).

#### 1.1.2 ESPECIFICIDAD.

La especificidad se refiere a la actuación frente a un determinado y limitado grupo de microorganismos. Los antimicrobianos ejercen su acción de forma específica sobre alguna estructura o función microbiana (15).

#### 1.1.3 ELEVADA POTENCIA BIOLÓGICA.

Es decir, que inhiban o destruyan microorganismos a muy baja concentración (15).

#### 1.1.4 TOXICIDAD SELECTIVA.

La toxicidad selectiva, se refiere a una muy alta toxicidad para los microorganismos susceptibles y una mínima toxicidad para las células eucariotas del organismo. Este aspecto constituye una diferencia fundamental con los antisépticos y desinfectantes, que si bien poseen también alta eficacia antimicrobiana a pequeñas concentraciones, son muy tóxicos para las células humanas y por ello sólo se aplican superficialmente en piel y/o mucosas (15).

#### 1.1.5 CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

Los antimicrobianos se agrupan de acuerdo a su origen: natural o biológico, sintéticos, semisintéticos. Según su efecto: bacteriostáticos, cuando impiden el desarrollo y multiplicación de bacterias sin destruirlas. Es decir, si mata al 90% de la población bactericidas: cuando producen efectos irreversibles como reducción de una población inicial de bacterias en el 99.9% al cabo de 24 horas.

Por otra parte, el efecto bactericida se puede ejercer a velocidades distintas, el más rápido tendrá el mismo efecto en menos tiempo y en la misma unidad de tiempo (24 horas), la reducción será mayor. Los antimicrobianos según su espectro de acción pueden ser de espectros amplio, medio o reducido (3).

#### 1.1.6 TOLERANCIA ANTIMICROBIANA

La tolerancia microbiana es la capacidad de un microorganismo en permitir que se inhiba su crecimiento, pero sin ser eliminado, la tolerancia puede ser contrarrestada mediante la combinación sinérgica de dos antimicrobianos (28).

#### 1.1.7 RESISTENCIA

Es el fenómeno por el cual un microorganismo deja de verse afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible. Los microorganismos resistentes (entre ellos las bacterias, los virus y algunos parásitos) son inmunes a los efectos de los antimicrobianos, como los antibióticos, los antivíricos o los antipalúdicos, de modo que los tratamientos habituales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten y pueden transmitirse a otras personas. La resistencia es una consecuencia del uso de los antimicrobianos, y en particular de su abuso, y surge por mutación del microorganismo o adquisición de genes de resistencia (15).

#### 1.1.8 TIPOS DE INTERACCIONES ENTRE LOS ANTIMICROBIANOS

Existen 3 categorías de los efectos “*in vitro*” debidos a las interacciones entre antimicrobianos.

1. Sinergismo: cuando la actividad debida a los antimicrobianos en combinación, es mayor que la suma de los efectos individuales de cada uno de ellos.
2. Antagonismo: disminución de la actividad de un antimicrobiano en presencia de otro.

3. Indiferencia o Adición: cuando la acción combinada de 2 antimicrobianos no produce un efecto mayor que el predecible por las actividades individuales de cada droga (2).

## **1.2 DENTÍFRICOS**

Mediante numerosos ensayos clínicos se han demostrado que dentífricos con fluoruro son efectivos agentes anticaries y han sido reconocidos como una de las principales causas de la disminución notable en la prevalencia de caries en muchos países desarrollados. Estos han sido ampliamente adoptados en todo el mundo como el principal medio de la entrega de flúor tópico y la obtención de beneficios preventivos de caries. Más del 95% de todos los dentífricos vendidos alrededor del mundo contienen fluoruro (12).

La formulación de dentífricos con fluoruro se ha convertido de un arte sofisticado en una ciencia. La mayoría de los productos dentífricos con fluoruro contienen un compuesto de:

1. Flúor activo
2. Agua
3. Abrasivos
4. Tensioactivos
5. Agentes aglutinantes
6. Humectantes
7. Aromatizantes
8. Edulcorantes
9. Colorantes
10. Conservantes

En los últimos 20 años, dentífricos han sido cada vez más utilizado como vehículo de otros aditivos, como los agentes inhibidores de cálculo (control de sarro), agentes anti-placa/anti-gingivitis, agentes de dientes sensibles, mal olor anti-oral / agentes para refrescar el aliento, blanqueadores / sistemas de eliminación de manchas, y los agentes remineralizantes. Desde hace tiempo se reconoce que la efectividad del flúor en los productos dentífricos está fuertemente influenciada por la compatibilidad de fluoruro con otros ingredientes (12).

Ensayos clínicos de dentífricos fluorados reportados por Bibby (1945) señalan incompatibilidad de NaF con el abrasivo (fosfato bicálcico) que pone en peligro la eficacia de la formulación (12).

### 1.2.1 FACTORES QUE AFECTAN LA EFICACIA DE UN DENTÍFRICO

Además de las propiedades intrínsecas de comportamiento de un producto dentífrico fluorado existen factores biológicos que pueden modificar su eficacia anticaries. Todos estos factores de interacción se describen como:

- a) **Factores de aplicación.**- La interacción inicial de concentraciones relativamente altas de fluoruro en la superficie del diente y la placa.
- b) **Factores de mantenimiento.**- El resto de fluoruro en la boca después del cepillado que se conserva en la saliva, la placa y el líquido de la placa, la superficie del diente y los tejidos blandos orales.
- c) **Factores conductuales.**- Incluyen la frecuencia de uso del dentífrico, la duración del cepillado, enjuague las prácticas después del cepillado, la hora del día que dentífrico se aplica, y la cantidad de dentífrico que se aplica (12).

Está bien establecido que la frecuencia de uso tiene una gran influencia en la eficacia. El uso de dos veces al día o más tiene un mayor efecto preventivo que una vez por día. La duración del tiempo de cepillado determina el tiempo que la concentración de fluoruro relativamente alta contenida en los dentífricos en contacto con los dientes y la placa permite una mejor captación de fluoruro. Cuanto mayor sea la concentración de flúor,

mayor será la fuerza motriz para la difusión de flúor a través de la placa hacia la superficie del diente. Algunos comportamientos después del cepillado como por ejemplo el enjuague afecta la cantidad de fluoruro que se retiene en la boca (12).

### **1.2.1.1 Factores Biológicos**

1. Principalmente del flujo salival durante y después de la aplicación de fluoruro influencia de la tasa de remoción de flúor.
2. El uso de dentífricos fluorados a la hora de acostarse aumenta la retención de fluoruro debido a la disminución del flujo salival durante el sueño.
3. La cantidad de fluoruro aplicado al cepillo de dientes (dosis) no es tan importante como la concentración de fluoruro disponible en un dentífrico.

Dentífricos de concentración de fluoruro reducidos no son tan efectivos como los productos de concentración normal. La dosis de flúor, sin embargo es importante en lo que respecta a la fluorosis del esmalte en los niños menores de seis años de edad debido a la ingestión del dentífrico. Por esta razón, la reducción de la cantidad de fluoruro se aplica a productos destinados a ser utilizados por niños (12).

## **1.2.2 TIPOS DE DENTRIFICOS**

### **1.2.2.1 Dentífricos Antisensibilizantes**

Contienen el cinco por ciento de nitrato de potasio ( $KNO_3$ ), esto puede reducir la actividad nerviosa y el dolor intradentales, por impulsos de interrupción lo que reduce el dolor. Las personas con este tipo de problemas deben usar dentífricos para dientes sensibles dos veces al día y continuar el uso diario de alivio a largo plazo (26).

### **1.2.2.2 Dentífricos antibacterianos**

Son dentífricos que contienen agentes antimicrobianos y previenen la placa y la gingivitis. El triclosan es el ingrediente clave en estos dentífricos es los que se ha comprobado clínicamente la eliminación de las bacterias dañinas que pueden causar la

enfermedad. El triclosan es usado ampliamente en desodorantes y jabones, se han incluido recientemente en los dentífricos y enjuagues bucales. El triclosan actúa inhibiendo el crecimiento de bacterias anaerobias que son responsables de la enfermedad periodontal. Además, sus propiedades antiinflamatorias, antimetabólicas reducen aún más la acumulación de placa y la gingivitis (17).

#### **1.2.2.2.1 El Triclosán**

El Triclosán es el más utilizado y más potente ejemplo de los antibacterianos difenil clorado, se ha utilizado clínicamente como un antiséptico tópico, en jabones medicados y lavados de manos. El triclosan es en gran medida ineficaz contra los miembros de la familia *Pseudomonadaceae*, sin embargo goza de un amplio espectro en especial en países en donde generalmente el uso del triclosan va desde 0.1-30 mg/ litro, incluyendo champús, desodorantes y una serie de productos de higiene bucal (23).

La eficacia del triclosan en formulaciones orales para el control de la acumulación de placa se apoya en una serie de estudios con voluntarios humanos y estudios “in vitro”. Las eficacias antiplaca de triclosan que contiene dentífricos se demostró claramente en una investigación de cuatro días en que los voluntarios no utilizaron cepillos dentales, y el uso de triclosan dentífrico se ha asociado con una reducción en la inflamación gingival (7).

Su primer sitio de actividad antimicrobiana es la membrana plasmática microbiana y por sus características no iónicas, es bastante compatible con los abrasivos y compuestos fluorados. El triclosan, en bajas concentraciones interfiere en la absorción de los nutrientes, determinando un efecto bacteriostático. Mientras que en altas concentraciones es bactericida, determinando la ruptura de la membrana, llevando a derrame de los componentes celulares y consecuentemente, a la muerte celular. Sus efectos sistémicos son prácticamente inexistentes. También presenta buena retentividad en la mucosa oral, siendo de difícil remoción por los fluidos orales (8).

#### **1.2.2.3 Dentífricos blanqueadores**

Según la Academia Americana de Odontología Cosmética, blanqueamiento dental es el más solicitado procedimiento cosmético dental de los pacientes entre las edades de 20 y 50. Por desgracia, la mayoría de los pacientes que se realizan blanqueamientos profesionales no saben que la sensibilidad dental es el efecto secundario más común. Los datos sugieren que hasta un 75 por ciento de los pacientes que se someten a un blanqueamiento dental profesional puede experimentar sensibilidad. Los pacientes pueden ayudar a prevenir y reducir la sensibilidad utilizando dentífricos antisensibilizantes que contienen nitrato de potasio dos semanas antes y durante el blanqueamiento profesional (26).

Dientes más blancos también se puede lograr mediante el uso de dentífricos blanqueadores. Mientras que algunos dentífricos blanqueadores utilizan productos abrasivos que eliminan la placa y los restos de la superficie del esmalte, otros contienen compuestos que descomponen los desechos que pueden acumularse en la superficie del esmalte (26).

#### **1.2.2.4 Agentes Limpiadores**

Generalmente todos los productos incluyen compuestos detergentes que penetran y debilitan los depósitos de la superficie del diente, favoreciendo su eliminación; el más común es el Lauril sulfato de sodio (26).

### **1.3. DENTÍFRICOS HERBALES**

El interés de dentífricos y enjuagues bucales alternativos a base extractos vegetales se han incrementado recientemente. Estos productos a base de hierbas han recibido gran atención. Generalmente están compuestos por bicarbonato de sodio, fluoruro de sodio y los ingredientes a base hierbas: como manzanilla que se supone tiene propiedades antiinflamatorias esto quiere decir para disminuir la inflamación gingival, la salvia que tienen propiedades antihemorrágicas, la mirra que es un antiséptico natural, el aceite de

menta que también tiene propiedad antiséptica y antiinflamatorias junto con propiedades analgésicas (29).

Se estima que entre un tercio y la mitad de todos los estadounidenses practican alguna forma de alternativa medicina, incluyendo el uso de los recursos naturales o productos a base de hierbas. El uso de estos productos, incluidos los dentífricos, ha aumentado considerablemente en los últimos años; los consumidores se inclinan hacia el uso de productos a base de hierbas y a menudo se consideran como productos más seguros que los productos que contienen reactivos químicos (29).

Dentífricos etiquetados como "naturales" no deben tener ingredientes tales como edulcorantes sintéticos, colorantes artificiales, conservantes, aditivos o sabores y fragancias sintéticas. El término "hierbas" en la etiqueta implica que la mayoría de los activos del dentífrico y los ingredientes son de origen vegetal. Los consumidores de estos productos para el cuidado natural de la salud general están bien educados. A medida que la popularidad de los medicamentos naturales y dentífricos sigue aumentando, profesionales de la odontología se encuentran en una posición para proporcionar información a los pacientes acerca de la seguridad y la eficacia de estos productos. Esto puede ser difícil, sin embargo, debido a la falta de consenso profesional sobre el tema. La falta de información científica, estudios sobre productos naturales y plantas medicinales en la literatura revisada de dentífricos plantea un dilema para profesionales de la salud cuando se trata de estos los productos. Si bien algunos de estos productos naturales podrían ser tan seguros como los dentífricos convencionales, otros pueden presentar riesgos si se utilizan incorrectamente (33).

Un estudio in vitro sobre la actividad antimicrobiana de las tinturas de malva, salvia, camomila, tomillo, cacao y própolis contra *S. mutans* y *S. sobrinus* concluyó que la malva, salvia y camomila no presentan acción inhibidora de la proliferación bacteriana. Al respecto de los agentes antimicrobianos incorporados a las fórmulas de dentífricos, podemos citar el triclosan (2,4,4, triclora-2-hidroxi-difenil éter) que presenta amplio espectro y está siendo utilizado desde hace 25 años en productos dermatológicos,

jabones, desodorantes y recientemente, con éxito en los dentífricos, auxiliando en la remoción de la biopelícula dental (8).

#### **1.4. ENFERMEDAD PERIODONTAL**

La periodontitis es una inflamación crónica del periodonto inducida por bacterias. Tiene como resultado la destrucción del periodonto, la causa más común de la pérdida de dientes en todo el mundo (27).

El resultado, es la destrucción del periodonto, la causa más común de la pérdida de dientes en todo el mundo. La capacidad de forma no invasiva muestra la composición clínica microbiana de sitios sanos y enfermos que rodea la superficie del diente y la raíz del diente (27).

La clasificación actual de las enfermedades del periodonto incluye una amplia descripción de la enfermedad gingival (16,39).

Según esta clasificación, los problemas periodontales producidos durante la gestación son gingivitis y granuloma piógeno, y se ubican dentro de las enfermedades gingivales asociadas a placa bacteriana, modificadas por factores sistémicos, asociadas al sistema endocrino (27).

La gingivitis y periodontitis son las más comunes dentro de las enfermedades periodontales. Gingivitis es la inflamación de la encía en la que el epitelio de unión permanece unido al diente en su nivel original. Periodontitis es la inflamación del periodonto que se extiende más allá de la encía y destruye la inserción conectiva del diente (27).

##### **1.4.1 MICROBIOLOGÍA PERIODONTAL**

La población bacteriana y la naturaleza de la respuesta inflamatoria asociada con periodontitis, son marcadamente diferentes de la encontrada en el individuo clínicamente sano. Un grupo de bacterias se encuentra asociado a la periodontitis, principalmente gramnegativas y algunas grampositivas, en su mayoría anaeróbicas o que crecen preferiblemente en ambientes microaerobios y tienen el calificativo de periodontopáticas. Entre las gramnegativas están: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, espiroquetas (*Treponema denticola*), *Prevotella intermedia/P. nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, y entre las grampositivas están: *Peptostreptococcus micros* (Pm), *Streptococcus intermedius* (Si) y *Eubacterium* spp. Por otra parte es claro que pueden encontrarse diferentes grados de inflamación y que la cantidad y tipo de los microorganismos cambia en la transición de la salud a la enfermedad periodontal (37).

#### 1.4.2 *Candida* spp. COMO AGENTES DE INFECCIONES ORALES.

Las levaduras son patógenos oportunistas, es decir, que causan infecciones cuando el ambiente se vuelve favorable. La candidiasis oral es una infección oportunista común, tanto en los individuos médicamente comprometidos como en los saludables. Aunque *C. albicans* es patógeno se producen infecciones por distintas especies de *Candida* tales como *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. dubliniensis*. *C. albicans* puede causar infecciones de las mucosas, tales como estomatitis, sobre todo, en la dentadura, en portadores de prótesis de acrílico que pueden actuar como reservorios aumentando el riesgo de colonización por este organismo, también se han encontrado especies de *Candida* como se menciona en la tabla N°1 en la placa y saliva (38).

La microbiota de la cavidad oral humana puede ser muy diversa, abarca alrededor de 700 especies bacterianas, de las cuales aproximadamente la mitad aún no ha sido cultivadas “in vitro”. En los adultos mayores la cavidad oral es colonizada por una pequeña parte de la microbiota residente (13).

TABLA Nº1. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA COLONIA DE LAS PRINCIPALES LEVADURAS

ESPECIES	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS
<i>Candida albicans</i>	Colonias blancas, lisas y brillantes. Las variantes pueden ser secas, plegadas y de aspecto más o menos céreo
<i>Candida krusei</i>	Colonias secas, planas y muy extendidas sobre la superficie del medio. Variantes con características diferentes
<i>Candida parapsilosis</i>	Colonias brillantes, cremosas a amarillentas, de aspecto húmedo y lisas, o bien plegadas
<i>Candida pseudotropicalis</i>	Colonias blancas y brillantes o bien de aspecto mate y con pliegues.
<i>Candida tropicalis</i>	Colonias mates, secas, blancas, cremosas, lisas o plegadas.
<i>Candida glabrata</i>	Colonias de tamaño variable, pequeñas o grandes y aplanadas, cremosas, lisas y brillantes.
<i>Cryptococcus</i> spp	Colonias más o menos mucoides, o secas y lisas brillantes, más o menos mates con el tiempo.
<i>Rhodotorula</i> spp	Colonias rosas, anaranjadas o asalmonadas, mucoides y lisas, o secas y plegadas.
<i>Trichosporon</i> spp	Colonias blancas a cremosas, lisas y mucosas, o bien de aspecto seco muy plegadas.

Fuente: Gomoza. C, Lopez. J, Diaz. R, 20005, Manual practico de microbiología, 3ra Edición

En la composición de la microbiota oral pueden influir: las prótesis dentales, las hormonas, la medicación a largo plazo, la dieta y una higiene oral inadecuada, estos factores en conjunto sugieren que esta microbiota de los ancianos puede ser diferente de la de los individuos más jóvenes (32).

De otro lado, muchos estudios microbiológicos han demostrado una asociación entre niveles altos de *Streptococcus mutans*, *Lactobacilos* y la prevalencia de caries. Según Moalic et al. el papel de la microbiota saprofita, específicamente hongos como un factor

de riesgo de caries dental aun no ha sido claramente establecida. Sin embargo, otros estudios asocian *Candida* con la prevalencia de caries. De hecho, Coulter et al. Informaron que el nivel *Candida* en la saliva en podría ser más útil como un indicador de factores de riesgo microbiano en la caries, que el recuento de *lactobacilos* (10).

Correlaciones positivas entre los parámetros salivales, la experiencia de caries y el incremento de caries han sido creados especialmente en niños y adolescentes. Sin embargo, los datos sobre la población adulta son todavía escasos (38).

Además, otros factores como las condiciones socioeconómicas parecen interferir en la colonización por *Candida*. El hallazgo de un mayor aislamiento de *Candida* spp. en los niños en relación con los adolescentes, indica la influencia del medio ambiente en la colonización por *Candida* (10).

#### 1.4.3 BIOPELÍCULA FORMADA POR *C. albicans*

Las biopelículas son dinámicas, y a menudo son comunidades estructuralmente complejas de microorganismos adheridos a la superficie, están incrustados dentro de una matriz polimérica extracelular. Las biopelículas fúngicas pueden causar un problema clínico particular, ya que son una fuente de infecciones en dispositivos médicos como catéteres. En general, la matriz de biopelículas proporciona un soporte arquitectónico fundamental, y protección de los microorganismos en las comunidades que la rodean. La producción de la matriz es polisacárido un factor clave en el crecimiento y desarrollo de biopelícula (23) y en general las células de la biopelícula poseen características fenotípicas distintas comparadas con su contraparte planctónica (35).

*C. albicans* puede producir infecciones recurrentes en la mucosa del tracto alimentario dando lugar al crecimiento de biopelículas. Dongari-Bagtzoglou, (11) encontraron que las biopelículas orales de *Candida* consisten de levaduras, hifas y bacterias comensales con queratina dispersa en los espacios intracelulares. Neutrófilos migran a través de la mucosa oral y forman nidos dentro de la masa celular. La pared celular está expuesta

durante el crecimiento de la biopelícula y está más uniformemente presente en la superficie de la biopelícula de organismos que invaden la mucosa oral. Por estos hallazgos concluyeron que *C. albicans* forman biopelículas, mucosas complejas constituidas por bacterias comensales y componentes del hospedero. Al parecer hay interacciones entre *Candida* y bacterias en la patogénesis de las infecciones de las mucosas y el polisacárido beta glucano media la señalización en la respuesta del hospedero (19).

Las biopelículas de *C. albicans* han demostrado tener alterada la composición de los carbohidratos de las paredes celulares con un incremento en el contenido total beta glucano, de modo que los polisacáridos de  $\beta$  glucano conforman del 50 al 60 % de la pared celular y son generalmente enmascarados por una capa de manano durante el crecimiento planctónico “in vitro”(19).

#### 1.4.4 INFECCIONES POR *Candida* spp

La prevalencia de las infecciones por *Candida* ha aumentado a nivel mundial. Numerosos estudios han demostrado que varias especies de *Candida* poseen una multitud de mecanismos de virulencia que conducen a la colonización y a la infección cuando se producen las condiciones adecuadas. Los progresos realizados en la comprensión de los mecanismos de adhesión a la superficie celular y a la saliva son impresionantes pero no concluyentes (31).

Las biopelículas fúngicas parecen compartir algunas propiedades con las biopelículas bacterianas, incluyendo la heterogeneidad de su estructura y la susceptibilidad disminuida a los antimicrobianos y biocidas. Las biopelículas de *C. albicans* poseen una heterogeneidad estructural y manifiesta una típica arquitectura de micro colonias con canales de agua similares a los biopelículas bacterianas. Douglas, L (2002), cita dos factores que pueden afectar la formación de las biopelículas de hongos “in vitro” entre ellos menciona especies y variedades de *Candida*, la naturaleza de las superficies colonizadas, la presencia de una biopelícula acondicionante, flujo de líquidos y bacterias (18).

En otros países, el conocimiento acerca de como la adhesión y el proceso de formación de la biopelícula se lleva a cabo y cómo evitar o al menos disminuir la colonización por *Candida* son procesos obligatorios en la práctica clínica (31).

#### 1.4.5 COLONIZACIÓN POR *Candida* spp

Los hongos normalmente viven como comensales inocuos y colonizan diversos hábitats en los seres humanos, en particular la piel y mucosa. La existencia de comensales orales de especies de *Candida* varía de 20% a 50% en un ambiente sano. Dado que el crecimiento en las superficies es una parte natural de *Candida* se puede esperar que *Candida* colonice prótesis. La transición morfológica se ve afectada, por el pH, nutrientes, temperatura, y una serie de compuestos, incluyendo pequeñas moléculas de señalización que, o bien estimulan o reprimen a la formación de hifas (9).

Para colonizar, los hongos deben primero adherirse ya sea primero a las células del hospedero y a los tejidos o a superficies de biomateriales que son cubiertos con una película acondicionante de glicoproteínas, que en el caso de la cavidad oral proveniente de la saliva primordiallymente, o de los diferentes tipos de bacterias. *Candida* se adhiere directamente a través de una capa de la placa base de la prótesis de la dentadura (polimetilmetacrilato - PMMA) Sin esta adhesión, los microorganismos se retirarían de la cavidad oral cuando se ingiere la saliva o los alimentos (26). La posibilidad de que *Candida* colonice las superficies orales depende tanto de la efectividad de los mecanismos defensivos del hospedero, como de la capacidad de adhesión del hongo y de su poder de crecimiento. El balance entre la colonización y la candidiasis depende de la capacidad de la *Candida* para modular la expresión de los factores de virulencia en respuesta a los cambios ambientales, combinados con la competencia del sistema inmunológico del hospedero unido a las pautas terapéuticas anti fúngicas(6).

Mejor adherencia de determinadas especies de *Candida*, por ejemplo, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C.dublinskiensis*, en comparación con *C. albicans*, podría ser atribuida a sus valores de superficie relativa o la energía libre, ya que microorganismos hidrofóbicas

parecen ser más adherente a las superficies de acrílico. Si bien no hay estudios sobre la hidrofobia de *C. tropicalis* y *C. dubliniensis*, se encontró que *C. glabrata* es más hidrofóbica que *C. albicans*. La presencia de saliva puede cambiar este escenario (6).

#### 1.4.5.1 Propiedades de la saliva en la colonización por *Candida spp*

La saliva muestra un efecto de limpieza física y las moléculas de defensa innata, como la lisozima, histatin, lactoferrina, calprotectina, interactúan con las especies de *Candida*, lo que disminuye la adhesión y la colonización de las superficies orales.

Otros componentes de la saliva entera, incluyendo mucina y prolina ricos en proteínas se han reportado para fijarse a *C. albicans*, lo que facilita la adherencia al acrílico.

Sin embargo, los estudios sobre la influencia de saliva en la adherencia de *Candida* son contradictorios. Varios investigadores informaron que una capa de saliva reduce la adherencia de *C. albicans* en la resina de base acrílica. Otros mostraron un aumento de las tasas de adherencia con la saliva. Tres grupos de investigación no encontraron ningún efecto en absoluto de una saliva. Un efecto dinámico, dependiendo de la fase morfológica de *C. albicans* fue también, donde inicialmente la adhesión fue mayor, pero posteriormente se redujo a las 24 horas (31).

Los estudios sobre el efecto de la saliva en la adherencia de las especies de *C. albicans* que no sea, a las resinas de acrílico *in vitro* e *in vivo*, indican la adhesión y leves variable. *C. dubliniensis* se ha demostrado que decrece o incrementa su efecto en presencia de saliva, mientras que los recuentos *C. glabrata* no se vieron afectadas por la saliva en un estudio pero disminuyó en otro (31).

Así, hay pruebas contradictorias con respecto a la relación “*in vitro*” entre la saliva y la adhesión de *Candida*. En general se han visto que las proteínas de bajo peso molecular se relacionan con los niveles de adherencia de *Candida*. Esto está de acuerdo con estudios clínicos donde los pacientes con flujo salival bajo o alteración y / o composición presentaron mayores recuentos de las especies de *Candida* en comparación con la saliva

de pacientes con flujo salival normal. Colectivamente, esto confirma el papel regulador de la saliva en la inhibición de la adherencia de especies de *Candida* (31).

#### 1.4.6 ESPECIES DE *Candida* spp

La especie de *Candida* que con mayor frecuencia se asocia con lesiones de la mucosa oral es *Candida albicans*. Sin embargo, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. dubliniensis* también han sido aisladas de enfermos. Recientemente, se han observado que especies de *C. albicans* son los más vistos como agentes de infecciones, aunque *C. albicans* sigue siendo predominante de enfermedades inflamatorias (31).

*C. glabrata* se perfila como la especie predominante segundo lugar, a menudo aislados de la superficie de la prótesis de acrílico y en la mucosa del paladar. *Candida glabrata* se consideraba una especie de *Candida* no patógeno, pero el aumento del uso de fármacos inmunosupresores, como la cura del síndrome de inmunosupresión, han dado lugar al aumento de infecciones por *C. glabrata* con alta mortalidad en ratas. La explicación de esta tendencia a la morbilidad debido a levaduras patógenas queda por determinar, pero ya se ha sugerido que el mayor uso de antifúngicos en todo el mundo ha contribuido a este fenómeno. Hay evidencia creciente de que más de una especie *Candida* al mismo tiempo puede colonizar los hábitats de la mucosa oral, la lengua y el paladar tanto en sujetos sanos como en enfermos (31).

#### 1.4.7 LAS BACTERIAS Y LAS INTERACCIONES DE *Candida* spp

En las células microbianas, la comunicación celular juega un papel importante en el proceso de colonización. Microorganismos presentes en el medio oral interactúan entre sí de muchas maneras, por ejemplo usando uno de los productos finales del metabolismo, o por una comunicación más directa a través de moléculas de señalización. Comprender las complejas interacciones entre las superficies, la saliva, eucariotas y procariotas durante las infecciones es crucial en el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento (31).

Un reciente estudio mostró que la formación de hifas de *Candida* puede ser modulada por Gram negativos. También, se ha hecho evidente que las interacciones sinérgicas entre los microorganismos aumentan la eficiencia en la formación de biopelículas (31).

Inmediatamente después del cepillado o la profilaxis, la superficie dental se recubre con película salival y las bacterias colonizan en primer lugar. Estos "primeros colonizadores" o pioneros son seguidos por los "colonizadores tardíos", cuando las condiciones en la biopelículas se prestan para otras especies (31).

Normalmente, esto depende de un complejo de interacciones microbianas que modulan la respuesta del huésped que conduce a la inflamación. Dependiendo de las condiciones locales, las bacterias pueden proporcionar a los hongos los compuestos que activan los factores determinantes de virulencia. Indígena (31).

En la cavidad oral, *C. albicans* se encuentra en relación con múltiples especies de bacterias y se ha demostrado que se adhieran a una gama de especies de estreptococos orales. Dado que los estreptococos son primeros colonizadores de las superficies de la cavidad oral, la capacidad de *C. albicans* de adherirse a las especies de *Streptococcus* proporciona una superficie adicional para la colonización por hongos. Estas interacciones pueden ser importantes para el desarrollo de las biopelículas de especies mixtas en las superficies mucosas o prótesis. *S. gordonii*, una ubicua comensal oral humana pueden encontrar en varios sitios de la cavidad oral, causando interacciones multimodales con *C. albicans* (9).

#### 1.4.8 CANDIDIASIS ORAL

##### 1.4.8.1 Causas de la candidiasis oral

La candidiasis oral se contrae cuando *Candida*, normalmente presente en el cuerpo, crece en forma descontrolada. En los bebés, *Candida* causa candidiasis oral debido a que el sistema inmunitario de los bebés todavía no es lo suficientemente fuerte como para controlar el crecimiento del hongo en forma de levadura. Las personas mayores tienen

candidiasis oral debido a que su sistema inmunitario puede debilitarse con la edad. Algunas personas tienen candidiasis oral cuando toman determinados medicamentos, como antibióticos o corticosteroides inhalados. Las personas que tienen problemas de salud, como diabetes o VIH, también son más propensas a contraer candidiasis oral (1)

## CAPITULO II

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

#### 2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

##### 2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* , aisladas de la cavidad oral de adultos jóvenes saludables y *Candida albicans* procedente de biopelículas formadas *in vitro*

##### 2.2.2 EQUIPOS

- Autoclave (Fedegari)
- Balanza (Ohaus)
- Baño María (Mettler)
- Estufa (Fanem)
- Microscopio (Bausch – Lomb)
- Refrigeradora (Durex)
- Cámara de flujo laminar (ESCO)
- Potenciómetro (Jenway, Cond Meter)
- Balanza analítica (Adam)

### 2.2.3. REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

- Agua Destilada
- Ácido sulfúrico 95-98% (Merck / 1.00713.2500)
- Cloruro de Bario (Danger B-34)
- Suero fisiológico estéril 0.85%
- Suero Humano
- Aceite de inmersión
- Triptona (Acumedia/0312-115)
- Caldo Soya Tripticasa (Difco/9320006)
- Agar Saboraud Dextrose (Difco/00124442)
- Agar Base Sangre (Merck /1.000554669.0500)
- Agar Müeller Hinton (Difco/02002239)
- Agar Urea base to Christensen (Scharlau/ 16942)
- Urea (Mallinckrodt/1086311-1)
- Dextrose Anhydrous (J.T. Baker/08865)

### 2.2.4. MATERIALES DE LABORATORIO

- Asas de Inoculación
- Aguja de Inoculación
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 1000 mL
- Pipetas graduadas de 1 mL
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipetas graduadas de 10 mL
- Vaso de precipitación de 250 mL
- Probeta Graduada de 25 mL
- Probeta graduada de 100 mL
- Probeta graduada de 1000 mL
- Tubos de ensayo
- Espátula
- Gradilla

- Mechero
- Pipetas automáticas de 10 uL
- Pipetas automáticas de 100 uL
- Pipetas automáticas de 1000 uL
- Puntas amarillas y azules de Pipetas Automáticas
- Papel aluminio
- Guantes estériles
- Mascarillas
- Cajas petri
- Gorros quirúrgicos
- Plancha de calentamiento

### 2.3. FACTORES DE ESTUDIO

Los factores que intervinieron directamente en el estudio se detallan a continuación en la tabla N°2

**TABLA N°2. FACTORES APLICABLES A ESTA INVESTIGACIÓN**

<b>FACTOR</b>	<b>DESCRIPCIÓN DEL FACTOR</b>	<b>NIVELES</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
1	Tipo de Dentífrico	D1	Clásicos
		D2	Herbales
		D3	Medicinales
2	Especie de <i>Candida</i>	C1	<i>Candida albicans</i>
		C2	<i>Candida glabrata</i>
		C3	<i>Candida albicans</i> de biopelícula

Fuente: Mirian Muyulema

### 2.4. UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS

Se emplearon 36 tubos de dentífricos caracterizados en base a su fórmula, en dentífricos clásicos, herbales y medicinales y 4 cepas de *Cándida* para evidenciar actividad antimicrobiana por medio de pruebas de difusión en discos.

## **2.5 METODOLOGIA**

### **2.5.1. AISLAMIENTO DE *Candida* spp**

#### **2.5.1.1. Recolección de muestras Orales**

Se recolectaron con consentimiento informado (anexo 4) 118 muestras de la cavidad oral de jóvenes saludables mediante hisopado de dientes y encías (38)

#### **2.5.1.2. Aislamiento *Candida* spp**

Para aislar cepas presuntivas de *Candida* spp se inocularon muestras de cavidad oral en placas de Agar Saboraud Dextrose (Difco) con cloranfenicol (0.1 mg/mL). Las placas se incubaron a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $48 \pm 3$  h (38).

#### **2.5.1.3. Identificación de *Candida* spp.**

Se examinaron las morfologías macroscópicas y microscópicas de las colonias desarrolladas en los cultivos de muestras orales. Se hizo la prueba de tubo germinativo para *Candida albicans* suspendiendo un inóculo de cepa pura y observando a un microscopio con 400 X.

Se aplicó también la prueba para la producción de ureasa (4).

#### **2.5.1.4. Sistema de identificación de levaduras API *Candida***

Se tomó un inóculo del cultivo joven de 18-24 horas de levadura y se preparó una suspensión con solución salina equivalente al estándar del patrón 3 Mc. Farland. La suspensión se repartió en las cúpulas de la cámara de siembra evitando la formación de burbujas, los cinco primeros ensayos, y el último se recubrieron con aceite de parafina inmediatamente después de inocular la galería. Se selló la cámara de incubación, y se incubó a  $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  por 18-24 h en atmósfera aerobia. Las reacciones se analizaron

mediante la tabla de lectura de la ficha técnica, y se codificaron en un perfil numérico (ver anexo 1).

#### **2.5.1.5 Montaje del banco de cepas**

Las cepas identificadas como: *C. albicans* y *C. glabrata* se conservaron en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  en tubos de agar Saboraud inclinado. La pureza y la viabilidad del banco se mantuvieron durante todo el estudio.

### **2.5.2. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS DENTÍFRICOS**

#### **2.5.2.1. Evaluación de la actividad antifúngica de los dentífricos**

La actividad antimicrobiana de los dentífricos se evaluó mediante el método de difusión en agar (Difco/00124442 ). Las cepas de *Candida* se recuperaron en caldo soya tripticasa (Difco/9320006), se preparó las suspensión de cada una de las cepas en solución salina estéril al 0.85% de acuerdo al tubo del patrón McFarland, posteriormente se inocularon 0.1mL de la suspensión en cajas petri con agar Saboraund dextrosa (Difco/00124442) y se sembraron masivamente.

En cada caja se preparó seis pozos impregnados con 0.1 mg de cada dentífrico. El montaje de cada una de las cajas se ve ilustrado en la figura N° 4,5,6,7 de cada en sayo se realizaron seis repeticiones. Las placas se incubaron a  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, terminado el tiempo de incubación se midieron los halos de inhibición frente a los microorganismos. Se considero positivo cuando el halo supero el 1 mm de inhibición (38).

#### **2.5.3. DESARROLLO DE BIOPELÍCULAS**

Para el desarrollo *in vitro* de la biopelícula de *Candida albicans* se aplicó la técnica de Maki, ( 15), propiciando el desarrollo de la levadura en un catéter inmerso en TSB con glucosa al 1%, tras la incubación se tomó la superficie y se hizo rodar en placas de agar sangre, luego del crecimiento a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , por 24h, una de las colonias aisladas se

resembró en caldo, tras la incubación se eliminó el caldo y se lavó con solución salina estéril, se adicionaron 5 mL de cristal violeta al 0.4% para teñir el material adherido a las paredes (4).

#### 2.5.4. ANÁLISIS DE LOS DENTRÍFICOS DE ACUERDO A LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1602

##### 2.5.4.1. Determinación de estabilidad química

Norma NTE INEN 1602 (anexo 2)

##### 2.5.4.2. Determinación de estabilidad microbiológica

Norma NTE INEN 1602 (anexo 2)

##### 2.5.4.3. Determinación de extrusión de tubo

Norma NTE INEN 1602 (anexo 2)

##### 2.5.4.4. Determinación de apariencia

Norma NTE INEN 1602 (anexo 2)

##### 2.5.4.5. Determinación de pH

Norma NTE INEN 1596 (anexo 3)

#### 2.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

##### 2.6.1. TRATAMIENTO DE ACTIVIDAD “*in vitro*”

TABLA Nº3. TRATAMIENTOS REALIZADOS A CADA TIPO DE DENTÍFRICO PARA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

DETERMINACIONES	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA			
Dc	Dentífrico	clásico	frente	al
	microorganismo			
Dh	Dentífrico	Herbales	frente	al
	microorganismo			
Dm	Dentífrico	Medicinales	frente	al
	microorganismo			

Fuente: Mirian Muyulema

## 2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó por medio de la prueba de ANOVA (Análisis de varianza) la existencia o no de diferencias significativas entre los diámetros de los halos de inhibición reportados en la evaluación de la actividad antimicrobiana de los distintos tipos de dentífricos frente a las cepas de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. albicans* procedente de biopelícula.

## CAPITULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. AISLAMIENTO DE *Candida*

A partir de 118 muestras de cavidad bucal de adultos jóvenes del centro del país se determinó una prevalencia de levaduras de 21.18% (25/118), de entre estos aislamientos se recuperaron dos cepas, *C. albicans* y *C. glabrata*.

Las cepas mantuvieron pureza y viabilidad durante el estudio, lo cual se evidenció por las típicas morfologías macroscópicas de las colonias desarrolladas en agar Saboraud Dextrose (Difco) y la morfología microscópica de sus células coincidiendo con lo reportado en la Tabla N°4

De las especies de *Candida*, *C. albicans* es la levadura mas comúnmente aislada de la cavidad bucal, su presencia en este nicho se asocia a infecciones fúngicas, y dado su carácter de patógeno oportunista, puede ser agente de endocarditis y septicemias (4).

### 3.1.1. Identificación de patógenos implicados en infecciones periodontales

Las especies de *Candida* aisladas presentaron las características detalladas en la tabla N°. 4

**TABLA N° 4 CARACTERÍSTICAS MORFO FISIOLÓGICAS DE *Candida albicans* y *Candida glabrata***

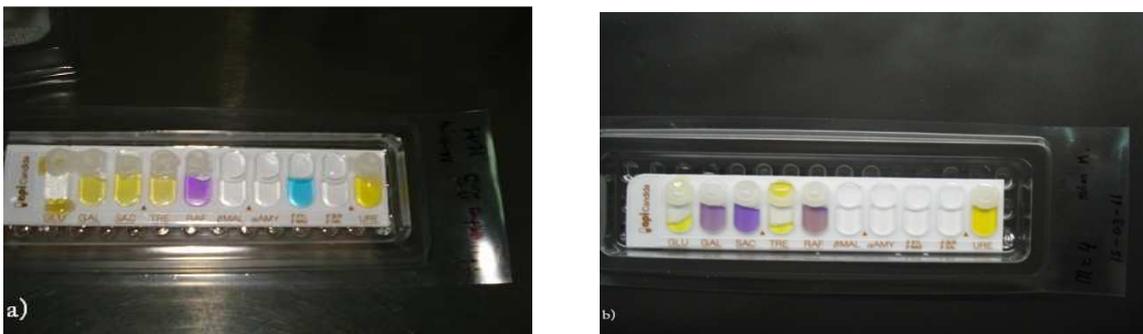
Características morfológicas	Descripción	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>
<b>En Agar Saboraud</b>		
<b>Morfología macroscópica de <i>C. albicans</i></b>	Colonias pequeñas de 1.5 a 2 mm de diámetro, colonias blancas, lisas y brillantes, de consistencia blanda, con un olor característico a levaduras. Convexas	Colonias pequeñas de 1.0 a 1.5 mm de diámetro, colonias aplanadas, cremosas, lisas y brillantes de consistencia blanda, con un olor característico a levaduras.
<b>Morfología microscópica de <i>C. albicans</i></b>	Levadura Gram positiva, forma oval de 2 a 4 µm, con extremos redondos de 3 a 5 µm de diámetro y pseudohifas	Levadura Gram positiva, forma oval de 2 a 4 µm, con extremos redondos de 3 a 5 µm de diámetro y pseudohifas
<b>Tubo germinativo</b>	Estructura elongada que se origina a partir de la levadura	Estructura elongada que se origina a partir de la levadura
<b>Producción de ureasa</b>	Negativo	Negativo

Fuente: Mirian Muyulema

Entre las pruebas aplicadas en la identificación de estas dos especies de *Candida* de importancia clínica que pueden causar candidiasis oral en seres humanos se pueden apreciar características similares. De acuerdo a Merlino. Et al. la formación del tubo germinativo no es exclusiva de *C. albicans* sino también de *Candida dublineisis*. En tanto que la prueba de ureasa resulta positivo únicamente para *Cryptococcus neoformans*, y *Candida lipolytica*, para las demás especies de *Candida* la prueba es negativa (22).

### 3.1.1.1 Sistema de identificación de levaduras API *Candida*

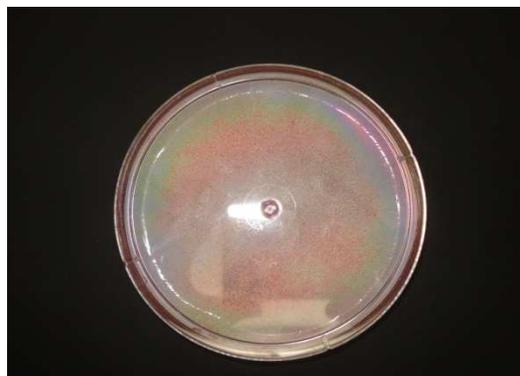
Mediante las pruebas API que son pruebas bioquímicas de identificación de especies de *Candida* fue posible confirmar los aislamientos que se habían identificado inicialmente como presuntivo en agar Saboraund . Se cultivaron un total de 118 aislamientos sospechosos, de los cuales dos fueron identificadas como *Candida albicans* y *Candida glabrata* como se aprecia en la figura N°1



FOTOGRAFIA N°1. a) *Candida albicans*, b) *Candida glabrata* IDENTIFICADAS MEDIANTE PRUEBAS BIOQUÍMICAS API, *Candida albicans* FERMENTA GALACTOSA Y SACAROSA. *Candida glabrata* NO FERMENTA ESTOS AZUCARES

### 3.1.2. PRODUCCIÓN DE BIOPELÍCULAS A PARTIR DE *Candida albicans* AISLADA

Tras el aislamiento confirmado de *C. albicans* (Fotografía N°2) se evidenció la colonización “*in vitro*” de un catéter quirúrgico mediante la observación de una biopelícula firmemente adherida a la superficie interna del tubo (Fotografía N°3)



FOTOGRAFIA N°2 COLONIAS DE *Candida albicans* EN AGAR SANGRE, CONVEXAS, CREMOSAS, LISAS, BRILLANTES CON UN DIAMETRO APROXIMADO DE 1.0 A 1.5 µM



**FOTOGRAFÍA N°3 BIOPELÍCULA DE *Candida albicans* ADHERIDO A LAS PAREDES DEL TUBO**

El crecimiento de un microorganismo oral *in situ* requiere la adhesión a una superficie debido al constante flujo de secreción del hospedero y la capacidad de las células de crecer antes. Por esto *Candida* evoluciona para formar biopelículas en las superficies de los dientes o en los tejidos epiteliales con muchas especies bacterianas (20).

En la formación de estas biopelículas intervienen factores importantes como la adhesión inicial de la levadura a los dientes y a los tejidos, la coagregación entre las células en la biopelícula, la señalización celular, su rol en la patogénesis y la transferencia de DNA y la distancia entre las células de diferentes especies que es necesaria para los procesos de comunicación (20).

Esta levadura puede formar biopelículas en el esmalte superficial (biopelícula supragingival) y/o biopelículas bajo la línea de las encías y dentro del bolsillo periodontal o del surco (biopelícula subgingival). Esta última se caracteriza por la constante presencia de agua en estado líquido, por la variación de temperatura, carbono y contenido de nitrógeno como componente basal en la saliva (20).

### 3.2. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS DENTÍFRICOS

La actividad antimicrobiana se estableció de acuerdo al promedio de los diámetros de las zonas de inhibición como se aprecia en la tabla N°5 obtenidas por el efecto de cada dentífrico frente a las cepas aisladas

**Tabla N°5. COMPORTAMIENTO DE LOS TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida albicans* PROCEDENTE DE BIOFILM**

Tipo	Promedio de halo de inhibición en mm.		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida albicans</i> de biopelícula
Convencional	13.80	11.22	14.05
Herbales	11.57	10.87	13.57
Medicados	10.72	5.41	7.73

Fuente: Mirian Muyulema

Las caries y periodontitis se han tratado mediante procedimientos clínicos con la ayuda limitada del control mecánico de biopelículas dentales. Frente a esto han surgido estudios de la actividad de agentes químicos solos o incorporados a formulaciones de enjuagues o dentífricos, porque el rol de estos productos sería intervenir en la adherencia de microorganismos a la superficie dental ya sea reduciendo la proliferación bacteriana o fúngica; o removiendo la población preexistente en las biopelículas. Actualmente se han incrementado el número de investigaciones de sustancias nuevas y naturales para evaluar su actividad antimicrobiana y el control de las biopelículas dentales (36).

Las propiedades antimicrobianas de varios tipos de dentífricos frente a *Candida* spp se estudiaron como alternativa con baja toxicidad para la prevención de enfermedades de la cavidad oral en adultos jóvenes. Los componentes activos en cada grupo de dentífricos serían los responsables de la actividad anticandida. Así en los dentífricos convencionales podrían actuar monofluoruro de sodio, fluoruro de sodio y triclosan.

En los dentífricos herbales la acción está asociada con; extractos de plantas Aloe, Menta, Manzanilla, Arrayan, Pumin, Fluoruro de sodio. Los dentífricos medicados contienen nitrato de potasio, citrato de potasio, fluoruro de sodio como componentes estrictamente relacionados con su actividad antimicrobiana (36).



**FOTOGRAFÍA N°4 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DENTÍFRICOS CLÁSICOS C3, C4 HERBALES HIFRENTE A *Candida albicans*, *Candida glabrata* Y *Candida albicans* DE BIOPELÍCULA CON LA PRESENCIA DEL CONTROL POSITIVO FLUCONAZOL 25µg (32mm)**

De entre estos se destaca la acción del triclosan como se observa en la fotografía N°4 del dentífrico C4 que es un derivado del clorofenol actúa inhibiendo el crecimiento de las bacterias anaerobias, interfiere con las enzimas requeridas para la síntesis de ácidos grasos. Estudios *in vitro* han demostrado que el triclosán inhibe la formación de prostaglandinas y leucotrienos, actúa sobre la membrana plasmática de los microorganismos y por sus características no iónicas, es bastante compatible con los abrasivos y fluoruros encontrados en los dentífricos. En bajas concentraciones, el triclosan interfiere en la absorción de los nutrientes, determinando un efecto bacteriostático. En altas concentraciones es bactericida, determinando la ruptura de la membrana, llevando a derrame de los componentes celulares y consecuentemente, a la muerte celular. Sus efectos sistémicos son prácticamente inexistentes. También presenta buena retentividad en la mucosa oral, siendo de difícil remoción por los fluidos orales (36).

Otro componente activo son los fluoruros que pueden realizar tanto funciones de prevención y de restauración, frenan el desarrollo de lesiones producidas por bacterias dañinas y ayudan a la remineralización del diente el flúor es un ión que tiene mucha afinidad por el calcio (que es el que remineraliza), La inhibición de la enzima enolasa del *Streptococo* por fluoruro, en combinación con el fosfato, puede influir en la glucólisis de estos microorganismos y de esta manera reducir la producción de ácido y regular el índice de crecimiento bacteriano, obteniendo un efecto anticariogénico (36).

El nitrato de potasio y Citrato de potasio desensibilizan la terminal nerviosa presente en la pulpa, penetrando en los túbulos dentinarios hasta el nervio, causando un bloqueo, lo que impide que el nervio envíe señales dolorosas al cerebro. Las fibras nerviosas se vuelven menos sensibles a causa del efecto estabilizador de los niveles extracelulares de potasio en la conducción neuronal eléctrica (8).

Los extractos de plantas como el Aloe vera ingrediente de algunos dentífricos ensayados tienen como principios activos el aloferon, antraquinonas y acemannan. El aloferon actúa en la multiplicación celular, acelerando la cicatrización; la antraquinona es un antiséptico. El acemannan es un mucopolisacárido con acción antiviral, antibacteriana y antimicótica, actúa sobre las células del sistema inmunológico activando y estimulando macrófagos monócitos, linfocitos y anticuerpos, todo lo anterior explica la actividad de estos dentífricos (8).

Otras plantas tales como la menta (*Menta peperita L.*) contiene principalmente en sus hojas un aceite esencial rico en mentol, mentonita y mentofurano, que posee propiedades antiespasmódica, antiinflamatoria, anti úlcera y antiviral, usado en el combate de las estomatitis, halitosis e inflamaciones bucales. La manzanilla contiene el azuleno, alfa bisabolol, ácido cafeico, ácido tánico, ácido clorogénico, umbelliferona, apigenina, herniarina, luteolina, ligeras cantidades de carotenos, vitamina C, el azuleno es el principal responsable de las propiedades antiinflamatorias aunque el mecanismo de su eficacia no se ha aclarado(8).

Pruebas *in vitro* de un extracto de Pumin y Arrayan fueron negativas, al incorporar estos compuestos en la formulación de un dentífrico natural tampoco se observó actividad pese a la presencia de lauril sulfato de sodio que han demostrado tener actividad antimicrobiana e inhibitoria de la placa microbiana (39). En general los detergentes y abrasivos pueden alterar la actividad antimicrobiana en las infecciones activas (38).

### 3.2.1. ACTIVIDAD DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida albicans*

El análisis de varianza Tabla N°6 muestra diferencias altamente significativas con un alfa de 0.05 entre la acción de dentífricos clásicos vs herbales y medicados y herbales vs medicados.

**TABLA N° 6 ANÁLISIS DE VARIANZA DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida albicans***

F. Var	gl	S. cuad	C. medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	191	11497,49				
Tratamientos	31	11013,66	355,28	117.49	152	1.81
Clas vs Her, Med	1	158,58	158,58	5244	3.90	6.80
Her vs Med	1	10759,76	10759,76	3558.17	3.90	6.80
Error	160	483,83	3.02			
CV %			14.79			
Media			11.76			

Fuente: Mirian Muyulema

Los distintos dentífricos excepto C1, C14, H2, H5, M1, M6, M7 fueron activos contra *Candida albicans* dando lugar halos de inhibición promedio de 11.76 mm con un coeficiente de variación de 14.79 %.

La prueba de Tukey al 5 % revelo que los dentífricos C1, C14, H2, H5, M1, M6, M7 no controlaron a este potencial patógeno de la cavidad bucal. En cambio el producto C4 con un halo de inhibición de 25.17 mm presentó la mejor actividad contra *Candida albicans*.

Esto se atribuye al fluoruro de sodio y al triclosan presente en su composición. Los dentífricos clásicos difieren significativamente ( $\alpha = 0.05$ ) de los herbales y medicados como se observa en la fotografía N°5 en su actividad frente a *Candida albicans* presentando halos de inhibición de alrededor de 13.80 mm frente a un promedio de 10.95 mm que correspondió a los dentífricos herbales y medicados. Los dentífricos herbales fueron más activos que los medicados con un halo de inhibición igual a 11.6 mm frente a 10.7 mm de los medicados



FOTOGRAFÍA N°5 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DENTÍFRICOS CLÁSICOS C1, C2, C3, C4, C5 FRENTE A *Candida albicans* CON HALOS DE INHIBICIÓN (0.0, 11.8, 20.6, 25.1, 11.1 mm)

### 3.2.2. ACTIVIDAD DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida glabrata*

El análisis de varianza tabla N°7 evidenció diferencias altamente significativas con un alfa de 0.05 entre los efectos de los dentífricos clásicos, herbales y medicados sobre *Candida glabrata* dando lugar halos de inhibición de 8.40 mm de diámetro con un coeficiente de variación de 9.83 %.

TABLA N° 7 ANÁLISIS DE VARIANZA DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida glabrata*

F. Var	gl	S. cuad	C. medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	191	10841.92				
Tratamientos	31	10732.92	346.22	508.22	1.52	1.81
Clas vs Her, Med	1	533.37	533.37	782.92	3.90	6.80
Her vs Med	1	57400.33	5740.33	8426.17	3.90	6.80
Error	160	109.00	0.68			
CV %			9.83			

Fuente: Mirian Muyulema

En este caso los dentífricos clásicos presentan mejor acción al formar halos de inhibición de 11.22 mm como se aprecia en la fotografía N°6; le siguen en orden los dentífricos herbales con halos de inhibición de 10.87 mm. Los dentífricos medicados presentan menor actividad con halos de inhibición de 5.41 mm. *Candida glabrata* no resulto inhibida por C1, C9, C14, H2, H5, M1, M3, M4, M6, M7, M9, M10, M11



FOTOGRAFÍA N°6 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DENTÍFRICOS CLÁSICOS C1, C2, C3, C4, C5 FRENTE A *Candida glabrata* CON HALOS DE INHIBICIÓN (0.0, 12.6, 19.6, 17.5, 10.5 mm)

### 3.2.3. ACTIVIDAD DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida albicans* DE BIOPELÍCULA

El análisis de varianza muestra diferencias altamente significativas en la actividad anticandida de los distintos tipos de dentífricos (Clásicos, herbales y medicados) sobre *Candida albicans* de biopelícula.

TABLA N° 8 ANÁLISIS DE VARIANZA DE TRES TIPOS DE DENTÍFRICOS FRENTE A *Candida albicans* de biopelícula

F. Var	gl	S. cuad	C. medio	Fisher		
				Cal	0.05	0.01
Total	191	10302.67				
Tratamientos	31	10077.00	325.06	230.47	1.52	1.81
Clas vs Her, Med	1	969.23	969.23	687.19	3.90	6.80
Her vs Med	1	9827.58	9827.58	6967.86	3.90	6.80
Error	160	225.67	1.41			
Cv%			10.48			

Fuente: Mirian Muyulema

Todos los dentífricos ensayados promovieron la formación de halos de inhibición medio igual a 11.33 mm con un coeficiente de variación de 10.4 %.

Tukey al 5 % indicó que el orden de actividad decreciente entre los dentífricos clásicos, herbales y medicados (halos de inhibición de 14.1, 16.57 y 7.73 mm ).

C1, H5, M1, M2, M3, M6, M7, M10 no inhibieron a *Candida albicans* de biopelícula.

Los distintos tipos de dentífricos fueron analizados en su actividad anticandida en base al diámetro en mm del halo de inhibición. A mayor diámetro mejor actividad como se puede apreciar en la fotografía N°7; así los dentífricos clásicos fueron los mejores para controlar *Candida* de biopelícula.



**FOTOGRAFÍA N°7 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE DENTÍFRICOS CLÁSICOS C1, C2, C3, C4, C5 FRENTE A *Candida albicans* DE BIOPELÍCULA CON HALOS DE INHIBICIÓN (0.0, 16.0, 19.6, 22.5, 12.5 mm)**

### 3.3 ANÁLISIS DE LOS DENTÍFRICOS DE ACUERDO A NTE INEN 1602

De acuerdo a la tabla N°9 podemos observar los dentífricos que cumplen con la norma técnica ecuatoriana a INEN 1602

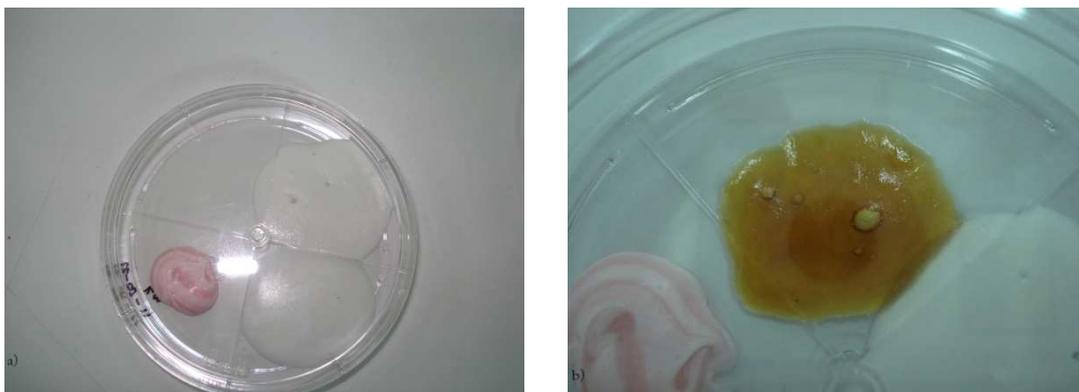
**TABLA N° 9. DENTÍFRICOS QUE CUMPLEN ALGUNOS REQUISITOS DE LA NTE INEN 1602.**

Código	Tipo	Estabilidad Química	Estabilidad Microbiológica	Extrusión del tubo	Apariencia	pH	Error relativo
Ac	Convencional	C	NC	C	C	C	0,0047
Bc	Convencional	C	NC	C	C	C	0,0069
Cc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0029
Dc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0026
Ec	Convencional	C	C	C	C	C	0,0053
Fc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0037
Gc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0051
Hc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0022
Ic	Convencional	C	C	C	C	C	0,0051
Je	Convencional	C	C	C	C	C	0,0027
Kc	Convencional	C	NC	C	C	C	0,0041
Lc	Convencional	C	NC	C	C	C	0,0032
Mc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0058
Nc	Convencional	C	C	C	C	C	0,0056
Ah	Herbales	C	NC	C	C	C	0,0068
Bh	Herbales	C	NC	C	C	C	0,0036
Ch	Herbales	NC	NC	C	C	C	0,0038
Dh	Herbales	C	C	C	C	C	0,0052
Eh	Herbales	C	NC	C	C	C	0,017
Am	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0025
Bm	Medicadas	C	C	C	C	C	0,0012
Cm	Medicadas	NC	C	C	C	C	0,0034
Dm	Medicadas	C	C	C	C	C	0,014
Em	Medicadas	NC	NC	C	C	C	0,0084
Fm	Medicadas	NC	NC	C	C	C	0,0025
Gm	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0069
Hm	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0089
Im	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0062
Jm	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0036
Km	Medicadas	C	NC	C	C	C	0,0013
Lm	Medicadas	C	C	C	C	C	0,0041
Mm	Medicadas	NC	NC	C	C	C	0,004

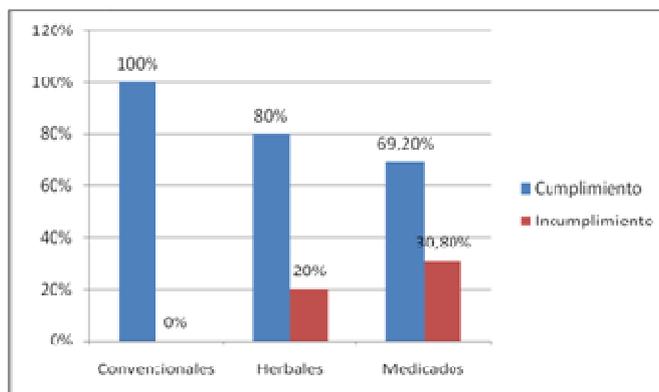
C, Cumple con especificaciones de la NTE

NC, No cumple con las especificaciones de la NTE

En la fotografía N°8 podemos observar la presencia de burbujas, cambio de consistencia debido al desarrollo de microorganismos durante el ensayo microbiológico



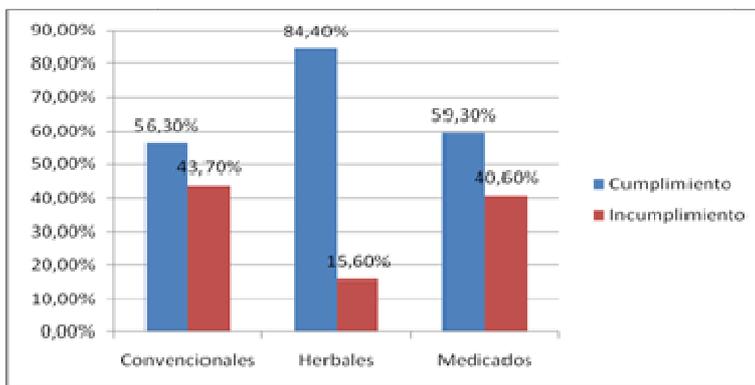
**FOTOGRAFÍA N°8 DENTÍFRICOS M11(a) Y H5(b) QUE INCUMPLEN CON LA ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA NTE INEN 1602 AL MOSTRAR LA PRESENCIA DE BURBUJAS DURANTE EL ENSAYO.**



**GRAFICO N°1 FRECUENCIA DE LA ESTABILIDAD QUÍMICA DE DENTÍFRICOS SEGÚN LA NTE INEN 1602**

De acuerdo al gráfico N° 1 los dentífricos convencionales tuvieron una alta frecuencia en el cumplimiento de los requisitos de estabilidad química al no presentar separación de fases, burbujas, espuma, cambio de coloración y consistencia (40).

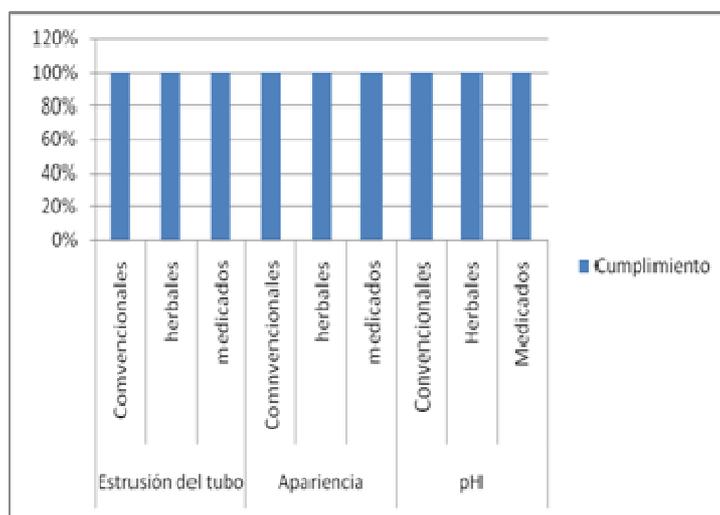
Para los dentífricos medicados la frecuencia de cumplimiento fue menor , en cambio los dentífricos herbales tuvieron el menor nivel de cumplimiento 20% explicandose esto por la incorporación de productos naturales y medicados como agentes activos (40).



**GRÁFICA Nº 2 FRECUENCIA DE LA ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE DENTÍFRICOS SEGÚN LA NTE INEN 1602**

En cuanto a la estabilidad microbiológica según la gráfica N°2 el grupo de mayor incumplimiento fue el de los dentífricos herbales, seguidos por los medicados, el menor nivel de incumplimiento presentó los convencionales (40).

La falta de estabilidad microbiológica se evidenció por la separación de fases y formación de abundante burbujas que alteraron la consistencia del producto. Esto se atribuye al desarrollo de microorganismos contaminantes, que en el caso de los herbales provendrían de los productos naturales, otras fuentes de contaminación podrían ser maquinas, equipos, operarios durante el proceso de fabricación, sugiriendo que la presencia de microorganismos afecta la estabilidad química de las formulaciones (40).



**GRÁFICA Nº 3 FRECUENCIA DE CUMPLIMIENTO DE REQUISITOS DE DENTÍFRICOS.**

Los resultados de la extrusión del tubo, apariencia y el pH que se aprecian en la gráfica N°3 presentaron conformidad con los requisitos de la normativa de calidad de NTE INEN 1602, en caso de inconformidad se vería afectada la aceptabilidad del producto con fines de uso o comercialización (40).

Un análisis de este tipo es de gran importancia ya que se relaciona directamente con la salud bucal. Algunos fabricantes afirman y promocionan las propiedades benéficas de ciertos productos debido a la incorporación de sustancias naturales, extractos de plantas y otros ingredientes clásicos (40).

Sin embargo dentífricos de este tipo destinados a “matar gérmenes” causantes del mal aliento o reducción de la gingivitis pueden provocar la inestabilidad química del producto afectando su calidad (40).

De otro lado estudios “*in vitro*” e “*in vivo*” han evidenciado efectos secundarios en la cavidad oral tales como entumecimiento de la lengua y aumento del sangrado por el empleo de jengibre y equinacea en las formulaciones (40).

Lo anterior indica que es necesario que el odontólogo, otros profesionales de la salud y el público en general dispongan de información adecuada que permita un uso eficaz y seguro de los dentífricos que se encuentran en el mercado (40).

## CAPITULO IV

### 4. CONCLUSIONES

1. Cepas patógenas de *Candida* circulan en la cavidad bucal de individuos jóvenes del centro del país, pudiendo estar expuestos a caries, enfermedad periodontal y en casos extremos a infecciones sistémicas.
2. Los aislamientos de *Candida* spp. obtenidos de cultivos de levaduras de la cavidad oral permitieron identificar a dos especies: *Candida albicans* y *Candida glabrata*.
3. Dentífricos con formulaciones clásicos, herbales y medicados difieren significativamente en su actividad frente a *Candida* planctónica y de biopelículas y *Candida glabrata*.

La actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida albicans* procedente de biopelícula en orden creciente corresponde a dentífricos medicados, herbales y clásicos. Los dentífricos (C1, H5, M1 M6) no fueron activos frente a ningún microorganismo ensayado.

La actividad antimicrobiana de un dentífrico garantiza al consumidor su efectividad para coadyuvar al mantenimiento de la salud

4. Todos los dentífricos analizados respecto a los requisitos de la norma técnica ecuatoriana 1602 cumplen las especificaciones de extrusión del tubo, apariencia y pH. Los dentífricos convencionales cumplen con la estabilidad química y con una frecuencia del 56% con la estabilidad microbiológica evidenciando mejor calidad en el proceso de fabricación. Los dentífricos herbales y medicados se ajustan en menor medida a esta normativa.

## CAPÍTULO V

### 5. RECOMENDACIONES

1. Los dentífricos herbales son elaborados con la incorporación de extractos naturales de plantas por lo que se sugiere realizar investigaciones fitoquímicas sobre valoración del componente activo y farmacológico sobre posibles efectos adversos, interacciones y contraindicaciones.
2. Desarrollar estudios de prevalencia de *Candida* oral
3. Estudiar métodos para el control de *Candida* spp como patógeno de la cavidad oral.

## CAPÍTULO VI

### 6. RESUMEN

La Candidiasis oral es una infección oportunista común en individuos saludables e inmunodeficientes. Los dentífricos pueden contener agentes inhibitorios para la colonización *in vitro* y la formación de la placa por *Candida* spp. Frente a estos se plantean los objetivos de estudio, Evaluar la actividad antimicrobiana de tres tipos de dentífricos sobre aislamientos orales de *Candida* spp realizado en los laboratorios de microbiología y bromatología de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El presente estudio investigativo se realizó mediante el método Inductivo-Deductivo se utilizó como material biológico Cepas de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. albicans* de biopelícula además de 32 tubos de dentífricos clasificados en base a su fórmula en Convencionales, herbales y medicados, placas y tubos de agra Saboraand.

Los dentífricos convencionales a base de triclosan inhiben mejor ( $\alpha=0.05$ ) a las tres especies de *Candida*, los herbales fueron más efectivos que los medicados. Las formulaciones C1, H5, M1, M6 con fluoruro de sodio no mostraron actividad. Adicionalmente se determinó la frecuencia de cumplimiento de los dentífricos respecto a la NTE INEN 1602. Se encontró que los requisitos de extrusión del tubo, apariencia y pH cumplieron todos los dentífricos. Los dentífricos convencionales herbales y medicados presentaron incumplimiento en 20-30% respectivamente

Se evidenció que el triclosan, extractos herbales y fluoruros actúan sobre *Candida* spp controlando su potencial efecto cariogénico.

Se recomienda investigaciones fitoquímicas sobre valoración de componentes activos y farmacológicos sobre posibles efectos adversos.

## CAPÍTULO VII

### 7. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **BURNETT, G.**, y otros., Manual de microbiología y enfermedades infecciosas de la boca., Guatemala-México., 1998., 547 p.
- 2.- **CACERES, A.**, Plantas de uso medicinal en Guatemala., México-México., 1999., Pp. 108-111
- 3.- **DARR, A.**, Tecnología farmacéutica., 4a ed., Madrid-España., 2004., Pp. 137-144, 203, 109-110
- 4.- **GOMOZA, C.**, y otros., Manual práctico de microbiología., 3a ed., Madrid-España., 2005., Pp. 55-69, 117-119
- 5.- **LINDHE, J.**, Periodontología clínica e implantología odontológica., 4a ed., Buenos Aires-Argentina., 2005., Pp. 1276-1279.
- 6.- **AGUIRRE, U.**, Candidiasis orales., Washington-Estados Unidos de América., 2002., Vol. 19 No. 2., Pp. 17-21
- 7.- **ANDREW, J.**, Exposure of Sink Drain Microcosms to Triclosan Population Dynamics and Antimicrobial Susceptibility., Caracas-Venezuela., 2003., Vol. 60 No 11., Pp. 5433-5442.
- 8.- **BARRETO, L.**, Acción antimicrobiana in vitro de dentífricos conteniendo fitoterápicos. Odontoestomatol Brasilia-Brasil., 2005., Vol. 21 No.4., Pp.195-201

- 9.- **CAROLINE, V.**, Streptococcus gordonii Modulates Candida albicans Biofilm Formation through Intergeneric Communication., Eashington-Estados Unidos de America., 2009., Vol.77 No 2., Pp. 3696-3704
- 10.- **CAVALCA, S.**, y otros., Correlation between Candida spp.and DMFT index in a rural population Brazilian., Brasilia-Brasil., 2006., Vol.5 No.7., Pp.1007-1011
- 11.- **CIANSO,S.**, Improving oral health: current considerations., 2a ed., Washington-Estados Unidos de America., 2003., Vol.5 No 16., Pp.4–6.
- 12.- **DOMENICK, T.**, Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies., 4a ed., Washington-Estados Unidos de America., 2006., Vol.10 No 8., Pp.186-172
- 13.- **DONGARI, A.**, y otros., Characterization of mucosal Candida albicans biofilms., 9a ed., Washington-Estados Unidos de America., 2009., Vol.4 No.13., 7967p.
- 14.- **FERNANDES, L.**, Dentíficos Odontología preventiva y social., 5a ed., Lima-Peru., 1997., Vol.1 No. 5., Pp.179-90
- 15.- **FICA, A.**, Aspectos Básicos sobre Antimicrobianos., Saragoza-España., 2005., Año 5, Vol.5 No. 2., Pp.145-152
- 16.- **GARCÍA, S.**, Nueva clasificación de la Enfermedad Periodontal., Eashington-Estados Unidos de America., 2003., Vol.11 No. 10., Pp.48-50
- 17.- **GEBARA, E.**, Estudio in vitro de acción antimicrobiana de sustancias na sobre S. mutans., 2a ed., Sao Paulo-Brasil., 2007., Vol.10 No. 11., Pp. 251-456

- 18.- JABRA, R.,** Cell surface hydrophobicity associated adherente of *Candida dubliniensis* to human bucal epithelial cells., Washington-Estados Unidos de America., 2005., Vol.11 No.2., Pp.77-22.
- 19.- KAMAL, A.,** y otros., Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extractos de frutas de *Terminalia chebula* contra la caries dental patógenos., Nueva Delhi-India., 2009., Vol.3 No. 21., Pp.105-111
- 20.- KOLENBRANDER, P.,** y otros., Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance., 6a ed., Madrid-España., 2010., Vol.8 No. 34., 471p.
- 21.- MATOS, F.,** Farmacias vivas Fortaleza., 7a ed., Brasilia-Brasil., 1998., Vol.1 No.19., Pp.5-7
- 22.- MERLINO, J.,** y otros., Chromogenic Tube Test for Presumptive Identification or Confirmation of Isolates as *Candida albicans.*, 4a ed., Buenos Aires-Argentina., 1998., Vol.4 No. 15., Pp.157- 1159
- 23.- MOLLOY, S.,** Biofilm matrix regulation by *Candida albicans.*, Washington-Estados Unidos de America., 2009., Vol.7 No 31., 133p.
- 24.- MORAN, J.,** y otros., A study to assess the plaque inhibitory action of a newly formulated triclosan toothpaste., 15a ed., Moscu-España., 2001., Vol.28., Pp.86–89.
- 25.- NEIRA , A.,** Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Psidium guaja* L. frente al *Streptococcus mutans.*, Bogotá-Colombia., 2003., Vol.4 No Pp.51-60
- 26.- NICKOLSON, M.,** Opciones de pasta de dientes Farmacia., Quito-Ecuador., 2007., Vol.1., 29p.

- 27.- NEWMAN, M.,** Periodontología clínica., 9a ed., Mexico-Mexico., 2004., Vol.6 No. 2., Pp. 152-165
- 28.- OLIS, P.,** y otros., Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos., Cali-Colombia., 2005., Vol.42 No.17., 132p.
- 29.- OZAKI, F.,** Efficacy of a herbal toothpaste on patients with established gingivitis a randomized controlled trial., 5a ed., Brasilia-Brasil., 2006., Vol.2 No.23., Pp.172-177.
- 30.- PAUL,E.,** y otros., Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance., Washington-Estados Unidos de America., 2010., Vol.8 No.6., Pp.471-480
- 31.- PEREIRA, T.,** Development of Candida-associated denture stomatitis new insights., 5a ed., Panamá-Panamá., 2008., Vol.16 No. 15., 1590p.
- 32.- PREZA, D.,** y otros., Diversity and site specificity of the oral microflora in the elderly., Washigton-Estados Unidos de America., 2009., Vol.8 No.4., 743p.
- 33.- SEAN, S.,** Potencial antimicrobiano de 14 dentífricos herbales., 9a ed., Washington-Estados Unidos de America., 2004., Vol.135 No.45., Pp.1133-1141
- 34.- SILVEIRA, E.,** Ajuda que vem do verde. Guía practico de plantas medicini Brasilia-Brasil., 1999., Vol.12 No. 3., Pp.9-13
- 35.- STOODLEY, P.,** Biofilms as complex differentiated communities., Washington-estados Unidos de America., 2002., Vol.56 No.1., Pp.187–209

- 36.- WENDY, A.,** y otros., Efectividad clínica de un dentífrico con triclosán y citrato de zinc., 2a ed., Madrid-España., 2002., Vol.10 No.3., Pp.166-171
- 37.- XIMENEZ, L.,** Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis., Washington-Estados Unidos de America., 2000., Vol.9 No.7., Pp.648-657
- 38.- YIGIT, N.,** y otros., Antifungal activity of toothpastes against oral Candida isolates., Madrid-España., 2008., Vol. 18 No.1., Pp.141-146
- 39.- ZERÓN, A.,** Nueva clasificación de las Enfermedades periodontales., 4a ed., Washington-Estados Unidos de America., 2001., Vol.1., Pp.16-20
- 40.- PROAÑO, D.,** y otros., Agentes tensioactivos pastas dentales requisitos., Norma técnica Ecuatoriana INEN 1602., 1987., Pp. 1-5

## CAPITULO VIII

### ANEXOS

#### ANEXO Nº 1. LISTA DEL PERFIL NUMÉRICO DE API ® *Candida*

Código	Especie	Código	Especie
0403	<i>Trichosporon</i> spp2	7341	<i>Criptococcus neoformans 1</i>
0412	<i>Trichosporon</i> spp2	7351	<i>Criptococcus neoformans 1</i>
0413	<i>Trichosporon</i> spp2	7413	<i>C. neoformans/ Trichosporon</i> spp 2
0417	<i>Trichosporon</i> spp2	7417	<i>C. neoformans/ Trichosporon</i> spp 2
1000	<i>Candida krusei</i>	7420	<i>Candida lusitaniae / Candidaguillermondii</i>
1010	<i>Candida krusei</i>	7441	<i>C. neoformans1/C.noeformans2</i>
1100	<i>Candida glabrata</i>	7453	<i>Trichosporon</i> spp 1
1300	<i>Candida glabrata</i>	7457	<i>Trichosporon</i> spp 1
1402	<i>Trichosporon</i> spp2	7500	<i>Andida lusitaniae</i>
1412	<i>Trichosporon</i> spp2	7510	<i>Candida tropicalis</i>
1413	<i>Trichosporon</i> spp2	7512	<i>Candida albicans</i>
1416	<i>Trichosporon</i> spp2	7513	<i>Trichosporon</i> spp1
1417	<i>Trichosporon</i> spp2	7520	<i>Candida lusitaniae</i>
1443	<i>Trichosporon</i> spp2	7530	<i>Candida tropicalis</i>
1453	<i>Trichosporon</i> spp2	7553	<i>Trichosporon</i> spp1
2403	<i>Trichosporon</i> spp2	7557	<i>Trichosporon</i> spp1
2412	<i>Trichosporon</i> spp2	3641	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
2413	<i>Trichosporon</i> spp2	3651	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
2417	<i>Trichosporon</i> spp2	3653	<i>Trichosporon</i> spp 1/C. <i>neoformans1</i>
3000	<i>Geotrichum</i> spp	5000	<i>Candida famata/C. parapsilosis</i>
3001	<i>Criptococcus neoformans 2</i>	5100	<i>Candida famata</i>
3003	<i>C. neoformans / Trichosporon</i> spp2	5104	<i>Candida famat</i>
3020	<i>Geotrichum</i> spp	5200	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
3041	<i>Criptococcus neoformans 2</i>	5241	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
3043	<i>Criptococcus neoformans 2</i>	5243	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
3051	<i>Criptococcus neoformans 2</i>	5251	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
3053	<i>Criptococcus neoformans 2</i>	5253	<i>C. neoformans1/Trichosporon</i> spp1
3100	<i>Candida famata</i>	5300	<i>Saccharomyces cerevisiae/C. famata</i>
3241	<i>C. neoformans 1 / C. neoformans</i> 2	5641	<i>Cryptococcus neoformans1</i>
3251	<i>Criptococcus neoformans 1</i>	5651	<i>Cryptococcus neoformans1</i>

3402	<i>Trichosporon</i> spp2	5653	<i>Trichosporon</i> spp1/ <i>C. noeformans</i>
3403	<i>Trichosporon</i> spp2	7000	<i>Candida parapsilosis</i>
3407	<i>Trichosporon</i> spp2	7001	<i>Cryptococcus neoformans</i> 2
3412	<i>Trichosporon</i> spp2	7002	<i>Candida albicans</i>
3413	<i>Trichosporon</i> spp2	7003	<i>Cryptococcus neoformans</i> 2
3416	<i>Trichosporon</i> spp2	7012	<i>Candida albicans</i>
3417	<i>Trichosporon</i> spp2	7041	<i>C. noeformans</i> 1/ <i>C. noeformans</i> 2
3443	<i>Trichosporon</i> spp2 / <i>C. noeformans</i> 2	7600	<i>Candida guilliermondi</i>
3453	<i>Trichosporon</i> spp2	7603	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp1
7043	<i>Cryptococcus neoformans</i> 2	7611	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp1
7051	<i>C. noeformans</i> 2/ <i>C. noeformans</i> 1	7613	<i>Trichosporon</i> spp1
7053	<i>C. noeformans</i> 2 / <i>Trichosporon</i> spp 1	7617	<i>Trichosporon</i> spp1
7100	<i>Candida famata</i>	7620	<i>Candida guilliermondi</i>
7102	<i>Candida albicans</i>	7641	<i>Cryptococcus neoformans</i> 1
7104	<i>Candida famata</i>	7643	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp 1
7110	<i>Candida tropicalis</i> / <i>Candida albicans</i>	7647	<i>Trichosporon</i> spp1
7112	<i>Candida albicans</i>	7651	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp1
7120	<i>Candida lusitaniae</i> / <i>C. famata</i> / <i>C. guilliermondii</i>	7652	<i>Trichosporon</i> spp1
7200	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7653	<i>Trichosporon</i> spp1/ <i>C. noeformans</i> 1
7204	<i>Candida kefyr</i>	7657	<i>Trichosporon</i> spp1
7213	<i>Trichosporon</i> spp 1/ <i>C. noeformans</i> 1	7671	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp1
7220	<i>Candida guilliermondi</i>	7700	<i>Candida guilliermondi</i>
7224	<i>Candida kefyr</i>	7717	<i>Trichosporon</i> spp1
7241	<i>Cryptococcus neoformans</i> 1	7720	<i>Candida guilliermondi</i>
7243	<i>C. noeformans</i> 1/ <i>C. noeformans</i> 2	7741	<i>Cryptococcus neoformans</i> 1
7251	<i>C. noeformans</i> 1	7751	<i>C. noeformans</i> 1/ <i>Trichosporon</i> spp1
7253	<i>C. noeformans</i> / <i>Trichosporon</i> spp1	7753	<i>Trichosporon</i> spp1
7300	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7757	<i>Trichosporon</i> spp1
7310	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7320	<i>Candida guilliermondi</i>
7312	<i>Candida albicans</i>	7324	<i>Candida kefyr</i>

## ANEXO N°2. NORMA TÉCNICA 1602

52

**INEN**

CDU: 666.583.4 QU 08.01-417

<b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</b>	<b>AGENTES TENSOACTIVOS. PASTA DENTAL. REQUISITOS</b>	<b>INEN 1 602</b> 1987-10
--	---	------------------------------

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3995 – Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

**1. OBJETO**

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la pasta dental (fluorada y no fluorada) destinada para su empleo, con el cepillo, en la limpieza de los dientes.

**2. ALCANCE**

2.1 La pasta dental es un dentífrico en forma de pasta, cuyo fin principal es coadyuvar a la limpieza mecánica de los dientes, y consiste en una suspensión de sustancias abrasivas en una solución acuosa de glicerina o sorbitol, o glicerina y sorbitol, agentes activos, preservativos, posiblemente principios activos, así como también otros agentes auxiliares.

**3. DEFINICIONES**

3.1 **Dentífrico.** Producto en forma de polvo, pasta o líquido, utilizado para la limpieza de los dientes o para mantener la higiene bucal, cuidado de las encías y prevención de las caries dentales.

3.2 **Pasta dental higiénica.** Dentífrico cuya función es la de mantener la higiene bucal.

3.3 **Pasta dental profiláctica.** Dentífrico que posee la doble función de mantener la higiene bucal y, al mismo tiempo, prevenir el desarrollo de las caries dentales.

3.4 **Pasta dental medicada.** Dentífrico que posee efectos terapéuticos.

**4. CLASIFICACION**

4.1 La pasta dental se clasifica de acuerdo con su acción en:

- 4.1.1 Higiénica
- 4.1.2 Profiláctica
- 4.1.3 Medicada

(Continúa)

-1- 1987-087

53

### 5. REQUISITOS

5.1 La pasta dental debe ser del tipo fluorado o no fluorado, es decir, a elección del comprador.

5.2 Los colorantes utilizados deben ser aquellos aceptados por la autoridad de salud.

5.3 La pasta dental no debe contener mono ó disacáridos, u otros carbohidratos fácilmente fermentables.

5.4 Los ingredientes que estén detallados en el formulario legal vigente, deben ser de la pureza establecida en aquella publicación; todos los ingredientes deben ser de una calidad apropiada para el uso a que se los destinan, y dar cumplimiento con los requisitos legales de aplicación.

5.5 La pasta dental debe estar libre de grumos y de partículas que sean palpables en la boca como unidades separadas.

5.6 La pasta dental no debe contener cualquier sustancia que pueda ser dañina si fuese ingerida durante el cepillado, y no debe causar una reacción tóxica o irritante cuando sea usada en la cavidad bucal, o ser perjudicial en cualquier otro modo.

#### 5.7 Estabilidad química

5.7.1 El envase con la pasta dental, sometido durante 72 h a 45°C, luego de 25°C no debe presentar alteraciones visibles, como: separación de fases, burbujas, espuma, cambios de coloración y consistencia.

#### 5.8 Estabilidad microbiológica

5.8.1 El envase con la pasta dental, sometido durante 12 días a 32°C y luego a 25°C, no debe presentar alteraciones visibles, como: separación de fases, burbujas, espuma, cambio de coloración y consistencia.

5.9 **Extrusión del tubo.** El contenido de pasta dental debe salir del tubo en una masa continua, inclusive a la temperatura de 10°C sin la aplicación de fuerza excesiva.

5.10 **Apariencia.** La pasta dental debe fluir del tubo en forma homogénea y mantener la forma dada de la boquilla sin presentar separación de fases, burbujas de aire y grumos en observación visual.

5.11 La pasta dental no debe contener metales en cantidades que pueden causar daño a la salud de los consumidores.

5.12 La pasta dental debe cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1.

(Continua)

24  
**TABLA 1. Requisitos de la pasta dental**

REQUISITOS	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Densidad	g/cm <sup>3</sup>	1,2	1,7	INEN 1 595
pH a 23°C	----	4,5	10,5	INEN 1 596
Consistencia	mm	20	80	INEN 1 597
Contenido total de humectantes	% (m/m)	--	70	INEN 1 598
Abrasión (ciclos)		100	----	INEN 1 599
Contenido de plomo	µg/g	--	5	INEN 1601

**6. INSPECCION**

- 6.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con lo indicado en la Norma INEN 815.
- 6.2 En la muestra extraída se efectuarán los ensayos indicados en el numeral 5.12 de esta norma.
- 6.3 Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en el numeral 5.12 de esta norma, se extraerá una nueva muestra y se repetirán los ensayos.
- 6.4 Si algunos de los ensayos repetidos no cumplieren con los requisitos establecidos, se rechazará el lote correspondiente.

**7. ENVASADO Y ETIQUETADO**

- 7.1 La pasta dental debe envasarse en tubos colapsibles u otros envases de material adecuado, herméticamente cerrado, que garanticen las características del producto en condiciones normales de almacenamiento.
- 7.2 Cada tubo colapsible o envase debe presentar una inscripción perfectamente legible que incluya la siguiente información:
- a) razón social del fabricante y marca comercial,
  - b) denominación del producto "Pasta dental higiénica, profiláctica o medicada",
  - c) agente profiláctico (si lo contiene),
  - d) contenido neto, en cm<sup>3</sup>,
  - e) norma INEN de referencia,
  - f) número del Registro Sanitario,
  - g) dirección del fabricante, ciudad y país,
  - h) las demás especificaciones exigidas por Ley.

(Continua)

55

7.4 El tubo colapsible o el envase no debe presentar leyendas de significado ambiguo ni descripción de características del producto que no puedan ser debidamente comprobadas.

7.5 La comercialización de este producto cumplirá con lo dispuesto en las regulaciones y resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

(Continua)

56 1

**APENDICE Z**

**Z.1 NORMAS A CONSULTAR**

INEN 815	<i>Agentes tensoactivos. Muestreo.</i>
INEN 1 595	<i>Pasta dental. Determinación de la densidad</i>
INEN 1 596	<i>Pasta dental. Determinación del pH</i>
INEN 1 597	<i>Pasta dental. Determinación de la consistencia.</i>
INEN 1 598	<i>Pasta dental. Determinación del contenido total de humectantes.</i>
INEN 1 599	<i>Pasta dental. Determinación de la abrasión</i>
INEN 1 601	<i>Pasta dental. Determinación de metales pesados.</i>

**Z.2 BASES DE ESTUDIO**

Norma Británica BS 5136 *Specification for Toothpastes*. British Standards Institution. Londres, 1981.

Norma Cubana NC 95-04 *Perfumería y Cosméticos. Cremas dentales*. Especificaciones generales de calidad. Comité Estatal de Normalización, Habana, 1982.

Norma Sudafricana SABS 1302 *Norma estándar para pasta dentífrica*. South African Bureau of Standards. Pretoria, 1980.

Norma Argentina IRAM 25 578 *Pasta Dentífrica*. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales. Buenos Aires, 1978.

Norma IS 6356 *Specification for Tooth paste*. Indian Standards Institution, New Delhi, 1975.

### **ANEXO N° 3 CONSENTIMIENTO INFORMADO**

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TOMA DE MUESTRAS ORALES

Nombre:

En forma voluntaria y sin ninguna presión o inducción consiento la toma de muestra de la cavidad oral, consiento en que el espécimen será usado para probar el efecto de distintas formulaciones de dentífricos sobre especies de levaduras aisladas de la microbiota oral.

Entiendo el procedimiento para la toma de muestra. Entiendo que puedo terminar mi participación en cualquier momento o puedo ser excluido(a)

En tales circunstancias consiento donar una o más muestras orales para contribuir a estudios de actividad antimicrobiana.

Firma

Cedula I

Cuidad y fecha

**ANEXO N°4. BASE DE DATOS DE DE REQUISITOS DE NTE INEN 1602**

Codigo	Nombre	Tipo	Estabilidad Quin			Estabilidad Micr			Extrucción del t			Apariencia			Determinación c			promedio	Error relativo			
			1ra	2da	3ra	1ra	2da	3ra	1ra	2da	3ra	1ra	2da	3ra	1ra	2da	3ra					
Ac	Aquafresh triple acción	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,43	6,38	6,4	6,4	0,0047
Bc	Koly nos	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,2	7,11	7,15	7,15	0,0069
Cc	Gel dental Megamaxi	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,72	6,69	6,71	6,7	0,0029
Dc	Fortident 4 acción	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,53	7,52	7,5	7,51	0,0026
Ec	Cogate 3 acción	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,49	7,45	7,52	7,48	0,0053
Fc	Blendas gel Dental	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,06	8,01	8,05	8,04	0,0037
Gc	Colgate Max White	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,86	7,79	7,82	7,82	0,0051
Hc	Aquafresh extra fresh	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,88	8,86	8,88	8,87	0,0022
Ic	Colgate max fresh cristales refrescantes	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,87	7,82	7,81	7,83	0,0051
Jc	Colgate max fresh noche	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,25	7,27	7,29	7,27	0,0027
Kc	Colgate maxima protección anticaries	Convencio	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,3	7,25	7,26	7,27	0,0041
Lc	Aquafresh ultimate white	Convencio	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,15	9,1	9,13	9,12	0,0032
Mc	Aquafresh white shine	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,58	8,49	8,51	8,52	0,0058
Nc	Aquafresh extrem clean	Convencio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,92	7,96	8,01	7,96	0,0056
Ah	Colgate total 12 clean mint	Herbales	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,1	8,08	8,02	8,06	0,0068
Bh	Blendas menta+ aloe	Herbales	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,83	6,82	6,79	6,81	0,0036
Ch	Blendas menta+ manzanilla	Herbales	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,46	6,42	6,45	6,44	0,0038
Dh	Colgate total 12 clean profesional	Herbales	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,58	7,57	7,52	7,55	0,0052
Eh	ESPOCH	Herbales	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,8	4,95	4,9	4,88	0,017
Am	Encident	Medicada:	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,85	7,82	7,81	7,82	0,0025
Bm	Dentident	Medicada:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,73	7,72	7,71	7,72	0,0012
Cm	Colgate sensitive original	Medicada:	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,23	7,22	7,19	7,21	0,0034
Dm	Sensodyne protección total	Medicada:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,61	6,51	6,69	6,6	0,014
Em	Gingivit	Medicada:	+++	+++	+++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,01	7,09	7,11	7,07	0,0084
Fm	Sensodyne original	Medicada:	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,95	7,92	7,94	7,93	0,0025
Gm	sensodyne cool gel	Medicada:	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,15	7,21	7,11	7,15	0,0069
Hm	Sensodyne blanqueador antisarro	Medicada:	-	-	-	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,84	8,94	8,98	8,92	0,0089
Im	Sensodyne blanqueador Extra fresh	Medicada:	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,49	9,59	9,57	9,55	0,0062
Jm	Colgate sensitive blanqueadora	Medicada:	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,16	8,11	8,15	8,14	0,0036
Km	Colgate sensitive multiprotección	Medicada:	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,66	7,68	7,66	7,66	0,0013
Lm	Soral F	Medicada:	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,28	7,23	7,27	7,26	0,0041
Mm	Odonto smokers	Medicada:	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,59	8,54	8,59	8,57	0,004

## ANEXO N°5. LISTA DE INGREDIENTES DE DENTÍFRICOS

### TABLAN°1 Lista de dentífricos con sus respectivos ingredientes

<b>Código</b>	<b>CONVENCIONALES</b>
<b>C1</b>	<b>Aquafresh triple protección</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio Agua, sorbitol, silica, glicerina, lauril sulfato de sodio, aroma, goma xanthan, dióxido de titanio, sacarina sódica, carragenan, hidróxido de
<b>C2</b>	<b>Kolynos</b>  Ingrediente activo. Monofluorofosfato de sodio, Fluoruro de sodio Fosfato di cálcico, agua, glicerina, lauril sulfato de sodio, sabor, goma de celulosa, monofluorofosfato de sodio, pirofosfato de tetrasodio, sacarina sódica, fluoruro de sodio y monofluorofosfato de sodio.
<b>C3</b>	<b>Gel dental (megamaxi)</b>  Ingredientes activos. Fluoruro de sodio, triclosan Sorbitol, agua, silica hidratada, sodio lauril sulfato, fosfato dicalcico, aroma, sacarina, sorbato de potasio, carragenato, agua purificada
<b>C4</b>	<b>Fortident 4 acción</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, triclosan Sorbitol, silica hidratada, agua, cocamidopropyl, lauril sulfato de sodio, aroma, goma celulosa pirofosfato tetrasodico, fluoruro de sodio, sacarina sódica, dióxido de titanio, metilparabeno
<b>C5</b>	<b>Colgate triple acción</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio Sorbitol, agua, silica hidratada, lauril sulfato de sodio, sabor, carragenina, pirofosfato de tetrasodio, fluoruro de sodio. Sacarina sódica, dióxido de titanio, pigmento verde, azul
<b>C6</b>	<b>Blendas gel dental</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio Sorbitol, agua purificada, silica, pirofosfato, lauril sulfato de sodio, sacarina, aroma, carragenato.
<b>C7</b>	<b>Colgate max White</b>  Ingrediente activo: Fluoruro de sodio Sorbitol, agua, silica hidratada, lauril sulfato de sodio, cocamidopropil betaina, sabor, goma de celulosa, pirofosfato tetrasodio, fluoruro de sodio, sacarina sódica, hidroxipropil, metilcelulosa, pigmento azul, verde

---

---

<b>C8</b>	<b>Aquafresh extra fresh</b>  Ingrediente activo. Monofluorofosfato de sodio Carbonato de calcio, carragenan, carboximetilcelulosa sódica, glicerina, silica hidratada, benzoato de sodio, bicarbonato de sodio, lauril sulfato de sodio, sacarina sódica, sorbitol, dióxido de titanio.
<b>C9</b>	<b>Colgate max fresh cristales refrescantes</b> Ingrediente activo. Fluoruro de sodio Sorbitol, agua, silica hidratada, cocamidopropyl betoína, sabor, polietilenglicol, carboximetilcelulosa, lauril sulfato de sodio, sacarina sódica, fluoruro de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa.
<b>C10</b>	<b>Colgate max fresh noche</b> Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, laminillas de hidroxipropilmetilcelulosa con óxido de zinc 0.32%. Sorbitol, silica hidratada, lauril sulfato de sodio, sabor, goma celulosa, cocamidopropyl betoína, sacarina sódica, fluoruro de sodio, Lamina de óxido de zinc, metilcelulosa.
<b>C11</b>	<b>Colgate máxima protección anticaries</b> Ingredientes activos. Monofluorofosfato de sodio Fosfato di cálcico, di hidratado, agua, glicerina, lauril sulfato de sodio, goma de celulosa, sabor, monofluorofosfato de sodio, pirofosfato tetrasodio, sacarina de sodio, fluoruro de sodio
<b>C12</b>	<b>Aquafresh ultimate White</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio aroma, glicerina, silica, benzoato de sodio, hidróxido de sodio, lauril sulfato de sodio, sacarina sódica, trifosfato de sodio, sorbitol, agua, goma.
<b>C13</b>	<b>Aquafresh White shine</b>  Ingrediente activo: Fluoruro de sodio Sorbitol, agua, lauril sulfato de sodio, aroma, goma, fosfato de sodio, dióxido de titanio, sacarina sódica, benzoato de sodio
<b>C14</b>	<b>Aquafresh extrem clean</b>  Ingrediente activo: Monofluorofosfato de sodio Agua, silica hidratada, polietilenglicol, lauril sulfato de sodio, dióxido de titanio, carboximetilcelulosa, sabor, bicarbonato de sodio, sacarina sódica, carragenato de calcio, benzoato de sodio.

## HERBALES

---

<b>H1</b>	<b>Colgate total 12 clean mint</b>  Ingredientes activos. Fluoruro de sodio Triclosan
-----------	---

---

---

	Agua, sorbitol, silica hidratada, copolimero, lauril sulfato de sodio, aroma, carragenina, hidróxido de sodio, fluoruro de sodio, triclosan, sacarina sódica, CI 77891 dióxido de titanio
<b>H2</b>	<b>Blendas menta + aloe vera</b>  Ingrediente activo: Fluoruro de sodio Extracto botánico de aloe y menta, Sorbitol, agua, silica, Fosfato, Goma Carbopol, lauril sulfato de sodio, sacarinato, dióxido de titanio, aloe vera, menta
<b>H3</b>	<b>Blendas menta + manzanilla</b>  Ingrediente activo: Fluoruro de sodio Extracto botánico de menta y manzanilla, Sorbitol, agua, silica, fosfato, goma carbopol, lauril sulfato de sodio, sacarinato, dióxido de titanio, menta, manzanilla.
<b>H4</b>	<b>Colgate total 12 clean profesional</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio triclosan. Silica hidratada, agua, glicerina, sorbitol, lauril sulfato de sodio, aroma, sabor, goma.
<b>H5</b>	<b>Dentifrico Epoch” Veronica Bodero”</b>  Principio activo. Extracto fluidos de arrayan y punin Carbonato de calcio, lauryl sulfato de sodio, glicerina, Cmc, Savarina, aceite mineral, agua.

---

#### MEDICINALES

---

<b>M1</b>	<b>Encident</b>  Ingrediente activos: Fluoruro de sodio Gluconato de clorhexidina
<b>M2</b>	<b>Dentident</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, nitrato de potasio, extracto fluido de aloe y manzanilla Sorbitol, agua, silica, goma celulosa, pirofosfato, carbopol, aroma, lauril sulfaton de sodio sacarinato.
<b>M3</b>	<b>Colgate sensitive original</b>  Ingrediente activo. Citrato de potasio, monofluorofosfato de sodio. Sorbitol, agua, glicerina, silica hidratada, citrato de potasio, lauril sulfato de sodio, monofluorofosfato de sodio, sabor, goma celulosa, sacarina sódica, dióxido de titanio.
<b>M4</b>	<b>Sensodyne protección total</b>

---

---

	<p>Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, cloruro de potasio Agua sorbitol, silica hidratada, glicerina, cocamidopropyl betoína, goma celulosa, dióxido de titanio, sacarina sódica.</p>
<b>M5</b>	<b>Gingivit</b>  Ingrediente activo. Aluminio o lactato, monofluorofosfato de sodio, triclosan, tetrasodio pirofosfato.
<b>M6</b>	<b>Sensodyne original</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio Agua, glicerina, carbonato de calcio, silica, hidroximetilcelulosa, cloruro de estroncio, dióxido de silicio, dióxido de titanio, sacarina sódica, menta piperita, metilparabeno, propilparabeno, salicilato de metilo, mentol.
<b>M7</b>	<b>Sensodyne cool gel</b>  Ingrediente activo: Fluoruro de sodio Goma celulosa, aroma, glicerina, silica hidratada, sacarina sodica, sorbitol, tetrasodio fosfato, agua.
<b>M8</b>	<b>Sensodyne blanqueador antisarro</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, nitrato de potasio Agua, goma celulosa, cocamidopropyl celulosa betaina, glicerina, sacarina sódica, silica, bicarbonato de sodio, dióxido de titanio, pirofosfato tetrapotásico
<b>M9</b>	<b>Sensodyne Blanqueador Extra Fresh</b>  Ingrediente activo. Fluoruro de sodio, nitrato de potasio Agua, sorbitol, glicerina, silica, goma celulosa, metilclorhidrato de sodio, sabor, glicolpolietileno, dióxido de titanio, metilsodio taurate, cocamidopropil betaina, goma xanthan, hidróxido de sodio, sacarina de sodio.
<b>M10</b>	<b>Colgate sensitive blanqueadora</b>  Ingrediente activo. Monofluorofosfato de sodio, Citrato de Potasio. Agua, sorbitol, glicerina, silica hidratada, citrato de potasio, copoli mero, lauril sulfato de sodio, sabor, goma celulosa, hidróxido de sodio, sacarina sódica, dióxido de titanio.
<b>M11</b>	<b>Colgate sensitive multiproteccion</b>  Ingrediente activo. Monofluorofosfato de sodio, Citrato de Potasio, Citrato de Zinc Agua, sorbitol, silica hidratada, glicerina, citrato de potasio, pirofosfato

---

---

de tetrapotasio, citrato de zinc, copolimero, lauril sulfato de sodio, aroma, hidróxido de potasio, goma celulosa, dióxido de titanio. TKPP

---

---

**M12**      **Soral f**

Ingrediente activo: Nitrato de Potasio Triclosán, Monofluorofosfato de Sodio, extracto de aloe vera, Pirofosfato tetrasódico, lauril sulfato de sodio, triclosan, hidroxietilcelulosa, menta, dióxido de titanio, dióxido silicio, mentol, propilparabeno, metilparabeno, metilsalicilato, glicerina, sorbitol, agua.

---

**M13**      **Odonto smokers**

Ingrediente activo: Aluminio silicato, hidroxietilcelulosa, lauril sulfato de sodio, sodio monofluor, sacarina sódica, tetrasodio pirofosfato, tetrapotasio pirofosfato, sabor

---