



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE DOS**

**CONCENTRACIONES DE DIÓXIDO DE CLORO**

**ESTABILIZADO FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC**

**25175, TRUJILLO-2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

**ESPINOLA BARRETO, JHANN IRWIN**

**ORCID: 0000-0002-9822-5317**

ASESOR

**HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA**

**ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**CHIMBOTE-PERÚ**

**2022**

**1. Título de la tesis**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE DOS CONCENTRACIONES  
DE DIÓXIDO DE CLORO ESTABILIZADO FRENTE A *Streptococcus mutans*  
ATCC 25175, TRUJILLO-2019**

## **2. Equipo de trabajo**

### **AUTOR**

Espinola Barreto, Jhann Irwin

ORCID: 0000-0002-9822-5317

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,  
Trujillo, Perú

### **ASESOR**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de  
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

### **JURADO**

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio

ORCID: 0000-0002-5873-132X

Angeles García, Karen Milena

ORCID: 0000-0002-2441-6882

**3. Hoja de firma del jurado y asesor**

---

MGTR. DE LA CRUZ BRAVO, JUVER JESÚS  
PRESIDENTE

---

MGTR. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO  
MIEMBRO

---

MGTR. ANGELES GARCÍA, KAREN MILENA  
MIEMBRO

---

MGTR. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA  
ASESOR

#### **4. Agradecimiento**

*A Dios, nuestro Creador, por ser mi fortaleza y permitirme seguir adelante durante mi formación profesional.*

*Agradezco a la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, por brindarme la oportunidad de forjarme como profesional.*

*A los docentes de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote por impulsar mi desarrollo profesional con sus conocimientos, experiencia y valores.*

## **Dedicatoria**

*Con todo mi corazón a Dios por iluminarme  
siempre, protegerme, por darme  
fuerzas en tiempos difíciles.*

*A mis amados padres, Deysi Barreto y Wilson Espinola  
por su esfuerzo y apoyo incondicional en la  
Formación de mi carrera profesional.*

*A mis hermanos; Majher Espinola y Ingrid Espinola  
por alentarme a lo largo de mi vida  
y de mi carrera universitaria.*

*A mis abuelitos; Aníbal Espinola y Zoila Romero  
por quererme mucho y apoyarme  
en todo momento.*

*A mi novia Danisa Rodríguez quien me  
apoyó y alentó en cada momento, durante  
mi carrera universitaria.*

*A toda mi familia por su apoyo  
incondicional.*

## 5. Resumen

La presente investigación tuvo como **Objetivo:** comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019. **Metodología:** Tuvo un diseño experimental, transversal y prospectivo, de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Se llevó a cabo en una muestra de 15 placas de Petri para cada grupo de tratamiento, el efecto antibacteriano se midió por medio de los halos de inhibición bacteriana en milímetros, con un vernier. La bacteria fue expuesta al dióxido de cloro estabilizado al 0,5 % y al 1,0 % y además se comparó con los controles positivo (Clorhexidina 0,12%) y negativo (Solución salina). Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. **Resultados:** El dióxido de cloro estabilizado al 1% presentó mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0,5% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó en promedio un diámetro de 10.41 mm y al 1,0% presentó en promedio un diámetro de 14.43 mm, de halos de inhibición. La clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto antibacteriano que todas las concentraciones de estudio frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentando en promedio un diámetro de 15.95 mm, de halos de inhibición. **Conclusión:** El dióxido de cloro estabilizado al 1% presentó mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Antibacteriano, Dióxido de cloro estabilizado, *Streptococcus mutans*.

### **Abstract:**

The objective of this research was to compare the in vitro antibacterial effect of two concentrations of stabilized chlorine dioxide against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019. Methodology: It had an experimental, transversal and prospective design, of quantitative type and explanatory level. It was carried out on a sample of 15 Petri dishes for each treatment group, the antibacterial effect was measured by means of bacterial inhibition halos in millimeters, with a vernier. The bacteria were exposed to 0.5% and 1.0% stabilized chlorine dioxide and further compared with positive (Chlorhexidine 0.12%) and negative (Saline solution) controls. The non-parametric Kruskal Wallis test was used. Results: Chlorine dioxide stabilized at 1% showed a greater in vitro antibacterial effect than the 0.5% concentration against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The in vitro antibacterial effect of chlorine dioxide stabilized at 0.5% against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 showed an average diameter of 10.41 mm and at 1.0% showed an average diameter of 14.43 mm of inhibition halos. Chlorhexidine at 0.12% presented a greater antibacterial effect than all the concentrations studied against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presenting an average diameter of 15.95 mm of inhibition halos. Conclusion: The 1% stabilized chlorine dioxide showed a greater antibacterial effect in vitro than the 0.5% concentration against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Key words: Antibacterial, Stabilized chlorine dioxide, *Streptococcus mutans*.



## 6. Contenido

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de Agradecimiento y/o dedicatoria .....	v
5. Resumen y Abstract .....	vii
6. Contenido .....	ix
7. Índice de tablas y gráficos .....	x
I.    Introducción .....	1
II.   Revisión de literatura .....	4
III.  Hipótesis .....	19
IV.  Metodología .....	20
4.1 Diseño de la Investigación.....	20
4.2 Población y muestra .....	21
4.3 Definición y operacionalización de variables .....	22
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	23
4.5 Plan de análisis.....	26
4.6 Matriz de Consistencia.....	27
4.7 Principios éticos.....	28
V.   Resultados.....	30
5.1 Resultados.....	30
5.2 Análisis de resultados.....	34
VI.  Conclusiones .....	37
Aspectos complementarios .....	38
Referencias Bibliográficas:.....	39
Anexos .....	44

## 7. Índice de tablas y gráficos

### Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.....30

Tabla 2: Test de Duncan, efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.....31

Tabla 3: Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0,5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....32

Tabla 4: Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....33

## Índice de gráficos

Gráfico 1: Efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.....30

Gráfico 2: Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0,5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....32

Gráfico 3: Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....33

## I. **Introducción**

La caries dental es una enfermedad multifactorial, mediada por la biopelícula, impulsada por el azúcar que resulta en la desmineralización y remineralización física de los tejidos duros dentales. La caries puede ocurrir durante toda la vida, tanto en denticiones primarias como permanentes; puede dañar la corona del diente y más adelante las superficies expuestas de la raíz. El equilibrio entre los factores patológicos y protectores influye en el inicio y la progresión de la caries<sup>1</sup>. Dentro de las bacterias causantes de la caries dental, están los *Streptococcus mutans* que producen ácidos como el ácido láctico, entre otros cuando metaboliza los restos de alimentos de la cavidad oral. Dichos ácidos transitan por medio del biofilm hacia el esmalte dental poroso, descomponiéndose y liberando hidrogeniones, los cuales descomponen de manera rápida el mineral del esmalte dental, y por lo cual producen una cavidad<sup>2</sup>. Debido a esto se han implementado diversos tipos de químicos como herramientas para el control bacteriano para poder controlar la formación de caries<sup>3</sup>.

Esta investigación se enfocó en el uso de dióxido de cloro, un desinfectante químico que puede destruir diversas bacterias, hongos, virus y esporas, una sustancia no tóxica aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) como agente antimicrobiano.<sup>3,4</sup>, se formuló el siguiente enunciado del problema de investigación: ¿Cuál es la diferencia, in vitro, del efecto antibacteriano de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175? Y como objetivo general la presente investigación buscó comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019. Y los objetivos específicos: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro

estabilizado al 0.5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1.0 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0.5 %, 1.0 %, con los controles positivo (Clorhexidina 0.12%) y negativo (Solución salina) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La presente investigación se justificó convenientemente, por despertar el interés de los estudiantes y profesionales en seguir estudiando a las sustancias que poseen actividad antimicrobiana. A partir de los resultados obtenidos, se puede determinar si el dióxido de cloro estabilizado se puede incorporar como ingrediente activo en productos para el cuidado dental, pastas, apósitos, entre otros, con el propósito de disminuir el riesgo cariogénico en la población peruana a nivel nacional y regional, brindando a los pacientes tratamientos alternativos seguros, eficaces y económicos.

Esta investigación tuvo un diseño experimental, transversal y prospectivo, de tipo cuantitativo y nivel explicativo, el cual se llevó a cabo en una muestra de 15 placas de Petri para cada grupo de tratamiento, se hizo uso de la técnica observación microbiológica estructurada, el efecto antibacteriano se midió por medio de los halos de inhibición bacteriana en milímetros, con un vernier y los datos se registraron en la ficha de recolección de datos de la medida de los halos de inhibición en la placa.

Los resultados indicaron que el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0,5% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó en promedio un diámetro de 10.41 mm y al 1.0% presentó en promedio un diámetro de 14.43 mm, de halos de inhibición. La clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto antibacteriano que todas las concentraciones de estudio frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentando en promedio un diámetro de 15.95 mm, de halos de

inhibición. Se concluyó que el dióxido de cloro estabilizado al 1% presentó mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La investigación consta de tres apartados principales, el primero inició con la introducción, donde incluye el enunciado del problema, los objetivos; justificación; revisión de la literatura y la hipótesis. Seguido la metodología estableciendo el tipo, nivel y diseño de investigación, población y muestra, la operacionalización de variables; técnica e instrumento de recolección de datos, plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos. Finalizando con los resultados mediante tablas y gráficos cada uno con su interpretación, el análisis de resultados, conclusiones y recomendaciones.

## II. Revisión de literatura

### 2.1 Antecedentes

#### Internacionales

**Venkei A et al.**<sup>2</sup> (Hungría, 2020). En su investigación denominada Un modelo in vitro simplificado para la investigación de la eficacia antimicrobiana de agentes antisépticos para prevenir la periimplantitis **Objetivo:** Tuvieron como objetivo evaluar el efecto antibacteriano de dos antisépticos ampliamente utilizados. **Tipo de Estudio:** Se realizó un estudio experimental, transversal, prospectivo y analítico. Se usaron discos de **Muestra** de titanio comercialmente puro con superficie arenada, grabada al ácido y pulida. Los discos se incubaron con monocultivos de *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mitis* por 24 h. Las biopelículas bacterianas adheridas se trataron con diferentes antisépticos: povidona yodada al 10% y dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) al 1% durante 5 minutos. El efecto anti bacteriano de los antisépticos se probó mediante ensayo colorimétrico y la densidad óptica de los cristales formazan solubilizados se midieron a 550 nm con un lector ELISA. **Resultados:** Demostraron que la povidona yodada al 10% tuvo el efecto antibacteriano más pronunciado, eliminando el 65% de *S. salivarius* y el ClO<sub>2</sub> al 1% también tuvo efecto antibacteriano eliminando el 60% de *S. salivarius* en la superficie de titanio pulida después de 5 minutos de tiempo de tratamiento. Sin embargo, la povidona yodada al 10% tuvo mayor efecto antibacteriano, eliminando el 37% de *S. mitis* y el ClO<sub>2</sub> al 1% tuvo efecto antibacteriano eliminando el 33% de *S. mitis*. El ClO<sub>2</sub> mostró un efecto significativo solo contra *S. salivarius*. **Conclusión:** Se detectó que la povidona yodada al 10% y el ClO<sub>2</sub> al 1% tuvieron efecto antibacteriano notable solo contra *S. salivarius* en Bofill después de 5 minutos de tiempo de tratamiento.

**Siddeshappa S et al.** <sup>3</sup> (India, 2018). En su investigación denominada Evaluación comparativa de los efectos antiplaca y antigingivitis de un enjuague bucal a base de hierbas y dióxido de cloro: un estudio clínico-microbiológico. **Objetivo:** Tuvieron como objetivo comparar la eficacia del enjuague bucal a base de hierbas y el enjuague bucal con dióxido de cloro estabilizado al 0.5% en la reducción de la placa y la gingivitis. **Tipo de estudio:** Realizaron un estudio experimental, transversal, prospectivo y analítico. **Muestra:** Conformada por 40 pacientes con gingivitis leve a moderada. Las muestras de placa se recogieron del surco gingival con una punta de papel estéril absorbente y se enviaron para un examen microbiológico. Las UFC microbianas se evaluaron al inicio, 7 ° día, 14 ° día, y 21 días para *S. mutans* y *T. forsythia*. **Resultados:** Demostraron que hubo mayor reducción estadísticamente significativa con dióxido de cloro al 0.5% en las UFC del microorganismo *S. mutans*, de (17.689 a 6.057) que con el enjuague bucal a base de hierbas (17.689 a 8.055) con una diferencia media de 1.998. **Conclusión:** Evidenciaron que el enjuague bucal con dióxido de cloro al 0.5% fue eficaz para controlar la placa y la gingivitis con una potente actividad antimicrobiana del 65% sobre *S. mutans*.

**Pham T, et al.** <sup>4</sup> (Vietnam, 2018) En su investigación denominada Eficacia del enjuague bucal con dióxido de cloro en la reducción del mal olor oral. **Objetivo:** Tuvieron como objetivo evaluar los efectos inhibitorios de un colutorio bucal que tenía dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) al 0.5% usado por 2 semanas para el mal olor bucal, parámetros periodontales y salivales, recubrimiento de la lengua y bacterias Gram negativas y Gram positivas en la saliva. **Tipo de Estudio:** Realizaron un estudio experimental, transversal, prospectivo. **Muestra:** Estuvo conformada por 39 sujetos con mal olor oral fueron asignados aleatoriamente en dos grupos. **Materiales y**



**métodos:** Fue un estudio cruzado, doble ciego, aleatorizado de 2 semanas. En la primera etapa, un grupo recibió instrucciones de enjuagarse con el colutorio bucal experimental que tenía (0.5% de ClO<sub>2</sub>), mientras que el otro grupo con el enjuague bucal de control (0.9% de cloruro de sodio) durante 2 semanas. Las UFC microbianas se evaluaron al inicio del estudio y después de 2 semanas de uso de enjuague bucal.

**Resultados:** Demostraron que existe una reducción estadística significativa con el uso del ClO<sub>2</sub> en las cantidades de *F. nucleatum* (6.00 a 3.69), *S. moorei* (6,92 a 3.26), *T. denticola* (3.98 a 2.25), y *T. forsythia* (5.83 a 5,45) en toda la saliva, en comparación con los del grupo de control. **Conclusión:** El enjuague bucal ClO<sub>2</sub> al 0,5% es eficaz en la reducción del 35 % de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en la saliva.

**Herczegh A, et al.** <sup>5</sup> (Hungría, 2013). En su estudio titulado Comparación de la eficacia del dióxido de cloro hiperpuro con otros antisépticos orales en patógenos orales in vitro. **Objetivo:** Tuvieron como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) al 0.3% in vitro. **Tipo de Estudio:** Se realizó un estudio experimental, transversal, prospectivo y analítico. La **Muestra:** fue obtenida de 20 estudiantes universitarios se recogieron la placa dental y la dilución de la biopelícula bacteriana fue cultivada en una infusión de cerebro corazón. El efecto antibacteriano se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición bacteriana en milímetros.

**Resultados:** Determinaron que el ClO<sub>2</sub> al 0.3 % frente a *S. mutans*, *E. corrodens* y *C. albicans* logró obtener una media de 17 mm, 13mm, 18mm, comparado Listerine al 0.2 % logró obtener una media de 14 mm, 12mm, 15mm y la Clorhexidina al 0,2% logró obtener una media de 16 mm, 13mm, 17mm. La solución de dióxido de cloro fue eficaz frente a todas las bacterias estudiadas. **Conclusión:** El estudio demostró que

el ClO<sub>2</sub> al 0.3 % tiene un potente efecto antibacteriano frente a todas las bacterias evaluadas en comparación con los demás antisépticos.

**Drake D. y Villhauer A.** <sup>6</sup> (EE. UU, 2011) En su estudio denominado Un estudio comparativo in vitro que determina la actividad bactericida del dióxido de cloro estabilizado y otros enjuagues orales. **Objetivo:** El objetivo del estudio fue determinar la actividad bactericida de un colutorio bucal con dióxido de cloro estabilizado al 0.5% (ClōSYS) en comparación con otros enjuagues bucales. **Tipo de estudio:** Se realizó un estudio experimental, transversal, prospectivo y analítico. **Materiales y métodos:** Registraron antes y después de la exposición el número de unidades formadoras de colonias por mililitro para determinar la efectividad bactericida. **Resultados:** Demostraron que Breath Rx al 0.7 % mostró los niveles más bajos de efecto bactericida del 20% sobre *A. naeslundii* de (6.140 a 5.117). Entre tanto ClōSYS al 0.5 % consiguió 85% de efecto bactericida sobre bacterias expuestas en un minuto: *A. actinomycetemcomitans* de (6.984 a 0.0), *A. naeslundii* de (6.140 a 3.204) y *S. mutans* de (6.588 a 0.0) y el enjuague con Clorhexidina al 0.12 % consiguió 70% de efecto bactericida sobre bacterias expuestas en un minuto: *A. actinomycetemcomitans* de (6.984 a 0.0), *A. naeslundii* de (6.140 a 4.358) y *S. mutans* de (6.588 a 0.0). **Conclusión:** Se evidenció que el enjuague bucal ClōSYS al 0.5 % presento 85 % de efecto bactericida contra *A. actinomycetemcomitans*, *A. naeslundii*, y *S. mutans*.

## Nacional

**Guzmán B.** <sup>7</sup> (Lima, 2017). En su investigación denominada Actividad antimicrobiana in vitro del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua. **Objetivo:** Tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana in vitro

del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua, para lo cual se empleó el método de Test de Difusión en Agar. **Tipo de estudio:** Realizó un estudio experimental in vitro, transversal, prospectivo. **Muestra:** fue obtenida de 18 pacientes sanos, mayores de edad y atendidos en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Materiales y métodos:** A la solución de dióxido de cloro estabilizado al 5 % se preparó diluciones que fueron usadas al 0,03 %, 0,12 % y al 0,30 %. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición en milímetros. **Resultados:** determinó que las diluciones al 0,03 % y al 0,12% indicaron una sensibilidad nula (5mm) y las diluciones al 0,30 % una sensibilidad límite (12mm), tanto en condiciones de aerobiosis como de anaerobiosis facultativa en el 100 % de los casos. **Conclusión:** El dióxido de cloro estabilizado tiene actividad antimicrobiana en flora mixta de dorso de lengua a la concentración de 0,30 %, presentando una sensibilidad límite según Duraffourd.

**Vilca G. <sup>8</sup> (Tacna, 2016)** En su estudio titulado Comparación del efecto bactericida in vitro del dióxido de cloro a distintas concentraciones sobre el microbiota salival, UNJBG-Tacna, 2016. **Objetivo:** Tuvo como objetivo determinar y comparar el efecto bactericida in vitro del dióxido de Cloro (ClO<sub>2</sub>) a distintas concentraciones sobre el microbiota salival. **Tipo de Estudio:** Se realizó un estudio experimental, transversal, prospectivo y analítico. **Materiales y métodos:** El estudio elaboró distintas concentraciones de la solución de ClO<sub>2</sub> estabilizado al 10%, los cuales fueron expuestos sobre flora microbiana salival previamente sembrados en un medio de cultivo. El efecto bactericida se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición bacteriana en milímetros. **Resultados:** Indicaron que en las concentraciones de 0,3 %, 0,5 %, 0,8 %, 1,0 % y 1,5 %, presento efecto bactericida y se logró obtener una media

de 13,98 mm, 17,32 mm, 21,60 mm, 22,34 mm y 29,34 mm respectivamente.

**Conclusión:** El estudio concluyó que las concentraciones de ClO<sub>2</sub> al 0,8 % y al 1,0 % presentaron similar efecto bactericida a diferencia de las demás concentraciones de ClO<sub>2</sub>.

## **2.2 Bases teóricas**

### **Caries dental**

Es una enfermedad multifactorial, caracterizada por desmineralizar progresivamente las partes inorgánicas de las piezas dentarias y el posterior deterioro de éste. La caries tiene un impacto negativo en la salud general y la calidad de vida de las personas. El dolor, la disminución del rendimiento masticatorio, la alteración de la dieta y la nutrición, la pérdida de horas de trabajo, así como la apariencia no estética y la reducción de las actividades sociales son consecuencias de la enfermedad de caries <sup>8</sup>.

La caries dental no puede iniciarse con la ausencia de carbohidratos fermentables en la dieta, principalmente azúcar. La vulnerabilidad a desarrollar caries en presencia de carbohidratos puede estar influenciada por factores como la genética y los micronutrientes como la vitamina D. El sangrado gingival y la enfermedad periodontal destructiva son marcadores sensibles a ambas anormalidades en el contenido de macronutrientes (carbohidratos excesivos o ingesta de grasas poliinsaturadas, ingesta proteica deficiente) y la ingesta de micronutrientes (por ejemplo, vitamina C y B12) <sup>9</sup>.

La cavitación en los dientes es el resultado de un proceso patogénico denominado caries dental que se ha producido en la superficie del diente durante semanas o incluso años. La acumulación de placa dental (biopelícula) en el diente suele ser la primera manifestación de la enfermedad. Aunque la producción de ácido es la causa inmediata

y proximal de la disolución de los dientes; Es el medio dentro del cual se forma el ácido el que debería ser la principal preocupación. Centrarse en el 'pH crítico' ha desviado la atención de los aspectos más biológicos (formación de biopelículas) de la caries dental <sup>9</sup>.

### **Etiología**

Muchas enfermedades infecciosas en humanos son causadas por biopelículas virulentas, incluidas las que se producen en la boca. Entre ellas, la caries dental, está asociada a diversos factores como las de carácter biológico, como la consistencia de la adamantina, presencia de anticuerpos en la saliva, la anatomía oclusal y el pH saliva. También están los hábitos alimenticios, la higiene bucal y el consumo de agua <sup>10</sup>.

Algunos estudios indican que, se han encontrado una alta incidencia y prevalencia en los niños con un nivel socioeconómico bajo <sup>10</sup>.

- Huésped: cuando el huésped es vulnerable debido a diversos factores heredados, la edad, trastornos endocrinos, maloclusión dentaria y trastornos salivales.
- Microflora: dentro de ellas están los microorganismos protectores y otros que son potencialmente patógenos.
- Tiempo: cuando hay un mayor tiempo de exposición de la pieza dentaria a los ácidos producidos por las bacterias, existe un mayor riesgo de caries.
- Bacterias: algunas de las bacterias principales en la patología de las lesiones cariosas son *S. mutans*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*.

Paralelamente, los azúcares son fermentados por *S. mutans* y otros organismos acidógenos incrustados en la matriz, lo que facilita la formación de microambientes altamente ácidos (pH 4.5-5.5) <sup>10</sup>.

## **Epidemiología**

La caries dental, una enfermedad infecciosa persistente, afecta a miles de millones de personas con grandes diferencias individuales en el número de lesiones y actividad de caries. Al menos la mitad de los niños en edad escolar y la gran mayoría de los adultos en todo el mundo experimentan caries en consecuencia, y la carga económica de las caries y las enfermedades dentales representa alrededor del 4.6% del gasto mundial en salud. Sin embargo, en los países con una baja prevalencia de caries, muchos niños están libres de caries o tienen un bajo nivel de enfermedad, mientras que 15-20% tienen una alta carga de caries. En consecuencia, el estilo de vida, la saliva y las bacterias son malos predictores del desarrollo de caries y se necesitan mejores modelos etiológicos y herramientas de diagnóstico y prevención <sup>11</sup>.

A pesar de los muchos avances en los mecanismos etiológicos y bioquímicos relacionados con la enfermedad de la caries durante las últimas décadas, la caries dental todavía se considera una condición de estilo de vida en la cual la acidificación de la placa del azúcar el consumo desplaza la ecología oral hacia especies acidúricas y productoras de ácido; de estos, *Streptococcus mutans* es el más conocido <sup>11</sup>.

*S. mutans* infecta a la cavidad oral de 40-80% de los sujetos dependiendo de la edad, origen étnico y colonizan los individuos con un genotipo dominante y en gran medida única transmitida de padre a hijo a través de la saliva <sup>11</sup>.

En nuestro país los niños y jóvenes en pubertad presentan una tasa alta de caries dental, superando el 90%. La prevalencia en el área urbana es de 90,6% y en la rural 88,7%. El promedio del índice ceo-d/ CPO-D en el país es de 5.84 y el promedio de piezas de ceod/CPO-D la edad de 12 años es de 3.67 (IC95%: 3,37-3,97) <sup>11</sup>.

Los agentes patógenos principales relacionados con la formación de lesiones cariosas, entre estos tenemos: *Streptococcus mutans* (Serotipo C), y en pocas cantidades *Streptococcus gobrinus* y *Streptococcus gordonii*; y dos tipos de *Lactobacillus* y *Actinomyces* <sup>12</sup>.

La prevalencia de los serotipos de *S. mutans* en Japón es del serotipo c (76%), luego del serotipo e (26%), el serotipo f (8%) y el serotipo k (2-5%). (12)

Pieralisi F, Pudo hallar una fuerte relación entre las diferentes formas genotípicas y la presencia de lesiones cariosas <sup>12</sup>.

En la sociedad científica hubo un acuerdo en responsabilizar al *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la formación de caries dental. Por lo que, las estrategias de prevención y control se dirigen principalmente hacia él. Por su alta incidencia que presenta esta enfermedad bucal, surge la necesidad de prevenirla y controlar su proliferación, antes que se produzca lesiones de caries <sup>12</sup>.

### ***Streptococcus mutans***

Es un coco Gram positivo, que se encuentra formando cadenas, carente de movilidad, anaerobio facultativo, catalasa negativa, acidófilo, acidogénico y acidrúrico, forma parte de la placa dental, es capaz de formar polisacáridos extracelulares, los cuales ayudan en su proceso de adhesión a la superficie dental. Además de la caries, *S. mutans* es responsable de los casos de endocarditis infecciosa con un subconjunto de cepas que están indirectamente implicadas con la aparición de patologías extraorales adicionales. Durante las últimas 4 décadas, los estudios funcionales de *S. mutans* se han centrado en comprender los mecanismos moleculares que emplea el organismo para formar biopelículas robustas en las superficies de los dientes, secciones dedicadas al metabolismo de carbohidratos, la formación de biopelículas y las respuestas al

estrés, este artículo analiza los desarrollos más recientes en la investigación de la biología de *S. mutans*, a saber, cómo las interacciones entre especies y las interacciones entre reinos de *S. mutans* dictan el desarrollo y el potencial patogénico de las biopelículas orales y cómo las tecnologías de secuenciación de próxima generación han llevado a una comprensión mucho mejor de la fisiología y la diversidad de *S. mutans* como especie <sup>13</sup>.

El *Streptococcus mutans* es productor de ácido láctico, con la propiedad de modificar el medio de pH 7 a pH 4,2 en alrededor de 24 horas, al metabolizar los restos alimenticios de la cavidad bucal como la sacarosa, glucosa, fructosa, entre otros <sup>13</sup>.

### **Características del *Streptococcus mutans***

Las bacterias que pertenecen al género *Streptococcus* son los primeros habitantes de la cavidad oral, que pueden adquirirse inmediatamente después del nacimiento y, por lo tanto, desempeñan un papel importante en la composición del microbiota oral. Los estreptococos orales producen un arsenal de moléculas adhesivas que les permiten colonizar eficientemente diferentes tejidos en la boca. Además, tienen una capacidad notable para metabolizar los carbohidratos a través de la fermentación, generando así ácidos como subproductos asociados con el desarrollo de la caries dental <sup>14</sup>. Sin embargo, especies menos tolerantes a los ácidos como *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus gordonii* producen grandes cantidades de álcali, mostrando un papel importante en la fisiología ácido-base de la cavidad oral <sup>15</sup>.

### **Clasificación de *Streptococcus mutans***

Se clasifican en 8:

- *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k),
- *S. sobrinus* (serotipos d y g)



- *S. cricetus* (serotipo a)
- *S. rattus* (serotipo b)
- *S. ferus* (serotipo c)
- *S. macacae* (serotipo c) *S. downei* (serotipo h).

El *Streptococcus mutans*, se clasifica en *S. no viridans* y *S. viridans*. En el ser humano los serotipos más importantes son los c, e, f y d o g, conformando el *S. mutans* y *S. sobrinus*. Son causantes principales de la caries dental <sup>15</sup>.

### **Transmisión de *Streptococcus mutans* en cavidad oral**

La forma más relevante de transmisión de *S. mutans* se da en los primeros años de vida, por contacto directo a través de la madre a hijo, lo que se conoce como transmisión vertical y cuando es a través de los familiares se le denomina transmisión horizontal que se hace más importante en edades posteriores <sup>15</sup>.

Se ha considerado que, al erupcionar el primer diente, es decir, alrededor de los seis meses de edad se da la colonización de la cavidad oral

La colonización temprana (antes de la erupción dental) aumenta el riesgo de caries y se desarrolle a edades más tempranas <sup>15</sup>.

### **Adherencia y desarrollo inicial de la caries por *Streptococcus mutans***

Las Gtfs proporcionan áreas para la colonización por microorganismos e insoluble formación de biopelícula. Se adsorben a las superficies de otras bacterias orales que producen glucanos. *S. mutans* expresa 3 Gtfs genéticamente diferentes; el tipo C se impregna dentro de la placa bacteriana, mientras que el tipo B se une a las bacterias creando unión celular. El tipo D crea polisacárido, de fácil metabolismo <sup>15</sup>.

Sin embargo, los agentes que los contrarrestan tienen un efecto nulo en las enzimas absorbidas. Se puede apreciar que al insolubilizar las enzimas aún tienen actividad a nivel del pH. Se aclaró que estas glucotransferasas facilita la formación de productos

de glucanos brindando sitios de enlace o unión para los diversos agentes bacterianos orales <sup>15, 16</sup>.

### **Dióxido de cloro**

Germicida, desinfectante de rápida acción, tiene efecto a concentraciones bajas a las necesarias en el caso del cloro que proviene de la lejía. Altamente soluble en agua y estable en solución acuosa. De dos maneras se puede crear:

Mezclando compuestos diferentes, el clorito de sodio y el ácido clorhídrico.

Al tener la forma estabilizada se activaría después en el laboratorio cuando se necesaria. <sup>17</sup>.

### **Características (ClO<sub>2</sub>).**

El gas presenta color verde con tono amarillento, estable, una de sus cualidades es su alta solubilidad en agua alcanzando muy bajas concentraciones. Tiene una capacidad biosida en rango de pH que va desde (3-10). Propiedades desinfectantes como mejorar la calidad del agua potable, neutralizar olores fuertes, removiendo el color y oxida el hierro y el manganeso mejor que el cloro <sup>18, 19</sup>.

### **Mecanismo de acción.**

Es altamente efectivo contra bacterias, mohos, levaduras, virus, algas y protozoarios, tiene menor efecto microbicida que el ozono, pero comparándolo con el cloro es más eficaz <sup>18, 19</sup>.

Para poder desinfectar el agua, el dióxido lo realiza pasando a través de las membranas celulares de las bacterias con el fin de eliminarlas <sup>18, 19</sup>.

La capa proteica de la cápside viral es penetrada por las moléculas de gases y son retenidas, reaccionando con el RNA del Virus causando daño a su capacidad genética del virus. Por lo que se le atribuye un efecto viricida <sup>18, 19</sup>.

Las moléculas de dióxido de cloro reaccionan con sustancias orgánicas, oxidando al ácido húmico, que es el pionero de los trihalometanos, siendo altamente cancerígeno. En comparación con cloro que puede formar trihalometanos. (Aitaa y Bergg, 1986) <sup>18</sup>, <sup>19</sup>.

### **Mecanismo de acción de dióxido de cloro Estabilizado.**

Reduce el crecimiento de los microorganismos al mínimo ya que posee una acción selectiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del dióxido de cloro, sí no hay crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar la liberación, estará inactivo <sup>18</sup>, <sup>19</sup>.

### **Producción de dióxido de cloro en la forma estabilizada**

Se debe preparar tamponado el clorito de sodio ( $\text{NaClO}_2$ ) con carbonato o fosfato y peróxido de hidrogeno. La capacidad de oxidación del dióxido de cloro en su forma estabilizada es más débil que el dióxido de cloro puro. Ya que es una molécula intacta. Para producir dióxido de cloro estabilizado rápido se tiene que añadir una solución que tenga un PH de ideal de 3(ácido) <sup>20</sup>.

### **Áreas de Aplicación**

#### **Uso Industrial**

El tratamiento con dióxido de cloro elimina microorganismo en los peces, frutas y vegetales, sin cambiar las propiedades nutritivas de la comida. Por lo que se deben introducir por 20 segundos en una solución con agua de 60 a 110 mg/l <sup>21</sup>.

Los mangos frescos se envasaron utilizando una película antimicrobiana hecha a medida recubierta con microcápsulas de dióxido de cloro de liberación sostenida. Nuestros hallazgos revelaron que el grupo de película antibacteriana de microcápsulas de dióxido de cloro aún conserva el valor de los alimentos y el valor comercial <sup>21</sup>.

La efectividad de 30 a 400 ppm de dióxido de cloro (CLO<sub>2</sub>), clorito de sodio acidificado y ácido peroxiacético para controlar Escherichia coli O157: H7 en carne de res fue examinado. La carne molida hecha de carne tratada se envasó al vacío y se almacenó a 4 ° C durante 4 días. Entre los antimicrobianos probados, el CLO<sub>2</sub> fue más efectivo y tuvo una interacción positiva con el almacenamiento en frío donde se produjo la inactivación adicional de E. coli O157 <sup>22</sup>.

### **Uso Terapéutico en Humanos.**

Se registraron el sitio de la lesión, el historial de medicación del paciente, el tiempo de curación y el protocolo de tratamiento seguido por esos autores. Al cambiar a un colutorio con 0,1% de dióxido de cloro estabilizado con tampón de fosfato durante un período de 1 a 12 meses, hubo una curación completa de las lesiones <sup>23</sup>.

Los componentes del dióxido de cloro estabilizado al estar en solución acuosa tienen alta volatilidad, pero se puede almacenar durante un período de tiempo más prolongado a temperatura ambiente y así preserva su estabilidad durante más tiempo <sup>23</sup>.

### **Toxicidad**

Hay varios factores como la dosis, la duración y la forma como entró en contacto con estas sustancias determinarán si la exposición al dióxido de cloro fuera dañina. También se tiene que considerar la edad, sexo, dieta, estilo de vida y condición de salud <sup>24, 25</sup>.

El dióxido de cloro y el clorito ingresan al cuerpo cuando las personas toman agua que ha sido desinfectada con tal sustancia, estas se descomponen rápidamente a iones de cloruro para finalmente abandonar el cuerpo en cuestión de horas o días de acuerdo a la cantidad de clorito que ingreso, por el medio renal <sup>24, 25</sup>.

La agencia de protección del medio ambiente de EE. UU (EPA) determinó que el dióxido de cloro y el clorito de sodio no están clasificados en cuanto a carcinogenicidad para los seres humanos <sup>24, 25</sup>.

La ausencia de toxicidad a corto y largo plazo, a un nivel bajo, se ve determinado por dos estudios desjuntados en los que las ratas y abejas melíferas, ya que fueron alimentadas con ClO<sub>2</sub> en altas dosis durante un tiempo de dos años y no se observaron efectos nocivos con hasta 100mg/L añadidos a sus suministros de agua <sup>24, 25</sup>.

### III. Hipótesis

#### **Hipótesis alterna:**

**Hi:** El dióxido de cloro estabilizado al 1.0 %, presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 2517

#### **Hipótesis nula:**

**Ho:** El dióxido de cloro estabilizado al 1.0 %, no presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

## IV. Metodología

### 4.1 Diseño de la Investigación

#### Tipo de Investigación.

Según el enfoque es: Cuantitativo

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) El presente estudio hizo uso de la estadística, recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico <sup>26</sup>. Este estudio midió los halos de inhibición bacteriana en milímetros.

Según la planificación de la toma de datos: Prospectivo.

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Porque es un estudio el cual se inicia en un periodo de tiempo, comienza en el presente, cuya medición se dará a lo largo de un periodo de tiempo de acuerdo a sucesos o individuos a través del tiempo, hacia el futuro <sup>26</sup>. Los resultados del estudio se registraron en una ficha de recolección de datos luego de la ejecución del estudio.

Según el número de ocasiones en que mide la variable es: Transversal.

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Define como un tipo de investigación observacional que analiza datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo sobre una población <sup>26</sup>. En este estudio, todas las variables fueron medidas luego 48 horas de incubación.

#### Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel: Explicativo

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Porque determinan las causas que originan un fenómeno <sup>26</sup>. Este estudio explicó el comportamiento del dióxido de cloro estabilizado frente a *S. mutans*.

## Diseño de investigación

La Investigación es de diseño: Experimental.

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Es un estudio el cual buscó medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente <sup>26</sup>. Este estudio buscó determinar el efecto del dióxido de cloro estabilizado frente a las cepas de *S. mutans*.

Esquema:

<b>GE</b>	<b>A</b>	<b>X</b>	<b>O<sub>1</sub></b>
<b>GC</b>	<b>A</b>		<b>O<sub>2</sub></b>

Donde:

**X** = Variable experimental

**O<sub>1</sub> O<sub>2</sub>** = Mediciones de cada grupo

**A** = Aleatorización

## 4.2 Población y muestra

La población estuvo constituida por cepas de *S. mutans* ATCC 25175.

Para determinar el tamaño de la muestra se utilizó la siguiente fórmula estadística:

### Criterios de inclusión:

Placas Petri con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 identificada fenotípicamente.

### Criterios de exclusión:

Placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 contaminadas.

### Tamaño de Muestra

El tamaño de la muestra para el presente estudio fue:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2s^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1,96$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0,84$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\beta = 0.20$

$S = 0,9781 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$  el cual es un valor asumido por no estar completa la información sobre los valores paramétricos en estudios similares.

Luego Reemplazando obtenemos:



n = 15 placas

Es decir, se necesitaron 15 placas seleccionadas aleatoriamente para cada grupo de tratamiento.

Tipo de muestreo probabilístico, aleatorio simple.

Grupos experimentales:

- Grupo A: Dióxido de cloro al 0,5 %
- Grupo B: Dióxido de cloro al 1,0 %
- Control negativo: Solución salina fisiológica estéril (SSFe)
- Control positivo: clorhexidina al 0,12%

Por lo tanto, se utilizaron 60 placas en total

### 4.3 Definición y operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR FINAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Dióxido de cloro estabilizado	Es un potente oxidante mucho más selectivo que el cloro <sup>29</sup> .	Efecto antibacteriano del dióxido de cloro estabilizado frente a <i>S. mutans</i> .	Concentración de dióxido de cloro estabilizado diluido en agua destilada.	0.5 % 1.0 %	Cuantitativa	De Razón
Efecto antibacteria no frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Efecto de determinada sustancia capaz de inhibir bacterias <sup>26</sup> .	Efecto antibacteriano a partir del halo de inhibición de 8 mm	Nivel de sensibilidad según el diámetro del halo de inhibición medido en mm según la escala de Duraffourd <sup>27</sup> .	Sensibilidad nula si es $\leq$ a 8 mm. de Diámetro Sensibilidad limite si es 9-14 mm. de Diámetro Sensibilidad media si es 15-19 mm. de Diámetro Sumamente sensible si es $\geq$ 20 mm. de diámetro	Cualitativa	Ordinal

#### 4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: observación microbiológica aplicando método de Kirby Bauer.

##### Instrumentos de recolección de datos

Los halos de inhibición bacteriana fueron medidos en milímetros con un vernier que tiene una precisión:  $\pm 0,02\text{mm}$  y posee una Pantalla de lectura LCD grande y clara donde se puede configurar a cero en cualquier posición del deslizador con la tecla Zero/ABS para comparar más los resultados de medición.

Se registró en una ficha de recolección de datos las medidas de los halos de inhibición en la placa. (Anexo 1)

##### Procedimiento:

##### Obtención del Dióxido de Cloro a diferentes concentraciones

En la parte experimental de este trabajo de investigación se hizo cargo el Biólogo Microbiólogo, David Zavaleta Verde. (Anexo 2)

Se utilizó dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) estabilizado al 5% (50 000 ppm) marca Dioxill Plus de la empresa Juandy E.I.R.L Perú.

Las diluciones se realizaron solo con agua estéril, luego se depositó en envases de vidrio de color ámbar y se midió el pH de cada solución con el peachímetro.

Para obtener del dióxido de cloro a la concentración de 0,50 % se realizó de la siguiente manera:

$C1 \times V1 = C2 \times V2$ $5\% \times V1 = 0,10\% \times 100 \text{ ml}$ $V1 = 0,50\% \times 100 \text{ ml} / 5\%$ $V1 = 10 \text{ ml}$	C1: concentración 1 V1: volumen 1 C2: concentración 2 V2: volumen 2
--	--

Colocamos en un frasco 10 ml de Dióxido de Cloro al 5 % y completamos hasta 100 ml con agua destilada. Ajustamos el pH inicial de 7,5 a 6 empleando HCl al 4

%. Se realizó el mismo procedimiento para las demás concentraciones de dióxido de cloro estabilizado.

**Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

**Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.**

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. (Anexo 3) La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en un tubo con 5 ml de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Infusión Cerebro Corazón, luego se incubó a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.

**Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.**

Para evaluar el efecto antibacteriano de las concentraciones de 0.5 %, 1.0 % de dióxido de cloro frente *Streptococcus mutans* se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar<sup>28</sup>.

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

**Preparación y estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C durante 48 horas. Luego de 48 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  ufc/mL)

### **Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido<sup>29</sup>.

### **Preparación de los discos con el dióxido de cloro estabilizado.**

Se prepararon discos de papel filtro Whatman número 3 de 6 mm de diámetro, estériles. A los cuales se les colocó 30 µl de las concentraciones de 0.50 %, 1.0% de dióxido de cloro respectivamente. (Anexo 4)

Luego, con una pinza estéril, se colocaron los discos sobre las placas de Petri con Müeller Hinton sembradas con las cepas de *Streptococcus mutans* ATTC 25175.

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo Solución salina.

### **Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 48 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela. (5-10% de CO<sub>2</sub>)

## **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación a 48 horas se examinó cada placa teniendo en cuenta el halo de inhibición del crecimiento bacteriano, seguido se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco <sup>29</sup>. para lo cual se utilizó un vernier: diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Número de Modelo 500-157-30. (Anexo 5).

## **Interpretación de los resultados:**

Para la interpretación de los resultados en la evaluación de tipo cualitativa se tomó como referencia los valores de sensibilidad según Duraffourd <sup>27</sup>. Los cuales se clasifican según el diámetro del halo de inhibición de la siguiente manera:

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm.
- Sensibilidad límite (Sensible=+) de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible (S.S.= +++) si fue igual o superior a 20 mm.

## **4.5 Plan de análisis**

- La información registrada en la ficha de recolección de datos fue digitalizada en una base de datos en el programa ofimático Microsoft Excel 2013, donde se ordenó, organizó y codificó según los ítems.
- Se procesaron los datos mediante el programa IBM SPSS v. 25.

- Para los análisis estadísticos inferenciales se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis donde los datos se procesaron con intervalos de confianza al 95%, para determinar el nivel de confianza de los resultados ( $p < 0,05$ ).
- Para la comparación múltiple se utilizó el test de Duncan, para dar respuestas según cada objetivo.
- Para su representación gráfica se empleó tablas y gráficos

#### 4.6 Matriz de Consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	METODOLOGIA
¿Cuál es la diferencia, in vitro, del efecto antibacteriano de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	<p><b>Objetivo general:</b> Comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2019</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Determinar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0.5 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</li> <li>-Determinar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1.0 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</li> <li>-Comparar el efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0.5 %, 1.0 %, con los controles positivo (Clorhexidina 0.12%) y negativo (Solución salina) frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</li> </ul>	<p><b>Hi:</b> El dióxido de cloro estabilizado al 1.0 %, presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 2517</p> <p><b>Ho:</b> El dióxido de cloro estabilizado al 1.0 %, no presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que la concentración al 0,5 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Efecto antibacteriano (Dependiente)</p> <p>Dióxido de cloro estabilizado (Independiente)</p>	<p>Según la intervención del investigador: Experimental.</p> <p>Según la planificación de la toma de datos: Prospectivo.</p> <p>Según el número de ocasiones en que se mide la variable: Transversal.</p> <p>Según el número de variables de interés: Analítico.</p> <p><b>Población:</b> La población estuvo constituida por cepas de <i>S. mutans</i> ATCC 25175.</p> <p><b>Muestra:</b> Estuvo constituida por 15 placas seleccionadas aleatoriamente para cada grupo de tratamiento.</p>

#### 4.7 Principios éticos.

Para el desarrollo de esta investigación se tomó en cuenta los principios éticos estipulados por la ULADECH Católica en su Código de Ética para la investigación – Versión 004 <sup>30</sup>.

- **Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad.** – Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y tomar medidas para evitar daños <sup>30</sup>.
- **Beneficencia y no-maleficencia.** – Toda investigación debe tener un balance riesgo-beneficio positivo y justificado, para asegurar el cuidado de la vida y el bienestar de las personas que participan en la investigación. En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios <sup>30</sup>.
- **Justicia.** – El investigador debe anteponer la justicia y el bien común antes que el interés personal. Así como, ejercer un juicio razonable y asegurarse que las limitaciones de su conocimiento o capacidades, o sesgos, no den lugar a prácticas injustas. El investigador está obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación, y pueden acceder a los resultados del proyecto de investigación <sup>30</sup>.
- **Integridad científica.** – El investigador (estudiante, egresado, docentes, no docentes) tiene que evitar el engaño en todos los aspectos de la investigación; evaluar y declarar los daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, el investigador debe proceder con rigor

científico, asegurando la validez de sus métodos, fuentes y datos. Además, debe garantizar la veracidad en todo el proceso de investigación, desde la formulación, desarrollo, análisis, y comunicación de los resultados <sup>30</sup>.



## V. Resultados

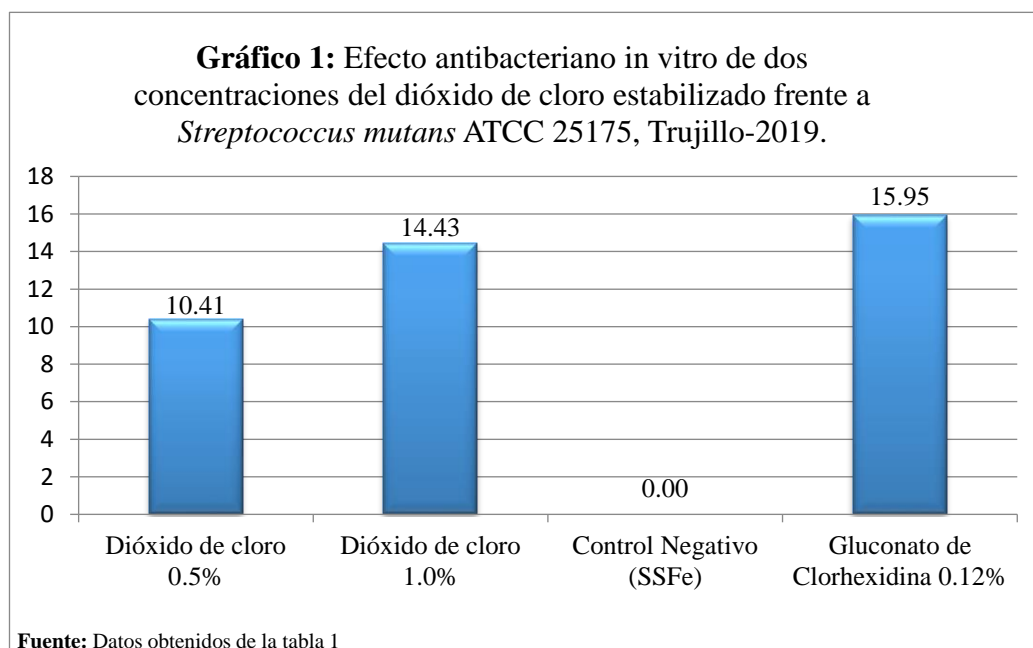
### 5.1 Resultados

**Tabla 1:** Efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.

Tratamientos	N	Diámetro (mm)		Sig. (p)*
		Media	Desviación típica	
Dióxido de cloro 0.5%	15	10.41	1.03	0.000
Dióxido de cloro 1.0%	15	14.43	1.13	
Control Negativo (SSFe)	15	0.00	0.00	
Gluconato de Clorhexidina 0.12%	15	15.95	0.73	

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p\*: prueba KRUSKALL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )



**Interpretación:** De la tabla 1, aplicando la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, se obtuvo ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadística entre los tratamientos evaluados.

Es decir, si existió diferencia significativa entre los tratamientos evaluados.

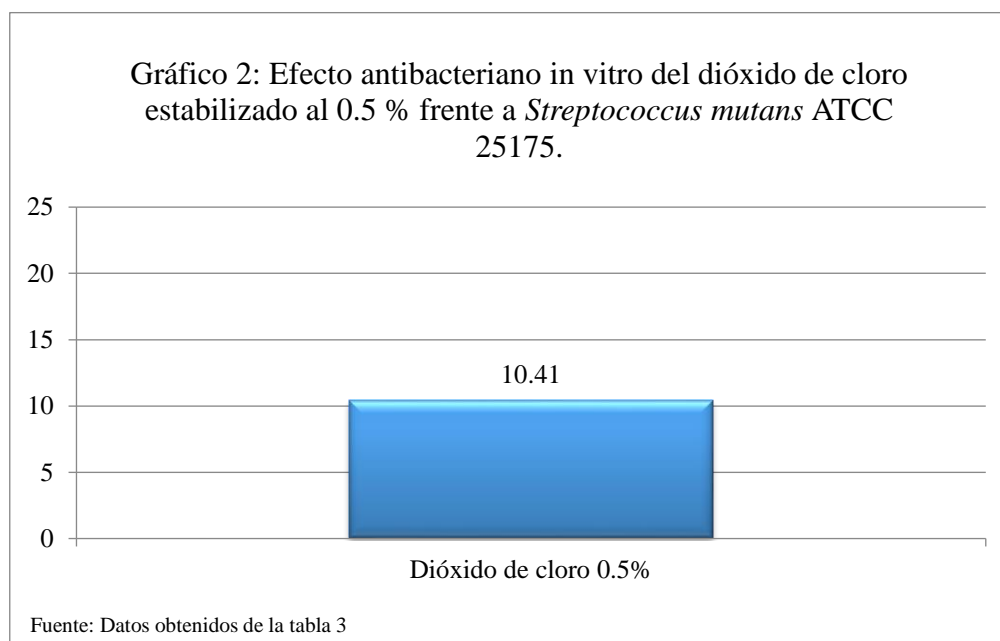
**Tabla 2:** Test de Duncan, efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.

<b>TEST DUNCAN</b>					
<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa =0.05 - (Test Duncan)</b>			
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Control Negativo (SSFe)	15	0.00			
Dióxido de cloro 0.5%	15		10.41		
Dióxido de cloro 1.0%	15			14.43	
Gluconato de Clorhexidina 0.12%	15				15.95
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	1.000

**Interpretación:** En la tabla 2, se observa que todos los tratamientos evaluados en la presente investigación y los controles negativo y positivo, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

**Tabla 3:** Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0.5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

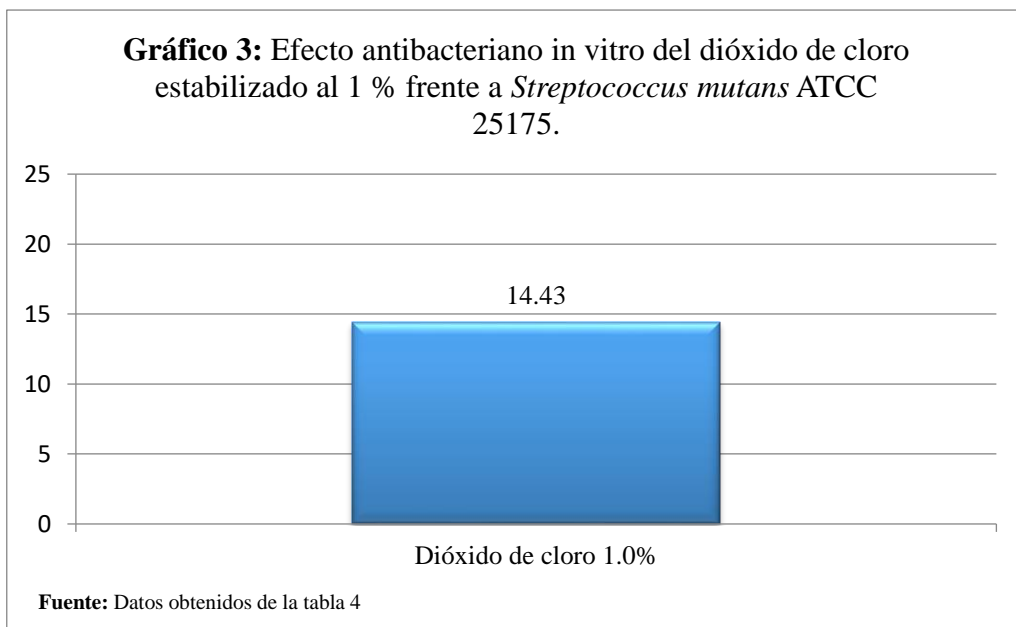
Tratamiento	
Dióxido de cloro 0.5%	
Media	10.41
Desviación Típica	1.03
Varianza	1.05
N	15



**Interpretación:** El efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 0.5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó en promedio un diámetro de 10.41 mm, de halos de inhibición.

**Tabla 4:** Efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tratamiento	
<b>Dióxido de cloro 1.0%</b>	
<b>Media</b>	14.43
<b>Desviación Típica</b>	1.13
<b>Varianza</b>	1.28
<b>N</b>	15



El efecto antibacteriano in vitro del dióxido de cloro estabilizado al 1.0 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó en promedio un diámetro de 14.43 mm, de halos de inhibición.

## 5.2 Análisis de resultados

La presente investigación tuvo como propósito comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019. Como instrumento de medición se utilizó un vernier milimetrado para medir los halos de inhibición bacteriana.

Al comparar el efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se obtuvo que, el dióxido de cloro estabilizado al 1% presentó mayor efecto antibacteriano que la otra concentración de estudio, Al comparar los resultados obtenidos, vemos coincidencia con lo hallado por Venkei A <sup>2</sup> y Vilca G <sup>8</sup> quienes demostraron que el dióxido de cloro estabilizado al 1% tiene mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *S. mutans* y otras bacterias aisladas de la saliva de pacientes. Estos resultados se pudieron dar debido a que, es un gas compuesto de un átomo de cloro y dos átomos de oxígeno <sup>18</sup>, los cuales son responsables de la actividad antibacteriana de este desinfectante, que actúa interfiriendo las membranas celulares de las bacterias (*S. mutans*) con el fin de eliminarlas, impidiendo que pueda adherirse a las superficies de las piezas dentarias inhibiendo la glucosiltransferasa y fructosiltransferasa <sup>15</sup>.

Al evaluar el efecto antibacteriano dióxido de cloro estabilizado al 0.5% frente a *S. mutans* ATCC 25175, se determinó que presentó menor efecto antibacteriano que la otra concentración de estudio, al comparar resultados obtenidos, vemos coincidencia con los estudios de Pham T <sup>4</sup> y Guzmán B <sup>7</sup> quienes demostraron que

el dióxido de cloro estabilizado al 0.5% tiene menor efecto antibacteriano sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas aisladas de la saliva. Sin embargo, Siddeshappa S<sup>3</sup> y Drake D<sup>6</sup> difirieron con los resultados de este estudio al concluir que el enjuague bucal con dióxido de cloro al 0.5% tiene una potente actividad antimicrobiana sobre *S. mutans* y otras bacterias periodontales. Esto puede atribuirse porque que el dióxido de cloro posee una acción selectiva por la materia orgánica proteínica, la cual causa su liberación y sí no hay crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar la liberación, estará inactivo.<sup>18,19</sup> por lo que los resultados obtenidos se deben a que la muestra bacteriana fue de cepas puras, como la muestra bacteriana de Pham T<sup>4</sup> y Guzmán B<sup>7</sup> que fue obtenida de pacientes sanos y la muestra bacteriana de Siddeshappa S<sup>3</sup> y Drake D<sup>6</sup> fue obtenida de pacientes con enfermedades bucales con un PH salival ácido.

Al evaluar el efecto antibacteriano dióxido de cloro estabilizado al 1% se determinó que presentó mayor efecto antibacteriano frente a frente a *S. mutans* ATCC 25175, al comparar los resultados obtenidos, La investigación es similar al estudio de Venkei A<sup>2</sup> y Herczegh A<sup>5</sup> quienes demostraron que el dióxido de cloro estabilizado al 1% y al 0.30% presentan un potente efecto antibacteriano frente a las bacterias evaluadas en comparación con los demás antisépticos. Presentando una sensibilidad media según Duraffourd. Esta observación puede atribuirse a que el dióxido de cloro de los antisépticos fue hiperpuro. Tiene efecto microbicida, contra las bacterias, mohos, levaduras, virus, algas y protozoarios. Y la muestra bacteriana fue tomada de pacientes con índice de placa grado 2, lo que nos indica que el medio estuvo con un PH ácido y causó su liberación oxidando a las bacterias evaluadas.<sup>20</sup>

responsables de la actividad antibacteriana las cuales actúan en la adhesión bacteriana

Al comparar el efecto antibacteriano dióxido de cloro estabilizado al 0.5% , 1% con los control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y negativo (Solución salina) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se determinó que, la clorhexidina presentó mayor efecto antibacteriano que todos los grupos de estudio, el efecto se pudo dar porque, su actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, alterando el equilibrio osmótico y causando la precipitación de los contenidos celulares bacterianos. Este resultado difiere de los estudios de Herczegh A <sup>5</sup>, y Drake D <sup>6</sup>, los cuales demostraron que las concentraciones de dióxido de cloro estabilizado al 0.3% y 0.5% presentaron similar efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *S. mutans*. Esta conclusión se pudo dar debido a que el estudio de Herczegh y Drake utilizaron un antiséptico con una solución hiperpura, es por ello que igualó su efectividad con el estudio.

## VI. Conclusiones

1. Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se demostró que, el dióxido de cloro estabilizado al 1% presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* que la concentración al 0.5 % frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
2. El dióxido de cloro estabilizado al 0.5 % presentó efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
3. El dióxido de cloro estabilizado al 1.0 % presentó efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
4. La clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que todas las concentraciones de estudio frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



## **Aspectos complementarios**

### **Recomendaciones**

- Realizar un estudio similar, pero con *Streptococcus sobrinus* ya que también es uno de los causantes de la caries dental.
- Ampliar la investigación en la formulación y elaboración de pastas y colutorios dentales con dióxido de cloro, con la finalidad de prevenir y disminuir el alto índice de caries, gingivitis y periodontitis.
- Realizar estudios in vivo en pacientes con candidiasis oral a fin de verificar si los resultados in vitro son similares o tiene mayor efecto contra *Cándida Albicans*.
- Estudiar si existe sinergismo entre el dióxido de cloro y la clorhexidina.

## Referencias Bibliográficas:

1. Pitts N, Zero D, Marsh P, Ekstrand K, Weintraub J, Ramos F, et al. Dental caries. [en línea]. Indiana, USA. Nat Rev Dis Primers. 2017 May 25; 3:17030 [citado el 5 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28540937>
2. Venkei A, Eordegh G. Un modelo *in vitro* simplificado para la investigación de la eficacia antimicrobiana de varios agentes antisépticos para prevenir la periimplantitis. [en línea]. Hungría. 20 de abril 2020. [citado el 5 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://akjournals.com/view/journals/030/aop/article-10.1556-030.2020.01080/article-10.1556-030.2020.01080.xml#B33>
3. Siddeshappa S, Bhatnagar S, Yeltiwar R, Parvez H, Singh A. Evaluación comparativa de los efectos antiplaca y antigingivitis de un enjuague bucal a base de hierbas y dióxido de cloro: un estudio clínico-microbiológico. [en línea]. Indian J Dent Res. 2018 enero; 29 (1): 34-40. [citado el 6 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29442084>
4. Pham T, Nguyen N. Efficacy of chlorine dioxide mouthwash in reducing oral malodor: A 2-week randomized, double-blind, crossover study. [en línea]. Vietnam. Clin Exp Dent Res. 2018 Oct 23; 4(5):206-215. [citado el 6 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30386642>
5. Herczegh A, Ghidan A, Friedreich D, Gyurkovics M, Bendő Z. Effectiveness of a high purity chlorine dioxide solution in eliminating intracanal *Enterococcus faecalis* biofilm. [en línea]. Hungary. Acta Microbiol Immunol Hung. 2013 Mar;60(1):63-75. [citado el 7 de octubre del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24060558>

6. Drake D, Villhauer A. An in vitro comparative study determining bactericidal activity of stabilized chlorinedioxide and other oral rinses. [en línea]. EE.UU. J Clin Dent. 2011;22(1) [citado el 7 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/research-papers/vitro-comparative-study-determining-bactericidal-activity-stabilized-chlorine-dioxide-other-oral-rin/>
7. Guzmán B. Actividad antimicrobiana in vitro del dióxido de cloro estabilizado en flora mixta de dorso de lengua. [Tesis para optar por el título de Cirujano Dentista] Lima, Perú: Facultad de odontología, Universidad Nacional Mayor De San Marcos; 2017. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7487/Guzman\\_vb.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7487/Guzman_vb.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
8. Vilca G. Comparación del efecto bactericida in vitro del dióxido de cloro a distintas concentraciones sobre la flora microbiana salival, UNJBG-Tacna, 2016. [Tesis para optar el título académico de Químico Farmacéutico]. Tacna, Perú: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2016. Disponible en: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2323/1095\\_2017\\_vilca\\_maquera\\_gn\\_facs\\_farmacia\\_bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2323/1095_2017_vilca_maquera_gn_facs_farmacia_bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
9. Tikhonova S, Booij L. Investigating the association between stress, saliva and dental caries: a scoping review. [en línea]. Canadá. BMC Oral Health. 2018 Mar 13; 18(1). [citado el 9 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29534715>
10. Gonzales S, Pedroso L, Rivero M, Reyes V. Etiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años. [en línea]. Cuba. Rev. Cient. Med.

- Habana. 2014 20(2): 208-218 [citado el 9 de octubre de 2019]. Disponible en:  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revciemedhab/cmh-2014/cmh142i.pdf>
11. Frencken J, Sharma P. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis - a comprehensive review. [en línea]. Birmingham, UK. J Clin Periodontol. 2017 Mar [citado el 9 de octubre de 2019]. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28266116>
  12. Delgadillo J, Espinoza S. Presencia de *Streptococcus mutans* Genotipo C en niños y adolescentes peruanos con caries. [en línea]. Lima, Perú. ODOVTOS-Int. J. Dent. Sc. | No. 20-3, 109-120, 2018. [citado el 15 de octubre de 2019].  
Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/Odontos/article/view/34279>
  13. Klein M, Hwang G. Matriz extracelular derivada de *Streptococcus mutans* en biopelículas orales cariogénicas. [en línea]. NY, EE. UU. Microbiol infectante de células frontales. 2015 Feb 13; 5:10. [citado el 20 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25763359>
  14. Abranches J, Zeng L. Biology of Oral Streptococci. [en línea]. Florida, USA. Microbiol Spectr. 2018 oct; 6(5). [citado el 25 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30338752>
  15. Ojeda G, Oviedo G, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. [en línea]. Colombia. Rev. CES Odontología. 2013; 26(1). [citado el 5 de noviembre de 2019]. Disponible en:  
<https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684>
  16. Chamorro A. Acción de la inmunoglobulina a secretora en el proceso de adherencia de *Streptococcus mutans* al diente humano. [en línea]. Antioquia, Colombia. CES Odontología. 2013; 26(2): 76-106. [citado el 15 de mayo de

- 2020]. Disponible en:  
<http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2807/2022>
17. Alliger H. Una vista general del ClO<sub>2</sub>. Frontier Pharmaceutical Inc, Melville, Nueva York, EE. UU. 2009
  18. Solsona F, Méndez J. CEPIS; OPS; OMS; Environmental Protection Agency. Dióxido de cloro. En: Desinfección del agua. Lima; 2012. p. 125-137.
  19. Ma J, Evaluación de eficacia y seguridad de una solución de dióxido de cloro. [en línea]. Taiwán, China. Int J Environ Res Salud Pública. 22 de marzo de 2017. [citado el 15 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28327506>
  20. Junli H. Nota técnica el patrón de ClO<sub>2</sub> estabilizado por Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Res de agua Julio de 2009.
  21. Zhang B. Aplicación de microcápsulas de dióxido de cloro, películas antibacterianas de liberación sostenida para la conservación del mango. [en línea]. China. J Food Sci Technol. 2019 Mar; 56 . [citado el 5 de junio de 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30956289/>
  22. Visvalingam J. evaluación de desinfectantes para el control de microorganismos en frutas y verduras. [en línea]. México. 2018 enero; 103: 295-300. [citado el 8 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/813/81351597002/html/>
  23. Myneni V, Wang H. Enjuague bucal de 0.1% de dióxido de cloro estabilizado con buffer de fosfato para controlar la osteonecrosis de la mandíbula relacionada con los medicamentos. [en línea]. NY, USA. Am J Dent. Diciembre de 2017.

- [citado el 18 de agosto de 2020]. Disponible en:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29251459/>
24. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for Chlorine Dioxide and Chlorite. [en línea]. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2004. [consultado 25 de octubre 2020]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp160.pdf>
  25. Snook C. Actualización de toxicología médica y salud pública sobre investigación y actividades en los centros de control y prevención de enfermedades y la agencia de sustancias tóxicas y registro de enfermedades. [en línea]. EE.UU. J Med Toxicol. Diciembre de 2008; 4 (4)
  26. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
  27. Duraffourd C, Hervicourt L, Lapraz C. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1ra edición. España: Editorial Masson SA; 1986.
  28. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. 2013. Vol 33 (1).
  29. Gold O. selective medium for Streptococcus mutans. [en línea]. Boston, U.S.A. Arch Oral Biol, 1973; 18(11): 1357-1364. [citado 25 abril. 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4518755/>
  30. Domínguez J. Código de ética para la investigación. [en línea]. ULADECH CATÓLICA; 2021 enero. [citado 30 abril. 2021]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2021/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf>

## Anexos

Anexo: 1

### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA MEDIDA DE LOS HALOS DE INHIBICION EN LA PLACA

Se realizó la medición de los halos de inhibición en milímetros (mm.) se midió en las placas con medio de cultivo Müeller Hinton Cada placa contó con 4 discos de papel filtro embestidos con dióxido de cloro estabilizado al 0,50%, 1.0%, como control positivo clorhexidina al 0,12% y como control negativo Solución salina.

<i>Repeticiones</i>	<b>Concentraciones de las diluciones del dióxido de cloro estabilizado</b>		<b>Control positivo CHx 0.12%</b>	<b>Control negativo Solución salina</b>
	0,50%	1.0 %	C(+)	C(-)
Placa N° 1	8.7	15.8	0.0	15.2
Placa N° 2	9.3	15.3	0.0	15.2
Placa N° 3	9.1	13.6	0.0	17.8
Placa N° 4	11.5	12.9	0.0	17.1
Placa N° 5	12.3	12.8	0.0	15.8
Placa N° 6	10.5	14.4	0.0	16.0
Placa N° 7	10.1	15.2	0.0	15.4
Placa N° 8	10.3	14.8	0.0	16.2
Placa N° 9	11.9	14.0	0.0	16.4
Placa N° 10	11.4	13.3	0.0	15.8
Placa N° 11	9.8	15.6	0.0	15.6
Placa N° 12	10.3	15.8	0.0	16.0
Placa N° 13	10.4	16.0	0.0	15.2
Placa N° 14	10.7	13.4	0.0	16.1
Placa N° 15	9.8	13.6	0.0	15.4

Anexo 2:

## CONSTANCIAS EMITIDAS POR ESPECIALISTA

Constancia de colaboración de Dr. DAVID ZAVALETA VERDE, Biólogo – Microbiólogo en la ejecución del proyecto de investigación.

### CONSTANCIA

Yo, David Zavaleta Verde, Biólogo Microbiólogo y docente de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 7941.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con el alumno JHANN IRWIN ESPINOLA BARRETO, identificado con DNI 76418322, con domicilio legal en calle Dos de Junio N° G800 Florencia De Mora - Trujillo; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, en la ejecución del trabajo de investigación **“Efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2019”**.

Trujillo, 13 de noviembre del 2019



David Zavaleta Verde  
MICROBIOLOGO  
C.E.P. 7941



Anexo 3:

FACTURA ELECTRÓNICA DEL LABORATORIO GEN LAB

**GenLab**  
del Perú SAC

**Gen Lab del Perú S.A.C**  
Jr. Capac Yupanqui N°. 2434  
Lince - Lima - Perú  
Central Telefónica  
(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501  
Email : ventas@genlabperu.com  
Web Site : www.genlabperu.com

**RUC N°:20501262260**  
**FACTURA  
ELECTRONICA  
F002-000554**

Page 1 of 1

**Fecha emisión :** 26/09/2019 **Orden Compra:** COTIZ 19/038484  
**Fecha Vcto :** 26/09/2019 **Guía de Remisión :**  
**Cliente:** UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE **N° Pedido :** 023519  
**Dirección:** JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCI  
CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru  
**Tipo Movimiento :** ANTICIPOS **RUC :** 20319956043  
**Lugar de destino :**

Código	Descripcion	Cant	U/M	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	337.7966	0.00	337.80

TRESCIENTOS NOVENTA Y OCHO CON 60/100 SOLES



<b>Sub-Total</b>		337.80
<b>Anticipo</b>		
<b>Op. Gravada S/</b>		337.80
<b>IGV 18%</b>		60.80
<b>Importe Total S/</b>		398.60

Representacion Impresa de la Factura Electrónica  
Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

**Observaciones de SUNAT :**  
La FACTURA número 20501262260 de F002-000554

Anexo 4:

## FICHA TECNICA DEL DIOXIDO DE CLORO ESTABILIZADO

<b>JUANDY E.I.R.L.</b> Las Redes 327, Las Lagunas – La Molina Teléfono: 966-397320 / 99573- 1985	<b>DIOXILL PLUS</b> <b>(DIOXIDO DE CLORO AL 5%)</b>	Versión: 01 Fecha: Enero 2015
--	--	----------------------------------

**BACTERICIDA, FUNGICIDA, VIRUCIDA, ALGUICIDA**

### Descripción:



**DIOXILL PLUS**, es una solución de Dióxido de Cloro al 5%. Posee la propiedad de ser uno de los desinfectantes más efectivos contra bacterias, mohos, levaduras, virus, algas y protozoarios, utilizado en la industria de alimentos y bebidas.

**DIOXILL PLUS**, es insípido, no tóxico, no corrosivo y no inflamable. Es amigable con el medio ambiente.



**DIOXILL PLUS**, basa su composición química en la aprobación FDA capítulo 21 CFR 178.1010, y FDA sección 173.300 y 173.325, que permite su aplicación en el lavado de frutas y verduras; así como también, su aplicación en la industria cárnica, láctea, agrícola, agua,

**DIOXILL PLUS**, cuenta con Autorización Sanitaria Vigente otorgada por el Ministerio de Salud del Perú a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA). Resolución Directoral N° 5876-2015/DIGESA/SA emitida el 07 de Octubre del 2015 (3 años de vigencia)

### Propiedades Físicas y Químicas:

Estado Físico	:	Líquido
Color	:	Amarillo claro
Olor	:	Ligeramente clorado
% Dióxido de Cloro	:	$5.3 \pm 0.2$
Densidad a 20°C	:	$1.10 \pm 0.05$
pH a 20°C	:	$12.30 \pm 0.5$
Explosividad	:	No explosivo
Solubilidad	:	Completamente soluble en agua
Estabilidad	:	1 año

### Control Microbiológico:

Disminuye la carga microbiana y su acción es prolongada, debido a su mecanismo automático de liberación de Dióxido de Cloro. Este mecanismo otorga completa protección contra los microorganismos mientras el Dióxido de Cloro esté presente.

El Dióxido de Cloro estabilizado tiene una acción selectiva o atractiva para la materia orgánica proteínica que causa la liberación del Dióxido de Cloro, reduce al mínimo el crecimiento de microorganismos. Mientras no haya crecimiento bacteriano que acidifique el medio para causar su liberación, permanecerá inerte. Este efecto residual actúa como inhibidor del crecimiento de microorganismos.

### Ventajas que da el uso del DIOXILL PLUS:

- 1.- Amigable con el Medio Ambiente
- 2.- Fácil manejo y aplicación.
- 3.- No es tóxico.
- 4.- No produce Trihalometanos (moléculas cancerígenas)
- 5.- No deja olor ni sabor.
- 6.- No irrita y no desprende gases.
- 7.- Soluble en agua completamente.

Anexo 5:

Vernier de marca MITUTOYO Número de Modelo 500-157-30, con el estándar de calidad ISO 9001

**Mitutoyo**



Anexo: 6

## FOTOGRAFÍAS DURANTE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO



### Microbiología

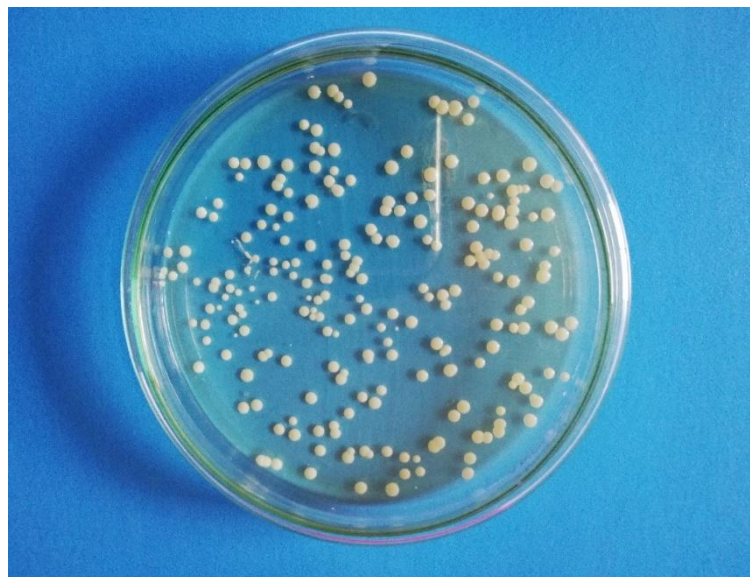
Sistema conteniendo cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Tubo de ensayo con medio de cultivo BHI, conteniendo la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 reactivada.



Placa de Petri con colonias típicas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en medio TSA, después de su reactivación.



Tubo conteniendo *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estandarizado a la concentración  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml



Frascos con Dióxido de cloro  
a diferentes concentraciones

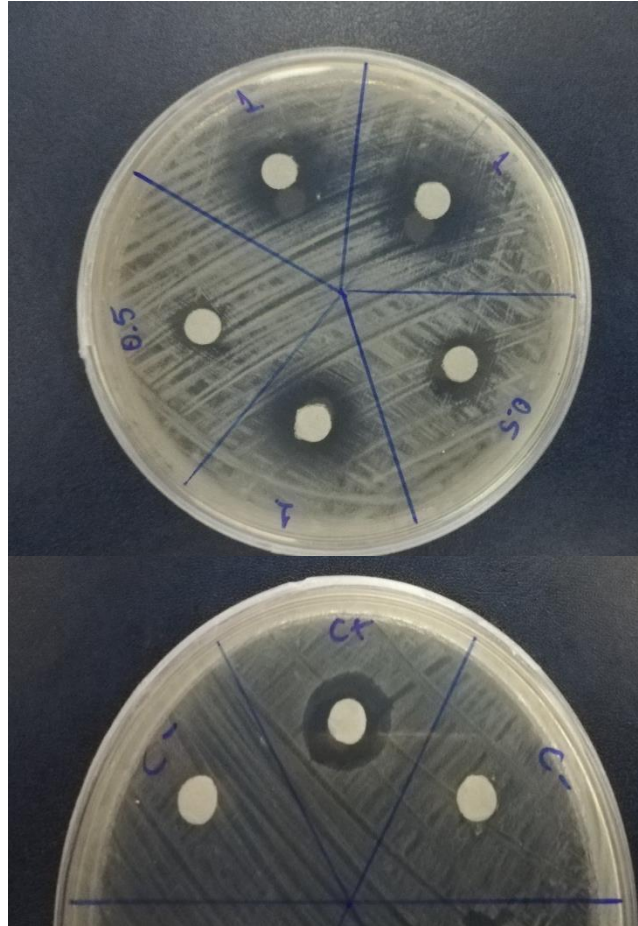


control negativo (Solución salina)

control positivo (Clorhexidina 0,1 2%).



Halos de inhibición del dióxido de cloro estabilizado al 0.5% y 1%, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Anexo: 7

**Tabla:** Prueba de normalidad, efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.

Repeticiones	Diámetro de halos de inhibición (mm)			
	Dióxido de cloro 0.5%	Dióxido de cloro 1.0%	Control Negativo (SSFe)	Gluconato de Clorhexidina 0.12%
1	8.7	15.8	0	15.2
2	9.3	15.3	0	15.2
3	9.1	13.6	0	17.8
4	11.5	12.9	0	17.1
5	12.3	12.8	0	15.8
6	10.5	14.4	0	16
7	10.1	15.2	0	15.4
8	10.3	14.8	0	16.2
9	11.9	14	0	16.4
10	11.4	13.3	0	15.8
11	9.8	15.6	0	15.6
12	10.3	15.8	0	16
13	10.4	16	0	15.2
14	10.7	13.4	0	16.1
15	9.8	13.6	0	15.4
<b>Promedio</b>	10.41	14.43	0.00	15.95
<b>p</b>	0.878	0.147	*	0.035
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	Normalidad	Normalidad		No Normalidad

\*El Control negativo (SSFe), ha sido desestimando, ya que es una constante.

**Interpretación:** Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro - Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que existe la prevalencia de los grupos de datos con una significancia mayor a 0.05 ( $p > 0.05$ ), y un grupo de datos con distribución no normal.

Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentaron una distribución normal.



Anexo: 8

## HOJA DE CONFLICTO DE INTERES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio titulado Efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones de dióxido de cloro estabilizado frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175,  
Trujillo – 2019



---

ESPINOLA BARRETO, JHANN IRWIN

DNI N° 76418322