



**Escuela Universitaria de Posgrado**

**“EDULCORANTE ESTEVIOSIDEO EN LA REDUCCIÓN DEL  
FACTOR DE RIESGO CARIOGÉNICO DEL STREPTOCOCCUS  
MUTANS EN LA POBLACIÓN PERUANA”**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
SALUD PÚBLICA**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:  
DOCTORA EN ODONTOLOGÍA**

**AUTOR:  
DÍAZ MENDOZA TANIA**

**ASESOR:  
DR. ROMAN MENDOZA LUPUCHE**

**JURADO:  
DR. PORTAL BUSTAMANTE, NEME  
DRA. PAUCAR RODRIGUEZ, ELIZABETH  
DR. OLIVA CHUMÁN, JOSÉ GILBERTO**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CARATULA.....	1
DEDICATORIA .....	6
AGRADECIMIENTOS .....	7
RESUMEN.....	8
SUMMARY .....	9
I. INTRODUCCIÓN .....	10
1.1. Planteamiento del Problema .....	11
1.2. Descripción del Problema .....	13
1.3. Formulación del Problema .....	14
- Problema General.....	14
- Problemas Específicos.....	15
1.4. Antecedentes .....	16
- Antecedentes Internacionales .....	16
- Antecedentes Nacionales.....	25
1.5. Justificación de la investigación .....	28
1.6. Limitación de la investigación.....	29
1.7. Objetivos de la investigación .....	30
- Objetivo General .....	30
- Objetivos Específicos.....	30
1.8. Hipótesis .....	30
II. MARCO TEÓRICO .....	31
2.1. Teorías Generales.....	31
2.2. Marco Conceptual .....	32
- 2.2.1. Edulcorantes .....	32
- Edulcorante Calórico.....	33
- Edulcorante no calórico.....	34
- 2.2.2. <i>Esteviosídeo</i> .....	34
- Fórmula.....	35
- Origen.....	35
- Propiedades.....	37
- Aplicaciones odontológicas .....	39
- 2.2.3. <i>Streptococcus mutans</i> .....	40
- Factores de cariogenicidad del <i>Streptococcus mutans</i> .....	44
III. MÉTODO .....	47
3.1. Tipo de Investigación .....	47
3.2. Población y muestra.....	47
3.3. Operacionalización de variables.....	48
3.4. Instrumentos .....	49
3.6. Análisis de datos .....	52
IV. RESULTADOS .....	54
4.1. Resultados del estudio.....	54
4.2. Contrastación de Hipótesis .....	58
4.3. Análisis e Interpretación .....	58

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	59
VI. CONCLUSIONES .....	66
VII. RECOMENDACIONES .....	67
VIII. REFERENCIAS .....	68
IX. ANEXOS.....	74
9.1. Validación y confiabilidad de instrumento .....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Operacionalización de las variables del estudio.....	48
<b>Tabla 2.</b> Comparación del efecto al 25 mcg. del <i>Esteviosídeo</i> : Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> . ....	54
<b>Tabla 3.</b> Comparación del efecto al 50 mcg. del <i>Esteviosídeo</i> : Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> . ....	55
<b>Tabla 4.</b> Comparación in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i> : Stevita 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> .....	56
<b>Tabla 5.</b> Comparación in vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> . ....	57
<b>Tabla 6.</b> Análisis estadístico de la contrastación de hipótesis: Prueba t de Student. ....	58
<b>Tabla 7.</b> Matriz de consistencia.....	75
<b>Tabla 8.</b> El edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevita y <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 25 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del <i>Streptococcus mutans</i> .....	82
<b>Tabla 9.</b> El edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevita y Stevia Vía 50 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del <i>Streptococcus mutans</i> .....	82

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Comparación del efecto al 25 mcg. del <i>Esteviosídeo</i> : Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> . .....	54
<b>Figura 2.</b> Comparación del efecto al 50 mcg. del <i>Esteviosídeo</i> Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> .....	55
<b>Figura 3.</b> Comparación in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i> : Stevita 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> .....	56
<b>Figura 4.</b> Comparación in vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> .....	57
<b>Figura 5.</b> <i>Esteviosídeo</i> : Stevita en polvo.....	77
<b>Figura 6.</b> <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía en polvo. ....	77
<b>Figura 7.</b> <i>Esteviosídeo</i> : Stevita 25 mcg. y/o 50 mcg. en polvo.....	78
<b>Figura 8.</b> <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 25 mcg. y/o 50 mcg. en polvo.....	78
<b>Figura 9.</b> Las placas con <i>Streptococcus mutans</i> y el edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevita 25 mcg. se observa menor concentración inhibitoria mínima ..	79
<b>Figura 10.</b> Las placas con <i>Streptococcus mutans</i> y el edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevita 50 mcg. se observa menor concentración inhibitoria mínima..	79
<b>Figura 11.</b> Las placas con <i>Streptococcus mutans</i> y el edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 25 mcg. se observa mayor concentración inhibitoria mínima.....	80
<b>Figura 12.</b> Las placas con <i>Streptococcus mutans</i> y el edulcorante <i>Esteviosídeo</i> : Stevia Vía 50 mcg. se observa mayor concentración inhibitoria mínima.....	80
<b>Figura 13.</b> Clorhexidina al 2%.. .....	81
<b>Figura 14.</b> Las placas con <i>Streptococcus mutans</i> y Clorhexidina al 2% se observa la concentración inhibitoria mínima.. .....	81

## **DEDICATORIA**

*A Dios.*

*Por brindarme la salud para lograr mis objetivos sobre todo en los instantes difíciles me han instruido a valorizar cada día más.*

*A mi madre*

*Por sus consejos, valores y la motivación constante que me ha permitido llegar a este momento tan maravilloso en mi vida.*

*A mi padre*

*Por haberme apoyado en todo momento, y motivarme a culminar mi carrera profesional.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Asesor de tesis.

Dr. Roman Mendoza Lupuche, gracias por su experiencia, tiempo y apoyo constante, así como por la sabiduría que me transmitió en el desarrollo de mi tesis.

Al Dr. Mauro Rivera Ramírez por impulsarme en el desarrollo de la investigación; a la Dra. Doris Otilia Medina Escobar por su dedicación y aliento para la culminación de este trabajo; a la Dra. Vicky Leonor Alata Linares por su tiempo compartido; al Mg. Jorge Luis Medina Gutiérrez por sus consejos durante toda la elaboración de esta tesis.

A Todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de la investigación.

¡Gracias a ustedes!

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana. **Materiales y métodos:** En el laboratorio de análisis Microbiológico se utilizó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 35668 y los edulcorantes de Stevita, Stevia via. En un medio de cultivo Mueller Hinton con sangre de carnero al 5% atmósfera con CO<sub>2</sub> en jarra de microaerofilia. Se hizo una suspensión de la cepa en suero fisiológico a una turbidez de la escala de McFarland, se sembraron en las placas en 3 direcciones por diseminación. Se preparó una solución del producto en agua destilada estéril, se hicieron pocillos de 6 mm de diámetro y se colocaron 100 ul de cada dilución. Se incubó a 35 °C por 24 y 48 horas. Se midió los halos con el calibrador Vernier. **Resultados:** La concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en 12 muestras con los edulcorantes Stevia Vía al 25 mcg. y 50 mcg. presenta una mayor concentración inhibitoria mínima con una media de 11.6 mm y 12 mm. Mediante la prueba t de Student se determinó el nivel de significancia (p<0.05) donde la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* de los edulcorantes *Esteviosídeo*: Stevia Vía fue de 25 mcg. y 50 mcg. encontrándose un p=0.01. **Conclusiones:** Hay evidencia que el uso del edulcorante Stevia Vía, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

**Palabras claves:** Edulcorante, *esteviosídeo*, factor de riesgo cariogénico, *Streptococcus mutans*.

## SUMMARY

Objective: To determine that the use of the sweetener *stevioside*, in its different levels of inhibitory concentration, reduces the cariogenic risk factor of *Streptococcus mutans* in the Peruvian population. Materials and methods: In the microbiological analysis laboratory, was used the strain *Streptococcus mutans* ATCC 35668 and the sweeteners Stevita and Stevia via. In a Mueller Hinton culture medium with a 5% CO<sub>2</sub> atmosphere of sheep's blood in a microaerophilic jar. A suspension of the strain was prepared in physiological saline at a McFarland scale turbidity, seeded on the plates in 3 directions by spread. A solution of the product was prepared in sterile distilled water, 6 mm diameter wells were made and 100 uL of each dilution were placed. It was incubated at 35 °C for 24 and 48 hours. The halos were measured with the Vernier caliper. Results: The minimum inhibitory concentration in the growth of *Streptococcus mutans* in 12 samples with the stevioside sweeteners: Stevia Via at 25 mcg. and 50 mcg. it has a higher minimum inhibitory concentration. The level of significance ( $p < 0.05$ ), the minimum inhibitory concentration in the growth of *Streptococcus mutans* in medium with the sweeteners *steviosides*: Stevia Vía at 25 mcg. was determined by Student's t test. and 50 mcg. It was found a probability of  $p = 0.01$ . Conclusions: There is evidence that the use of the sweetener *stevioside*: Stevia Vía, in its different levels of inhibitory concentration, reduces the cariogenic risk factor of *Streptococcus mutans* in the Peruvian population.

**Keywords:** Sweetener, *stevioside*, cariogenic risk factor, *Streptococcus mutans*.

## I. INTRODUCCIÓN

Se viene adicionando el uso de los edulcorantes como un suplemento de la sacarosa en el régimen de la alimentación diaria en los últimos tiempos. La utilización de estos suplementos ha sido muy inducida en las personas con prevalencia de la lesión cariosa, obesos y además diabéticos, estos son idóneos en transferir un gusto similar al azúcar el cual tiene propiedades de poder ser reemplazado como otros sustitutos con menor cariogenicidad, que son edulcorantes naturales habiéndose clasificado como edulcorantes no calóricos (*Esteviosídeo*), nos brinda la necesidad de disminuir la ingesta de sacarosa. Importantes análisis han evidenciado que la ingesta de sacarosa está relacionada con el desenvolvimiento de la progresión de la lesión cariosa (caries dental).

Algunos edulcorantes, son mal metabolizados por las bacterias bucales que disminuyen la formación de los ácidos a diferencia de la sacarosa. Ciertos edulcorantes incluso reducen el metabolismo y crecimiento bacteriano del *Streptococcus mutans*, que es considerado como el agente iniciador de la lesión cariosa en la superficie lisa de las piezas dentarias.

La lesión cariosa es considerada como una enfermedad que está condicionada a los hábitos de la alimentación que se describe con la costumbre de la cantidad y además del tipo de alimentos que regularmente el individuo ingiere durante el día. Se debe considerar que, al mismo tiempo que la ingesta en la comida de la sacarosa, existen otros componentes propios de cada persona que con lleva a la variación del crecimiento bacteriano en el cavidad bucal. Es importante evaluar los factores etiológicos y factores de defensa para valorar el equilibrio de la cavidad bucal cuando determinamos el potencial cariogénico de la dieta diaria y así poder proyectarnos a la presencia o

ausencia de las enfermedades. Por lo tanto, se debe reflexionar qué patrón de alimentación consume una persona y además la frecuencia del consumo.

Debido a la escasez de estudios microbiológicos de *Streptococcus mutans* con diversos edulcorantes de comercialización en mercado peruano, esta investigación se evaluó de qué modo el uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana. De esta manera se informara a la población para que tenga la posibilidad de usar en la dieta diaria un edulcorante que le proporcione mejoras en la prevención de la salud bucal y así erradicar o reducir los factores cariogénicos.

### **1.1. Planteamiento del Problema**

El diseño del problema que origina la investigación consiste que actualmente los índices de la lesión cariosa (caries dental) se vienen incrementado a nivel mundial, debido a que muchos de los productos que consumimos contienen en su valor nutricional alto nivel de azúcar, lo cual conlleva a seguir incrementando dicha enfermedad en la población.

Por lo tanto muchos investigadores a nivel mundial se vienen preocupando por dicho problema, comenzando a generar nuevos enfoques u opciones como es el uso de edulcorantes en nuestra vida cotidiana. De acuerdo a las diversas investigaciones de Shinde, Winnier, (2020), el cual realizó estudios de los diferentes edulcorantes de tipo no calóricos: *Esteviosídeo* y calóricos para así evaluar las ventajas que nos puede brindar cada uno de ellos, para ser utilizados como parte de nuestra dieta el cual nos informa que el *Esteviosídeo* reduce el número del recuento salival del *Streptococcus mutans*. Adicionalmente nos informa que el aumento del flujo evitara que se adhiera la bacteria y por lo tanto el aumento del pH salival, eso ayudara al efecto anticariogénico.

Aunque también existen nuevos enfoques respecto a la acción del *Streptococcus mutans*, que es el microorganismo bacteriano iniciador de la lesión cariosa (caries dental) que cuando es usado el edulcorante no calórico *Esteviosídeo* como lo menciona Escobar, Piedrahita, Gregory, (2020), advierte que hay una disminución de la producción del ácido de la bacteria.

De acuerdo Abdel, Niazy, Elsharkawy, (2020), es importante evaluar el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población que cuando es consumido el *Esteviosídeo*: *Stevia* nos brinda un valor como agente no cariogénico y además como agente antibacteriano el cual nos permitirá reducir el índice de la lesión cariosa en la población.

Por lo cual las pesquisas de Siraj, Pushpanjali, Manoranjitha, (2019), con respecto al microorganismo del *Streptococcus mutans* menciona que después del consumo de *Esteviosídeo*: *Stevia*, existe poca producción de subproductos fermentables que afectarían a la superficie del esmalte y así favorecen a prevenir la lesión cariosa.

Por otro lado a nivel nacional preocupados por la reducción del factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*, la cual es considerada como una de las enfermedades más prevalentes de la cavidad bucal. En la búsqueda de disminuir el índice de lesión cariosas (caries dental) en la población peruana, surgen diversas inquietudes a investigar como el de Pairazaman, Ríos, (2020) quienes lograron encontrar el efecto inhibitorio del *Streptococcus mutans* y el potencial acidogénico del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* la cual evita el desarrollo de los polisacáridos extracelulares insolubles del *Streptococcus mutans*.

Al respecto Gómez (2017), nos informa que los enjuagatorios con esencia de extractos de *Stevia rebaudiana* influyen en el pH salival conservando un pH neutro esto sería importante porque nos brinda un beneficio de tampón buffer por lo cual se evita el proceso de desmineralización y remineralización de la superficie del diente, estando de acuerdo con Roncalla, (2017), que concluyó que la Stevia produce mayores cambios en el pH salival.

Además en la actualidad existen pocos estudios microbiológicos del *Streptococcus mutans* con los diversos edulcorantes no calóricos *Esteviosídeo*, ya que actualmente se viene incrementado el aumento del índice de caries dental en la población peruana por lo cual nos interesa encontrar una solución frente a este gran problema por eso se formula el problema a investigar.

## **1.2. Descripción del Problema**

El problema que motiva la investigación consiste en la presencia del aumento de la prevalencia de caries dental en toda la población peruana, el cual ha constituido un tema polémico y controvertido desde hace mucho tiempo respecto a la correlación de la lesión cariosa (caries dental) con múltiples factores etiológicos de diversa complejidad como el factor dietético. Los individuos diabéticos, obesos y con lesiones cariosas utilizan de manera oportuna el uso de los edulcorantes como suplemento del azúcar en su régimen nutricional de manera diaria, distinguiéndose que se ha incrementado el uso del *Esteviosídeo* frente a la necesidad de reducir la ingesta de la sacarosa, además en la actualidad en la área dietética su uso es considerado de forma cotidiana.

Se emplea frecuentemente en diferentes alimentos los hidratos de carbono y la sacarosa estos son los que tiene mayor capacidad cariogénica. Entonces, el uso de sacarosa en el régimen nutricional actualmente se ha relacionado con el aumento de

prevalencia de la lesión cariosa (caries dental); hay varias pruebas que demuestran que la ingesta habitual de productos que contienen azúcar, a menudo, ocasionan una mayor actividad de lesión cariosa (caries dental), los balances de eventos bioquímicos desarrollados se inician del metabolismo de los microorganismos del azúcar está influido por componentes complejos que contienen los mecanismos preventivos o iniciadores de la lesión cariosa que los hallan en los alimentos. La formación de esta se ha asociado con el *Streptococcus mutans*, microorganismo que utiliza a la sacarosa, carbohidratos procedentes de la dieta para la ejecución de su metabolismo del cual implican subproductos acidogénicos como también toxinas.

La explicación actual permite afirmar que, si bien el asesoramiento dietético es útil, para encontrar la ventaja de la colectividad de la población en el edulcorante *Esteviosídeo* resulta hoy alentador debiendo incentivar su consumo promoviendo su propiedad anticariogénica. Debería impulsarse el uso de edulcorantes en las golosinas infantiles comerciales en el mundo. De esta manera es importante incentivar la investigación en busca de nuevas sustancias que no sean metabolizadas en ácido láctico por el *Streptococcus mutans*.

En la actualidad son pocos los estudios microbiológicos del *Streptococcus mutans* con diversos edulcorantes, ya que actualmente se viene incrementado el aumento del índice de caries dental en la población peruana por lo cual surge la formulación del problema.

### **1.3. Formulación del Problema**

#### **- Problema General**

¿De qué modo el uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

## - Problemas Específicos

-¿De qué manera el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita 25 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

-¿De qué manera el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevia Vía 25 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

-¿De qué manera el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita 50 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

-¿De qué manera el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevia Vía 50 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

-¿De qué manera el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita y Stevia Vía a una cantidad 25 mcg. y 50 mcg. reduce la concentración inhibitoria mínima, en el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana?

## 1.4. Antecedentes

### - Antecedentes Internacionales

Shinde, Winnier, (2020), en su investigación evaluó el recuento salival del *Streptococcus mutans* con la eficiencia de goma de masticar con Xilitol y Stevia. La muestra aleatoria triple ciego, para el grupo clínico I (goma de masticar con Xilitol) y para el grupo clínico II (goma de masticar con Stevia) para ambos grupos estaba constituido por niños de 8 a 13 años con índice CPOD  $\geq 3$ , se recolectó para la prueba salival al inicio de investigación, saliva no estimulada, luego saliva a los 15 minutos y finalmente a 1 hora. Los resultados que se encontraron fueron una gran reducción del recuento salival del *Streptococcus mutans* desde la saliva recolectada a los 15 minutos y 1 hora para ambos grupos fue estadísticamente significativa. Se concluye la reducción del recuento salival del *Streptococcus mutans* para ambos grupos de goma de masticar con Xilitol y Stevia.

Escobar, Piedrahita, Gregory, (2020), en su investigación tuvo como objetivo determinar la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración inhibitoria mínima de biopelícula (MBIC) del *Streptococcus mutans* UA159 y el pH. La muestra se realizó el crecimiento in vitro del *Streptococcus mutans* UA159 con las diferentes diluciones de Stevia (0-400mg/mL) por 72 horas, se utilizó caldo de soja trípico (TSBS) con 4 g. de Stevia. Los resultados del *Streptococcus mutans* fueron que no se eliminaron en ninguna de las diversas concentraciones, se encontró un (MIC) de 25 mg/mL y la (MBIC) formación de biopelícula se reduce al 6.25 mg/mL, la Stevia en diversas concentraciones se encontró el aumento del pH. Se concluye la disminución de la producción del ácido y (MBIC) producto del *Streptococcus mutans* con Stevia.

Abdel, Niazy, Elsharkawy, (2020), en la investigación científica, tuvo como finalidad establecer la acción antibacteriana de la esencia de la cáscara de granada, jengibre y té verde en relación con la Stevia, clorhexidina y sacarosa. La muestra fue extraer el alcohol etílico los extractos naturales de cáscara de granada, jengibre y té verde. Se confrontaron con clorhexidina sin utilizar azúcar, sacarosa o Stevia. Además, se identificó y aisló el *Streptococcus mutans* obtenida de dientes molares cariados en la superficie de la dentina. En relación antibacteriana se evalúa por la zona de inhibición para evaluar la concentración inhibitoria mínima por el procedimiento de difusión de pocillos de agar, mediante un método de micropocillos MTT, para evaluar el recuento bacteriano y actividad metabólica. Como consecuencia el efecto antibacteriano del *Streptococcus mutans* fue más significativo con Stevia, clorhexidina, cáscara de granada y jengibre hubo un menor efecto significativo con el té verde, en medio sin/con azúcar. Se encontró el nivel de significancia  $p \leq 0.05$ . Concluyéndose que la relación con Stevia se puede valorar como agente no cariogénico y como agente antibacteriano a los extractos de cáscara de granada, jengibre, té verde en relación con el *Streptococcus mutans*.

Shinde, Winnier, (2020), en su investigación tuvo como finalidad evaluar los resultados de los chicles con Stevia, Xilitol, aceptación del sabor, flujo salival y pH. La muestra fue de 20 niños con edades de 8 a 13 años, con índice CPOD  $\geq 3$  (cariados, perdidos, obturados), aleatoria triple ciego, para el grupo clínico I (goma de masticar con Xilitol) y para el grupo clínico II (goma de masticar con Stevia) para ambos grupos, se recolectó para la prueba salival (saliva no estimulada), luego saliva estimulada durante 15 minutos y otra finalmente a 1 hora. Se analizó la prueba de rango con signo de Wilcoxon y  $p \leq 0.05$  se valoró estadísticamente significativo. Como consecuencia el pH salival presentó una reducción para el grupo I ( $p=0.001$ ), con la saliva recolectada a los 15 minutos, para el grupo II ( $P=0.003$ ) con la saliva estimulada de 15 minutos a 1 hora. Para el ensayo cruzado para el grupo I una reducción para el grupo I ( $p=0.020$ ), con la saliva no estimulada que se recolectó hasta los 15 minutos, ( $p=0.003$ ) con la saliva estimulada de

15 minutos a 1 hora, para el grupo II ( $p=0.001$ ). Presenta un flujo salival aumentado para el grupo I ( $p=0.001$ ). y grupo II ( $p=0.003$ ). Para el ensayo cruzado el flujo salival aumentado para el primer grupo I ( $p=0.001$ ), y el segundo grupo II ( $p=0.020$ ). Se concluye que es más aprobada en los niños el Xilitol a diferencia de la Stevia debido a su amargor es menos aceptada. además, presenta un aumento del flujo y pH salivales los chicles con Xilitol y Stevia.

Ganter, Hellwing, Doerken, Ahmad, (2019), el artículo de investigación titulada, tuvo como finalidad evaluar in vitro los microorganismos patógenos cariogénicos frente al edulcorante comercial rebaudiosido A, Xilitol y sacarosa. La muestra está constituida por *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* y *Candida albicans*, se colocó en medios de cultivo con Rebaudiosido A, Xilitol y sacarosa que contengan una sola fuente de carbono para evaluar el pH por un tiempo de 10 horas. Las consecuencias del crecimiento del *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* y *Candida albicans*, fue significativamente bajo y así también para el pH salival con sacarosa. A diferencia para los edulcorantes rebaudiosido A, Xilitol no presentaron niveles significativos. Se concluyó que el rebaudiosido A no modifica el sistema de tampón buffer por lo tanto no presenta una desmineralización. La inhibición del *Streptococcus mutans* es mayor en el Xilitol que el rebaudiosido A, a diferencia del *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* y *Candida albicans* es menor con rebaudiosido A y Xilitol.

Siraj, Pushpanjali, Manoranjitha, (2019), en su investigación científica tuvo como objetivo evaluar clínicamente el extracto de hojas de *Stevia* y producto de *Stevia* con el pH de placa dental en contraste con la sacarosa. La muestra está constituida por 22 voluntarios, se evaluó el pH basal, se preparó enjuagatorio al 0.2% del extracto de hojas de *Stevia* para luego evaluar el pH durante 5, 10, 15 y 30 minutos después de la aplicación del

enjuagatorio durante 1 minuto. Posteriormente después de 2 días se realizó con los otros enjuagatorios con el producto de *Stevia* al 1% y sacarosa al 10%. Se valió de la prueba de varianza (ANOVA) y test HSD-Turkey, el nivel de significancia  $p < 0.05$ . Los efectos del enjuagatorio al 0.2% del extracto de hojas de *Stevia*, el producto de *Stevia* al 1% y sacarosa al 10%, durante 5, 10, 15 y 30 minutos para evaluar el pH de placa dental ( $p < 0.000$ ) existió diferencia significativa. Con la prueba HSD post hoc de Turkey se encontró significativamente ( $p < 0.000$ ) valores medios del pH de placa dental para la sustancia de hojas de *Stevia*, producto de *Stevia* y sacarosa. Se concluye que no influye significativamente en el pH de la placa dental, el extracto de hojas de *Stevia* y producto de *Stevia*, por tanto, no apoyan a la supervivencia del microorganismo bacteriano, producen pocos subproductos fermentables.

Abdul, et al. (2017), en su investigación tuvo como propósito valorar el efecto de los edulcorantes Equal Stevia®, Tropicana Slim®, Pal Sweet® y Xilitol sobre la actividad de formación de matriz del biofilm de placa en las etapas iniciales y establecidas de la formación. La muestra que se utilizó fue perlas de vidrio recubiertas de saliva (sGB) como sustrato para la adhesión de una suspensión bacteriana mixta de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus mitis*. Los biofilms formados en sGB a las 3h y 24h representaron los modelos de placa temprana y establecida. Las biopelículas se expusieron a tres dosis de los edulcorantes (10%), introducidos a tres intervalos para simular la exposición de la placa dental al azúcar durante tres ingestas de alimentos consecutivas. Las sGB tratadas fueron unas examinadas bajo el SEM (Scanning Electron Microscope) y otras recolectadas para la lectura de turbidez. La absorbancia indicó la cantidad de masa de placa producida. El análisis se realizó comparativo a la sacarosa como control. Los resultados que se encontraron son que la mayor adherencia bacteriana es durante las primeras fases en comparación con las fases establecidas de formación. La muestra de control (sacarosa) presentó una adherencia bacteriana mayor al 40% y placa bacteriana del 70% más que los

edulcorantes investigados. En la fase temprana de formación con edulcorantes no mostraron recuentos de bacterias y las micrografías SEM y mostraron ausencia de matriz en todas las biopelículas tratadas. En la fase establecida se encontró la presencia de matriz, pero en un grado significativamente menor en comparación con la sacarosa ( $p < 0.05$ ). Se concluye que presenta una menor adherencia bacteriana y la formación de biopelículas orales y se utilizaría con un agente antiplaca con los edulcorantes de la investigación.

Vandana, et al. (2017), en su investigación buscó establecer la validez de la *Stevia* como un enjuagador bucal diario entre los escolares de 12 a 15 años en el distrito de Nellore, Andhra Pradesh. La muestra de ensayo aleatorizado, triple ciego y controlado entre 108 niños en la escuela; los cuales estuvieron ordenados al azar en 4 equipos de 27 niños, con cuatro enjuagues bucales compuestos de gluconato de clorhexidina al 0.2%, se proporcionó fluoruro de sodio al 0.05%, *esteviósido* al 10.6% y placebo a los participantes del estudio. Se utilizaron para evaluar la condición oral, el índice de placa bacteriana, el índice gingival y el Sistema Internacional de Detección y Evaluación de Caries (ICDAS) II, el enjuague bucal se realizó durante seis meses. Los resultados del grupo C mostraron una reducción máxima del 8% y el 10% de placa bacteriana y el índice gingival, en el grupo A, B y el D mostraron un aumento de 1.5% y 1.8% en placa bacteriana e índice gingival, el análisis de las puntuaciones de ICDAS a los seis meses indicaron que los valores registrados eran los mismos que los valores iniciales para los tres grupos, excepto en el D, hubo un aumento en la prevalencia de la lesión cavitada de 2-6 de 5.6% a 5.8%. Se concluye que las propiedades antiplacas y antigingivitis muy potentes con *Stevia* en comparación con otros enjuagues bucales al final del estudio de seis meses.

Muñoz, Guevara, (2017), cuya investigación tuvo como objetivo la inhibición del incremento bacteriano de *Streptococcus mutans*, in vitro, por medio de la sustancia hidroalcohólico de *Stevia*, se utilizaron controles positivos de Clorhexidina al 0.12% y

control negativo suero fisiológico, se ejecutó un estudio experimental donde se efectuaron 15 repeticiones para cada extracto en 25%, 50%, 75% y 100%. Se incluyeron cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se ejecutó la rehidratación del medio con TSB (Tryptic Soy Sooth), se realizó un procedimiento de instalación y se incubó al 37 °C durante 48 h, con disco de papel de filtro por cada uno de los extractos. Los resultados fueron que halos de inhibición con el extracto de *Stevia* al 25% y 50% no presentó y al 75% presenta el halo de inhibición de 6,47 mm y al 100%, un halo de inhibición del 9,33 mm. Se concluye que la sustancia de *Stevia* en los diferentes resultados sobre el *Streptococcus mutans* no presenta un efecto inhibitorio, por lo tanto no se propone el uso antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans*.

Kishta, Neiva, Boynton, Kim, Fontana, (2016), en su investigación científica tuvo como motivo precisar el efecto de la *Stevia* en el desarrollo de caries dental cuando se incorpora a una dieta cariogénica en un modelo de caries microbiana controlada. La muestra se dividió en 56 dientes bovinos (4x4mm) en cuatro grupos. Todos los recipientes se colocaron en un agitador eléctrico dentro de una incubadora a 37 °C. Fueron inoculadas con *Streptococcus mutans* y se expusieron durante cuatro días a ciclos movibles de caldo de soja tríptico agregado con 5% de sacarosa-TSBS (3x/día) y una solución de lavado mineral. Entre el medio de los ciclos de TSBS (3x/día), cada grupo recibió una de cuatro soluciones experimentales: control negativo de PBS (tampón fosfato), sustancia de *Stevia* al 0,5%, solución de *Stevia* y Xilitol al 5%. El desenvolvimiento de la lesión cariosa se analizó utilizando la dureza de la superficie del esmalte. La diferencia en la dureza de Vickers entre el tratamiento previo y el posterior se calculó para determinar el desarrollo de caries dental. La placa se desprendió de seis muestras por grupo y se calcularon las UFC/ml. Los datos se analizaron utilizando Anova y el nivel p=95%, y las discrepancias de los grupos individuales se calcularon con la prueba de Tukey. Los valores fueron el 5% de Xilitol presenta menor de placa en comparación con PBS y 5% de *Stevia*, pero no significativamente diferente al 0.5% de

*Stevia*. Se concluye que la *Stevia* al 5% tuvo lesiones significativamente más suaves a diferencia de los otros grupos, mientras tanto no hubo discrepancias significativas en las puntuaciones de dureza entre el 5% de Xilitol, el 0.5% de *Stevia* y la PBS.

Junca, (2016), en su investigación evaluó el extracto de la *Stevia rebaudiana* con el conjunto de bacterias que son susceptibles a su composición, la muestra fue aplicar el mismo cultivo in Vitro, para demostrar que bacterias encargadas en generar la enfermedad gingival y avance de la lesión cariosa lograra evaluar el aspecto bactericida y bacteriostática frente a las bacterias identificadas con estas enfermedades, en comparación con la esencia del extracto de *Stevia rebaudiana* van a desarrollar un bajo potencial acidogénico con la disminución de la elaboración de los ácidos bacterianos juntamente un menor efecto en la desmineralización del esmalte con una pérdida del desarrollo de polímeros insolubles bacterianos. Los resultados del extracto de *Stevia rebaudiana* reveló un gran decrecimiento de las bacterias representantes de la iniciación o desarrollo de la enfermedad periodontal y de la presencia de la caries dental, además encontrándose como resultado bacteriostático contra a los microorganismos relacionados con la placa dental, se concluyó que el uso rutinario de la esencia de *Stevia rebaudiana* para prevenir el desenvolvimiento de la caries dental.

López, Cevallos, Santana, (2015), en su investigación determino las diferencias del pH salival, después del consumo de café natural (pasado) y procesado (instantáneo) dulcificados con azúcar morena y *Stevia* donde se evaluó la asociación a la caries dental. La muestra de la investigación fue analítica, experimental y comparativa, de 75 personas con rangos (15 y 17 años de edad), fue distribuido en 5 grupos cada grupo con 15 personas, distribuidos en grupos inicio del consumo de café, durante y final de la ingesta se ejecutaron controles del pH salival, con tiras de papel colocadas en la cavidad bucal, se realizó la evaluación de valores por la prueba de ANOVA y además con Scheffe y Friedman, al inicio, durante y al final de la ingesta se evaluaron los pH salivales, el

resultado se comparó con las diferenciaciones del pH para un grupo a lo largo del tiempo, se estableció que para ambos grupos no presenta diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) por lo cual el grupo con café instantáneo con sustituto de *Stevia* establece diferencias significativas durante el tiempo de estudio ( $p < 0.05$ ). Se concluye que la ingesta de café natural y café procesado impacta a la variación del pH salival, independiente al reemplazo del azúcar. Al confrontar los valores del grupo experimental no se hallaron discrepancias significativas en el pH. Se concluyó que se obtuvo mayor diferenciación del pH salival con el café instantáneo dulcificado con *Stevia*, teniendo el mayor riesgo para la iniciación de la producción de lesión cariosa.

Ajagannanavar, et al. (2014), en su investigación tuvo como objetivo comparar la eficiencia de la esencia acuosa y alcohólica de *Stevia rebaudiana* contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* en comparación con la clorhexidina. La muestra fue en preparar varias concentraciones de extracto de *Stevia* acuosa y etanólica en el laboratorio del Colegio de Farmacia. Luego se sometió a un ensayo microbiológico para determinar su zona de inhibición mediante la prueba de difusión en disco de agar y la concentración inhibitoria mínima utilizando la técnica de dilución en serie de caldo contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Se utilizó clorhexidina como el control positivo. El análisis de varianza de una vía (ANOVA) se usó para comparaciones de múltiples grupos seguidas por Tukey post hoc para comparaciones de grupos. Concluyéndose que la concentración inhibitoria mínima de la esencia de *Stevia* acuosa y etnólica contra el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* fue del 25% y 12.5%. La zona media de inhibición de la esencia de *Stevia* acuosos y alcohólicos contra el *Streptococcus mutans* a las 48 horas fue de 22.8 mm y 26.7 mm. La zona media de inhibición de la esencia de la *Stevia* acuosa y alcohólica contra *Lactobacillus acidophilus* a las 48 h fue de 14.4 mm y 15.1 mm. La zona media de inhibición de la clorhexidina contra el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* a las 48 h fue de 20.5 mm y 13.2 mm. Se concluye que los valores inhibitorios mostrado por la esencia de *Stevia*

alcohólica contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* fue superior cuando se comparó con él de forma acuosa y fue inferior cuando se comparó con la clorhexidina.

Brambilla, Cagetti, Ionescu, Campus, Lingström, (2014), en su investigación tuvo como finalidad valorar el efecto de la esencia de *Stevia* con *Streptococcus mutans* in vitro. La muestra fue la formación de biopelículas y el pH de la placa in vivo. Se prepararon 3 soluciones al 10% que contenían Esteviósido Rebaudiósido A ó sacarosa. El ensayo MTT se utilizó para evaluar los recuentos microbiológicos in vitro. Los 20 voluntarios se enjuagaron durante 1 min con cada solución y se midió el pH de la placa en 7 puntos de tiempo después de cada enjuague. Los resultados fueron una mayor formación de biopelículas de *Streptococcus mutans* in vitro en solución de sacarosa ( $p < 0.01$ ). Después de 5, 10, 15 y 30 min, el enjuague de sacarosa in vivo produjo un valor de pH estadísticamente significativamente más bajo en comparación con los extractos de *Stevia* ( $F=99.45$ ,  $p < 0.01$ ). Se concluye que el extracto de *Stevia* puede ser considerado no cariogénico.

Giacaman, Campos, Muñoz-Sandoval, Castro, (2013), en su investigación tiene como propósito evaluar los diversos edulcorantes en la desmineralización de la superficie del esmalte y su consecuencia cariogénica del *Streptococcus mutans* biopelículas en un prototipo de caries artificial. La muestra fue de una biopelícula de *Streptococcus mutans*-UA159, se procedió a sembrar en láminas de esmalte de bovino y expuesto a los siguientes edulcorantes en tipo de pastillas o polvo: Sacarina, sucralosa *Stevia*, aspartamo o fructosa. La sacarosa 10% y 0.9% de NaCl se utilizaron como controles positivos caries dental y caries dental-negativos. Los biofilms se expusieron a los edulcorantes 3 veces por día durante 5 min cada vez. Después de 5 días, se recuperaron las biopelículas para determinar la biomasa, los recuentos bacterianos, polisacáridos intracelulares y extracelulares. La microdureza de la superficie se midió antes y después del experimento para evaluar la desmineralización del esmalte, expresado como

porcentaje (% SHL) de pérdida de dureza de la superficie. La información se analizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) y Bonferroni ( $p < 0.05$ ). Los resultados fueron que los edulcorantes comerciales probados, excepto fructosa, mostraron menos desmineralización del esmalte que la sacarosa ( $p < 0.05$ ). Sólo sacarina mostró menos que los otros edulcorantes en presencia de biomasa y polisacáridos intracelulares ( $p < 0.05$ ). *Stevia*, sucralosa y sacarina disminuyó la cifra de células posibles en paralelo con sacarosa ( $p < 0.05$ ). Todas las alternativas de azúcar reducen la formación de polisacárido extracelular en comparación con sacarosa ( $p < 0.05$ ). Se concluye que los edulcorantes comerciales son menos cariogénicos que la sacarosa, además conserva una muestra de la desmineralización del esmalte. Se cree interferir con el metabolismo bacteriano los edulcorantes de *Stevia*, sucralosa y sacarina mostraron propiedades antibacterianas.

#### - **Antecedentes Nacionales**

Pairazaman, Ríos, (2020), en su investigación titulada tuvo como finalidad determinar sustancia etanólico de *Stevia rebaudiana* frente a los componentes de virulencia cariogénicos *Streptococcus mutans* ATCC 25175, así como también evaluar el extracto *Stevia rebaudiana* en diversas concentraciones para determinar el potencial acidógeno. La muestra se evaluó utilizando el método fenol-ácido sulfúrico para evaluar la formación de polisacáridos insolubles y el efecto del potencial acidógeno antes y después de la incubación. La prueba de varianza, estudio post hoc con verificación de Turkey se tuvo menor efecto de la sustancia etanólico de *Stevia rebaudiana* con concentraciones de 50%, 75% que desarrollaron los polisacáridos extracelulares insoluble, en comparación con la de 1.07%, 5%, 10% y 25%. En relación con el potencial acidogénico que presentó de manera descendente el menor efecto fue de 25%, 50%, 75% y 5%, 50%, 75%, se encontró significativamente ( $p < 0.05$ ). Se concluyó que posee efecto inhibitorio y sobre

potencial acidogénico extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* y desarrolla los polisacáridos extracelulares insoluble del *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Gómez, (2017), en su investigación tuvo como objetivo estimar la atribución de los enjuagatorios de *Stevia rebaudiana* y Xilitol en el pH salival, con la dieta de alimentos al inicio y al final, se observó la muestra de los rangos de pH salival se organizó en 3 grupos de cada grupo 60 niños de ambos géneros: grupo A (control), grupo B (enjuagatorio esencia de *Stevia rebaudiana*), grupo C (enjuagatorio a esencia Xilitol). El prototipo se realizó en base a 2 variables cuantitativas  $E/S=1$ ,  $\alpha=0.05$  y  $\beta=0.80$ . La técnica experimental fue en valorar los pH salival al inicio y al final de la dieta, primero se uso enjuagatorios con esencia de *Stevia* y Xilitol, durante interrupciones de 5, 20 y 40 min. Se uso el cheker hanna instruments para el pHmetro digital. Se realizaron las similitudes del pH salival en relación del enjuagatorio. Los valores de pH salival al inicio de la dieta del grupo A (control) 7.05 pH, el B (*Stevia*) 7.29 pH y el C (Xilitol) 7.21 pH, se encontró en todos los grupos los valores considerados pH neutros. Los valores de pH salival al final de la dieta del grupo A (control) a los 5 / 20 / 40 min 6.21 / 6.74 / 7.07 pH, con los considerados neutros; el B (*Stevia*) a los 5 / 20 / 40 min 7.45 / 7.48 / 7.48 pH y el C (Xilitol) a los 5 / 20 / 40 min 7.06 / 7.09 / 7.16 pH, se encontró en todos los valores considerados de pH neutros. Se concluye que el enjuagatorio a esencia de extractos de *Stevia rebaudiana* y Xilitol influye en el pH salival conservando en un pH neutro y con proyección de pH alcalino después de la dieta durante 40 min.

Roncalla, (2017), en su investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del endulzante natural *Stevia* y artificial Splenda sobre el pH salival, comparar el pH a los 15 y 30 min después de la ingesta. La muestra fue experimental, con diseño prospectivo, longitudinal, comparativo en una población de 25 estudiantes. El método fue la observación con la ficha de recolección de datos. El procedimiento se inició con la recolección de saliva en los laboratorios de la Universidad, se realizaron dos sesiones

con un intervalo de 2 días, se tomaron tres muestras de saliva por sesión, la primera 15 min después del cepillado; la segunda 15 min después de ingerir el endulzante natural *Stevia* y la tercera, 30 min después de ingerirlo, para la segunda sesión se realizaron los mismos procedimientos con el endulzante artificial Splenda. Los resultados fueron después de la ingesta del endulzante natural *Stevia* a los 15 min fue de 7.01 pH y Splenda de 7.29 pH; se encontraron diferencias estadísticamente significativas, es decir, en el grupo de *Stevia* tiende a disminuir más el pH salival. A diferencia luego de la ingesta de los 30 min del grupo de *Stevia* fue 7.47 pH y el Splenda de 7.37 pH, entre ambos grupos no se encontraron diferencias significativas. Se concluyó que la *Stevia* produce mayores cambios en el pH salival respecto a la Splenda.

Becerra, (2016), en su pesquisa tuvo como finalidad establecer la acción antibacteriana in vitro del colutorio bucal preparado con esencia de extracto etanólico de hojas de *Stevia rebaudiana* frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El modelo fue experimental, la fabricación de un colutorio bucal de 6 concentraciones de etanol al (70° y 30°), se agregó con solventes de esencia de hojas frescas de *Stevia rebaudiana*, se logró mediante la técnica de dilución en caldo y agar se obtuvo la CMI. Con relación al efecto bactericida fue utilizado el ensayo de difusión de discos de Kirby y Bauer. Las conclusiones de los estudios lograron elegir a la concentración inhibitoria mínima en 1,07 mg/mL con el enjuagatorio bucal a esencia de *Stevia rebaudiana* con etanol al 70° y la concentración en 2,14 mg/mL, con etanol al 30° ( $p > 0.05$ ). Mientras tanto, la CMB a 75mg/mL con el colutorio bucal desarrollado con etanol al 70°; fue una estimación nula con etanol al 30° ( $p < 0.01$ ). Concluyéndose que el enjuagatorio bucal con esencia de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* tiene un resultado antibacteriano al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Pérez, (2013), en su investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la sustancia etanólicas de las hojas de *Stevia rebaudiana* frente a la actividad antibacteriana del

*Streptococcus mutans* ATCC 25175. El tipo investigación fue experimental in vitro. Se realizaron 6 muestras los extractos etanol con las hojas frescas de *Stevia rebaudiana* concentraciones del 70 cc y 6 muestras los extractos etanol con las hojas frescas de *Stevia rebaudiana* concentraciones de 30 cc. La concentración inhibitoria mínima se consiguió a través del procedimiento de dilución en caldo y agar, la difusión de discos de Kirby y Bauer para determinar el efecto bactericida. Los resultados se desarrollaron en 3 pruebas elaborados con 12 concentraciones del extracto de etanol *Stevia rebaudiana* a 70 cc para establecer la concentración inhibitoria mínima en 1,07mg/mL y del extracto de etanol de *Stevia rebaudiana* a 30 cc para evaluar la CMI de 4,28mg/mL, también para establecer la concentración mínima bacteriana (CMB) en 12 concentraciones del extracto de *Stevia rebaudiana* conteniendo un 10mg/mL del extracto de etanol de *Stevia rebaudiana* a 70 cc, como las concentraciones de la sustancia de *Stevia rebaudiana* a 30 cc conteniendo un 42,8mg/mL, encontrándose ( $p < 0.01$ ). Se concluye que posee un efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana*.

### **1.5. Justificación de la investigación**

La investigación nos brindara una evidencia que nos ayudara a resolver los problemas de nuestra población brindando justificación práctica como el consumo de algunos productos no calóricos (*Esteviosídeo*) porque puede ser reemplazados por el azúcar (sacarosa), para así evitar los efectos cariogénicos en la superficie dental ya que es importante utilizar porque nos brinda un mayor beneficio para nuestra salud bucal. Por tanto reducir los altos índices de la lesión cariosa (caries dental) que presentan nuestros pacientes en la consulta odontológica, y adicionalmente un beneficio nutricional para la salud. Además brindara una gran impacto a nuestra sociedad ya que bajarían los índices de *Streptococcus mutans* en la cavidad bucal.

Por otro lado nos ofrece un beneficio económico debido a que el costo es accesible para las personas y mejoraría su economía familiar.

En base a la justificación teórica de la caries dental, se debe a los procesos de desmineralización y remineralización de las superficies del diente en la población tendrá la posibilidad de reducir y erradicar el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* mediante el consumo o uso en la dieta diaria del edulcorante *Esteviosídeo*, lo que proporcionara mejoras en la calidad de la salud bucal.

Adicionalmente nos brinda una justificación con aportes metodológicos de la investigación con una información valiosa sobre la posible asociación del *Streptococcus mutans* y el edulcorante *Esteviosídeo* en relación a la caries dental que es una de las enfermedades de mayor prevalencia de cavidad bucal, pero la evidencia aun no es completa y la explicación sobre su concentración inhibitoria del microorganismo.

## **1.6. Limitación de la investigación**

Para la elaboración de la investigación fue poco accesible la obtención de las cepas de bacterias como el *Streptococcus mutans* codificadas y generar condición para el crecimiento *in vitro* en un medio de anaerobiosis, para el desarrollo de las condiciones de la investigación *in vitro* y de tipo experimental por lo cual para el desenvolvimiento en un medio adecuado para su crecimiento, dado que el *Streptococcus mutans* necesita en condiciones adecuadas que serán simuladas en el laboratorio utilizando los parámetros y medios necesarios para su desarrollo ideal además de su efecto con los edulcorantes y evitar otros factores que puedan influir en las condiciones que afecten la concentración inhibitoria mínima y lograr experimentar el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*.

## 1.7. Objetivos de la investigación

### - Objetivo General

Determinar que el uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

### - Objetivos Específicos

- Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del *Esteviosídeo*: Stevita 25 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.
- Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del *Esteviosídeo*: Stevia Vía 25 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.
- Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del *Esteviosídeo*: Stevita 50 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.
- Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del *Esteviosídeo*: Stevia Vía 50 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.
- Comparar el efecto de las diferentes concentraciones al 25 mcg. y 50 mcg. del *Esteviosídeo*: Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

## 1.8. Hipótesis

El uso del edulcorante *esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Teorías Generales

#### **Edulcorante**

Los edulcorantes son sustancias que reemplazan al azúcar o sacarosa, que pueden ser de origen natural o artificial y que pueden generar una dulzura mayor que el azúcar. Adicionalmente brindan muchos beneficios para la salud.

#### ***Esteviosídeo***

Su origen es a partir de la *Stevia rebaudiana* que es el edulzante natural de tipo no calórico, que aportan muchos beneficios porque no contiene calorías además esta considerado que puede prevenir las lesiones de caries dental porque tiene la capacidad de inhibir el incremento y reproducción de las bacterias.

#### ***Streptococcus mutans***

Son microorganismos bacterianos que habitan en la cavidad bucal, se pueden desarrollar con presencia de oxígeno o ausencia de él, por lo que presentan características anaerobias facultativas, por su característica se le considera una de las bacterias iniciadoras del proceso cariogénico. Además teniendo su temperatura ideal de crecimiento entre  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , debido a que son productores de ácidos, como también ser tolerantes a sobrevivir y desarrollarse en un pH por debajo de 4.3 y por lo tanto son homofermentantes de ácido láctico, el cual capaz de desmineralizar la superficie del esmalte del diente.

La reducción del factor de riesgo cariogénico, se basa en la teoría quimicoparasitaria la cual nos brinda el principio y desarrollo de la lesión cariosa, por que se logra identificar al

microorganismo causante del origen de la lesión cariosa que es *Streptococcus mutans*, como factor primario para luego ser considerado en la dieta, las características del huésped y los microorganismo patógenos cuya interacción destruyen el mecanismo de defensa de la superficie del esmalte del diente así instalándose la enfermedad de la lesión cariosa, estas son las causantes muy importantes y necesarias además indispensables para la instalación de este. Actualmente se consideran otros factores moduladores como el tiempo y el tipo de dieta ya que se comprueba que con la presencia de estos produciría la lesión cariosa .

## **2.2. Marco Conceptual**

### **- 2.2.1. Edulcorantes**

Así como en la actualidad el uso de endulzantes es utilizado y además de considerarlo dentro de la dieta de forma cotidiana. Debido a que es muy importante para pacientes con lesiones cariosas.

En algunos productos como endulzantes, como menciona Barrancos (1999) afirma que “La sacarosa puede ser reemplazada por sustitutos como los azúcares con menos efecto cariogénico también llamados edulcorantes que son aquellas sustancias naturales o artificiales capaces de transferir un sabor parecido a la sacarosa” (p 328). Por lo tanto, existen dos grandes grupos principales de sustitutos de la sacarosa: los edulcorantes calóricos y no calóricos (*esteviosídeo*).

En contraste de la sacarosa, algunos de los edulcorantes son deficientes en ser metabolizados por los microorganismos bucales con mayor prevalencia de la caries dental y por otra parte no se desenvuelven por vías que conllevan a la conducción de la formación de ácidos. Algunos edulcorantes incluso reducen el metabolismo y crecimiento

bacteriano del *Streptococcus mutans*, que es considerado como el agente iniciador de la lesión cariosa en la superficie lisa de las piezas dentarias.

En la actualidad la dieta baja en sacarosa también brinda una buena salud bucal así mejorara la prevalencia de la caries dental, sin embargo, la continua presencia de incluso en pequeñas cantidades de sacarosa podría mejorar esta situación en nuestra población. Porque sugiere el consumo de diversos edulcorantes para la mejora de esta enfermedad de mayor prevalencia en cavidad bucal.

La función del contenido energético, se clasifica en edulcorantes calóricos y no calóricos.

#### - **Edulcorante Calórico**

Dentro de los edulcorantes calóricos tenemos al Xilitol, Sorbitol, Manitol que son endulzantes parecidos al de la glucosa. De los cuales se clasifican en polialcoholes y azúcares que contiene grupos aldehídos serán imperceptibles a hidroxilos. Estos edulcorantes brindan 4 calorías por gramo.

#### **Función del edulcorante calórico**

Dentro de las funciones más importantes de los edulcorantes calóricos que intervienen en mejorar la calidad de diversos productos como: salsas agridulces, mermeladas, helados, panes, gelatinas y bebidas carbonatadas estos actúan como preservantes y además brindan frescura y volumen. Por lo tanto, favorecen a la calidad del producto proporcionando un sabor dulce penetrante, ayuda también a la fermentación de otros productos. Estos pueden ser procesados a partir de forma natural y además de los azúcares.

## - **Edulcorante no calórico**

Dentro de los edulcorantes no calóricos tienen en común el hecho de brindar un penetrante aroma dulce y otra cualidad importante es de no proporcionar calor energético, esto hace que tenga una gran importancia clínica para la utilización en diferentes tipos de patologías clínicas ya que proporcionan cero calorías.

### **Función del edulcorante no calórico**

Varios de los edulcorantes no calóricos son reemplazados por los calóricos. Algunos de ellos nos proporcionan calorías, y además un sabor dulce. La mayoría de los edulcorantes no calóricos son procesados químicamente.

De acuerdo con Shinde, Winnier, (2020) nos informa que “Los principales son el Aspartame, el Ace-sulfame K, la Sacarina, los Ciclamatos y el *Esteviosídeo* que es un edulcorante no metabolizable por el *Streptococcus mutans*. La *Stevia rebaudiana Bertoni* (glicósidos de steviol) procedentes en las hojas de *Stevia*” (p.272-273). Está considerado como un edulcorante no calórico de origen natural debido a que la demanda de la población está en búsqueda de alimentos de tipo natural y además de tipo orgánico ya que nos brindara diversas propiedades funcionales y sensoriales a las personas que consumen logrando mejorar sus hábitos alimenticios lo cual con lleva a una tendencia de una alimentación orgánica, por lo tanto en estos tiempos actuales la sociedad tiene la necesidad de búsqueda de este tipo de alimentos para prevenir y mejorar su calidad de vida.

#### - **2.2.2. Esteviosídeo**

El *esteviosídeo* es un compuesto sumamente dulce que aparece naturalmente en las hojas de un pequeño arbusto y es inócua. Elton, (1990) asevera que la “*Stevia rebaudiana Bertoni*. Se le conoce también con el nombre de yerba dulce que crece en

forma silvestre en Paraguay. Es dulcificante no calórico 300 veces más dulce que la sacarosa”. El *esteviosídeo* es un esteroide glucósido; es un ácido diterpenoico esterificado a una unidad de glucosa y combinado en enlace glucosídico a otras dos unidades de glucosa.

Según Bridel y Lavieille (1931) iniciaron a descubrir el secreto de las hojas de *Stevia* procesándolas en polvo de color blanco cristalino que lo denominaron *Esteviosídeo*. Luego en los años 1970 el *Esteviosídeo* comienza a ser reincorporado en diversos productos alimenticios, siendo aprobados en 1993 como edulcorantes en los países de Japón, Brasil, Argentina y México. Unos de los primeros edulcorantes a nivel de América del Sur fue en Argentina “Eco- Sweet” (*Stevia rebaudiana Bertoni*). Para luego ser aprobado como suplemento dietético en los estados Unidos de Norte América y Canadá. Actualmente varias empresas contienen productos con los extractos de *Stevia* como Diet Coke y americanas Sunkist y Nestlé

#### - **Fórmula**

El *Esteviosídeo* está compuesto con carbono, hidrogeno y oxígeno. Su fórmula:



#### - **Origen**

El departamento de Agricultura de los Estados Unidos reporta a la *Stevia rebaudiana* como una planta nativa de Sudamérica (zona tropical): Paraguay-Amambay, Concepción y Brasil-Mato Grosso do Sul.

#### **Nombre común**

El *ka'a he'é*, stevia o azúcar verde caá-ehé, kaá-jeé, azúcar verde, yerba dulce. (*Stevia rebaudiana*)

## **Nombre científico**

Se ha encontrado lo siguiente, en los estudios científicos aparecen con el nombre de *Stevia rebaudiana*, sin embargo, se puede apreciar en la mayoría de los artículos el nombre científico más utilizado es *Stevia rebaudiana Bertoni*.

## **Familia**

La especie pertenece a la familia Asteráceas.

## **Uso tradicional**

Las propiedades para uso tradicional de los edulcorantes fueron conocidas por Paraguay (por los indios guaraníes), Elton (1990) afirma “que usaban la planta para edulcorantes y bebidas medicinales”. Los indígenas de Paraguay suelen atribuirles a sus hojas propiedades anticonceptivas. La parte utilizada del arbusto son las hojas y ramas. También se ha encontrado en la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norte América la confirmación de la propiedad anticonceptiva y también el uso como endulzante ambos usos tradicionales. Por su parte se manifiesta que la planta como su extracto viene siendo utilizada por muchos años como un endulzante en Sudamérica, Asia, Japón y China. La revisión efectuada sobre *esteviosídeo* por Genus (2003), añade que además de países como Estados Unidos también consumen la planta (hojas) como *esteviosídeo* y en extracto altamente refinado. La planta y el *esteviosídeo* son oficialmente utilizadas como endulzantes de baja caloría en Brasil, Corea y Japón.

## Constituyentes fitoquímicos

En las hojas el principal fitoconstituyente es el *esteviosídeo*, desarrollándose diversos estudios por su sabor dulce y aporte de bajas calorías.

Según lo reportado por Geuns (2003). "La *Stevia*, tiene como componentes al *Esteviosídeo*, Dulcosido A, Steviol, Rebaudiosidos A, B (dulcosido B, C, D, E, F), Steviolbiosida, se encuentra una dulzura de 4 - 20% que puede variar por las condiciones del cultivo y crecimiento. Además, dependerá del proceso de extracción como Rebaudiosidos B y Steviolbiosida". (p.913)

### - Propiedades

#### Propiedades Nutricionales

Una de las propiedades del *esteviosídeo* (*Stevia*) es que muestra un bajo nivel calórico, y en su forma natural del extracto de la dulzura presenta aproximadamente entre 100 a 300 veces más dulzura que la azúcar, y se muestra 15 veces de más dulzura que la sacarosa.

En otra de sus propiedades del *esteviosídeo* no produce cambios el nivel de la glucosa en la sangre. Las desventajas de la *Stevia rebaudiana* (*esteviosídeo*) es que no presenta caramerilizacion y menos la cualidad de hacer merengues, además no se presenta cristales de azúcar. Una taza de azúcar blanca equivale  $\frac{1}{4}$  de cucharadita de *esteviosídeo*.

La utilización del *esteviosídeo* es acreditado por la FDA (1995) para su consumo como suplemento dietético en los EE.UU. Actualmente es comercializado en varios países del mundo.

### **Propiedades Metabólicas**

El *esteviosídeo* es de gran importancia para la población que desea perder peso debido a que no es metabolizado por nuestro organismo, adicionalmente tiene una propiedad que no contiene calorías y su ingesta ayuda a disminuir las calorías, si no también ayudara a disminuir el peso corporal, los podemos encontrar en diversas presentaciones como: líquido, hojas o en polvo de su máxima pureza, adicionalmente disminuye la ansiedad de ingerir dulces.

Pesquisas elaboradas en el centro de Bomholtgfird Ry, Dinamarca, revelaron que “Los resultados mencionan que el *esteviosídeo* (*Stevia*) podría tener un potencial anti hiperglucémico en pacientes no insulino dependientes como es el caso de diabetes tipo 2 esto es debido a que el *esteviosídeo* estimula a las células beta del páncreas generando así una secreción insulina”. (Jeppesen, 2020, p. 208-14)

El *esteviosídeo* se le considera una característica o participación para el control de la presión arterial, cuenta con la cualidad de tener un efecto vasodilatador, diurético y cardiotónico (regulariza la presión arterial y los latidos del corazón).

De acuerdo con Xili, Chengjiany, Eryi, Reiming, Yuengming, Haodong, Zhiyian, (1992), “Quien reporto en la investigación de toxicidad aguda una dosis letal de 8.2 g/kg para *esteviosídeo* refinado para una ingesta adecuada por día de 7.9 g/kg”. (p. 957-965). El cual no se ha reportado toxicidad, debido a que no presenta anormalidad en cambio de peso, ingesta en el alimento, particularidades en la membrana, celulares, cromosomas como la utilización de las enzimas y sustratos. Por lo tanto, no produce efectos indeseables al uso de manera agudo o crónico.

## **Propiedades y ventajas**

1. Es 100% natural y económico, presenta una dulzura alrededor de 200 a 300 veces mayor que el azúcar (sacarosa).
2. No incluye las calorías; tiene mucho beneficio para los pacientes diabéticos ya que no aumenta los niveles de azúcar en sangre.
3. Es estable desde 100°C hasta 200°C (392 °F) no pierde sus características.
4. Es estable en soluciones ácidas y en presencia de sal.
5. No interactúa con otros alimentos.
6. No actúa como fuente energética para bacterias porque no es fermentable.
7. No produce caries dental por lo cual tiene un efecto anticariogénico y además reduce el desarrollo de la formación de la placa dental.
8. No es tóxico, ni efectos adversos en individuos y animales.
9. No ocasiona reacciones de oscurecimiento cuando es combinados con proteínas o aminoácidos.

### **- Aplicaciones odontológicas**

## **Efecto cariogénico**

*Esteviosídeo y rebaudiósido A* se le considera anticariogénicos. Según Das, Murphy, Punwani, Nasution, Kinghorn, (1992), afirma que "En la actualidad el *esteviosídeo* se usa en diversos productos alimenticios el cual no genera la formación de lesión cariosa (caries dental) debido a que no es fermentativo y no es metabolizado por los microorganismos bucales, por tanto, es considerado anticariogénico". (p.363-366).

También posee actividad antimicrobiana y propiedad antiplaca que fue demostrada y probada por la publicación llevada por la Facultad de Odontología de la Universidad de São Paulo.

### **Acción antimicrobiana**

La *Stevia* tiene la habilidad de inhibir el incremento, reproducción de bacterias y otras infecciones, además de no producir lesión cariosa. Afirma según Das, Murphy, Punwani, Nasution, Kinghorn, (1992), que “Es importante considerar en los enjuagatorios bucales y pastas dentales la presencia de *esteviosídeos* por su acción antimicrobiana debido a que no permite el crecimiento de microorganismos bucales” (p 363-366).

Las investigaciones muestran que el *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, no se desarrolla en presencia de nutrientes de *Stevia*.

Según Das, Murphy, Punwani, Nasution, Kinghorn, (1992), menciona que “Para inducir la formación de caries dental fue probada en una dieta básica en ratas de Sprague-Dawley, la acción cariogénica del Rebaudioside A (0.5%) y *esteviosídeo* (0.5%), dando como resultado ser no cariogénicos” (p 363-366). Se usa como bactericida inhibiendo el desarrollo de bacterias las que producen la lesión cariosa y enfermedad periodontal; esta característica y el sabor naturalmente dulce, lo convierte en un medicamento beneficioso para los colutorios bucales y dentífricos. Se ha demostrado el uso de *Stevia* para bajar la incidencia de la caries dental.

#### **- 2.2.3. *Streptococcus mutans***

Es la especie perteneciente al grupo de los *Streptococcus viridans* son cocos Gram positivo. (Mandell, 2015)

La característica facultativa del *Streptococcus* permite que se pueda desarrollar con presencia de oxígeno o ausencia de él, una característica estructural es que “Los *Streptococcus* son anaerobios facultativos, siendo la temperatura ideal de crecimiento de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , presentando fimbrias, complejos fibrilares, polisacárido C y ausencia de capsula dentro de su estructura” (Liebana, 2002).

El *Streptococcus mutans* es una de las bacterias iniciadoras del proceso cariogénico, que son productores de ácidos con un pH bajo y tolerantes al ácido esta capacidad le da propiedad de sobrevivir y desarrollarse con un pH por debajo de 4.3 y es un formador homofermentante de ácido láctico, “degradan a los polisacáridos insolubles de la sacarosa, además son acidúricos, acidógenos, acidófilos, en presencia de Manitol y Sorbitol son fermentables” (Newbrun, 1991). Por lo cual se encargo del proceso de desmineralización de las superficies dentarias.

“Los *Streptococcus mutans* presentan una pared polisacárido compuesto de una capsula externa de glucano o Lévano en presencia de sacarosa y las paredes celulares tiene peptidoglicano y ácido glicerol teicoico” (Newbrun, 1991). Por lo tanto, esta característica estructural le permite desarrollarse en un medio ácido, puede influir en la susceptibilidad de caries dental.

“En el grupo *mutans* se encuentra la especie *Streptococcus mutans*, considerada como la que presenta el mayor potencial de caries dental. Se le relaciona con el inicio de la lesión cariosa en la superficie lisa de las piezas dentarias”. (Perez, 2004, p. 60-65)

La lesión cariosa es una enfermedad dinámica y multifactorial causada por el *Streptococcus mutans*, el cual es el principal microorganismo del inicio del proceso carioso en la superficie dentaria debido a que posee adhesivas presentes en sus fimbrias que le permite adherirse a la superficie del esmalte el cual se coloniza en superficie

dentales. El cual posee dos propiedades que se le considera como un agente cariogénico (inductor de caries dental) donde: Según Pérez, (2004), Afirma que “La sacarosa es el sustrato más relevante para los microorganismos etiológicos de lesión cariosa (caries dental), porque degradan en ácidos y se sintetizan en polisacáridos extracelulares e intracelulares” (p.60-65). La sacarosa se emplea como fuente energética para la formación de polisacáridos extra e intracelulares para el desarrollo de los *Streptococcus mutans*.

Por lo cual la característica cariogénica se da por la sintetización de glucanos, polímeros azucarados de elevado peso molecular, al desdoblarse la sacarosa en 2 componentes monosacáridos (glucosa y fructosa). Por lo cual la fructuosa utiliza estos sustratos para el crecimiento del microorganismos y la glucosa se polimeriza en formando una malla de glucano. En conjunto con otras bacterias y residuos orgánicos forma la placa dental por lo tanto se adhiere a la superficie dentaria. (Perez, 2004, p. 60-65)

Además, como producto de la fermentación de la glucosa *Streptococcus mutans* es productor del ácido láctico, que desmineraliza la superficie del esmalte, gracias a la capacidad de neutralización la saliva reduce el medio logrando una neutralización debido a su componente está es encontrada en un medio neutro. Según Perez, (2004) afirma que “El *Streptococcus mutans* es un agente etiológico para la lesión cariosa (caries dental) el cual tiene la capacidad de adherirse a la superficie, gracias a sintetizar de la sacarosa en polisacáridos dextranos y lévanos, además es productor de ácidos”. (p.60-62). Los *Streptococcus mutans* esquematizan homopolisacárido extracelular hidrosoluble e hidróinsoluble a partir de la sacarosa. La glucosiltransferasa (GTF) y fructosiltransferasa (FTF) son enzimas extracelulares por la formación de polímeros (hidrosoluble). Se encuentran presente en superficie bacteriana o película adquirida (matriz acelular). Por lo cual actúa como adhesión bacteriana del *Streptococcus mutans*.

Según Perez, (2004), se afirma que “El *Streptococcus mutans* es bacteriocinogénico, acidógeno (capacidad para producir ácido láctico), acidúrico (sobrevivir en un medio ácido), son sustancias antibacterianas (bacteriocinas) con características proteicas o glucido-lípido- proteína produce una lesión irreversible”. (perez, 2004,p.60-65) Estos *Streptococcus* se han dividido en varios grupos en base a su morfológica colonial y a las características fisiológicas.

Las enzimas GTF-1, GTF-S y FTF sintetizan glucanos solubles e insolubles y fructanos, asimismo de polisacáridos intracelulares por precaución que pueden ser separados por glucógeno fosforilasas, dextranasas y fructanasas. Según algunos autores mencionan que en adhesión de la película adquirida se encuentra proteínas fijadoras, y en el proceso de agregación bacteriana presenta glucanos absorbidos. En crecimiento bacteriano se liberan proteínas parietales que se comportan a modo antígenos I/II y la adherencia de la película adquirida cuando no presenta glucanos en su superficie y la asociación de diversas bacterias bucales, desarrollarían más en presencia de la saliva. Desempeña con sus fimbrias y ácidos lipoteicoicos en los métodos de adherencia a superficie del hospedador y en la incorporación bacteriana es controvertido. Entre el 50 y el 70% de tipos bacterias.

En las superficies del diente como el esmalte o el cemento, se coloniza el *Streptococcus mutans* considerado como el hospedero principal, reconocido por su gran poder de cariogenicidad. Según Liebana, (2002), afirma que “El *Streptococcus mutans* es considerado iniciador y progresor de la lesión cariosa (caries dental) que afecta a la superficies rugosas y lisas de los dientes”. (p.44)

Las evidencias de las investigaciones describen que según Afirma según Das, Murphy, Punwani, Nasution, Kinghorn, (1992), afirma “En la cavidad bucal se encuentra el

*Streptococcus mutans* el cual habita” (p 363-366), no únicamente en las superficies duras, como en las superficies de los dientes sino también en las superficies protésicas (dentaduras artificiales). Además, también se encuentra a nivel gingival. El hábitat favorito del *Streptococcus mutans* es la superficie dental.

Los estudios realizados acerca de la placa dental de los seres humanos indican que el *Streptococcus mutans* es pandémico en muchos lugares del mundo. Ha sido aislado en poblaciones de diverso origen étnico y socioeconómico. Según Newbrun, (1991). Afirma que “En una la lesión cariosa (caries dental), en la placa bacteriana se encuentra mayor cantidad del *Streptococcus mutans*”. (p.93)

#### - **Factores de cariogenicidad del *Streptococcus mutans***

- La fabricación de polisacáridos extracelulares por inicia por la sacarosa y específicamente por los glucanos insolubles (mutanos) el cual permite la migración y sostenimiento del *Streptococcus mutans* sobre la superficie del diente.
- Tiene afinidad por las superficies dentales debido a fenómenos de adherencia, incorporación y congregación.
- La producción y metabolización de polisacáridos intracelulares.
- La capacidad de metabolizar los polisacáridos intracelulares condicionando su factor de virulencia por lo cual le proporcionan al microorganismo un sustrato de donde obtienen la energía para sustentar la producción de ácido durante un tiempo prolongado.
- Los glucanos solubles benefician a la producción de ácidos y la metabolización de polisacáridos extracelulares como fructanasa y dextranasa, los cuales son sustratos cuando disminuyen la contribución exógena.
- El metabolismo del azúcar a ácido láctico y ácidos orgánicos. En la desmineralización del diente se da debido a la gran producción del ácido láctico, este tiene gran fuente

de virulencia, en la metabolización de la sacarosa producto de la degradación de los microorganismos patogénicos bucales.

- Tiene poder acidógeno, acidófilo y acidúrico.
- Los microorganismos bacterianos consiguen adquirir el pH crítico de 4,5 para comenzar la desmineralización de la superficie del diente. El efecto post pH corto es el tiempo obligatorio para recuperar su acción de desarrollo normal cuando después de ser sometido a un bajo pH regresa a la normalidad.
- La concentración de bacterias acidógenas en lugares determinados de la superficie dental.

La lesión cariosa es considerada como enfermedad relacionada por la alimentación. Diversas pesquisas que se han verificado que la alimentación rica en carbohidratos fermentables está relacionada con el progreso de la lesión cariosa. Según Barrancos, (1992) afirma que “La sacarosa o la azúcar tiene un mayor potencial de producir lesión cariosa”. Inicialmente la azúcar determina las bacterias orales como el *Streptococcus mutans* esquematizan polisacáridos solubles e insolubles que favorecen la adhesión y el desarrollo microbiana (p. 382). La alimentación constituye un metabolismo armónico por lo cual el individuo esta relacionado con los alimentos. A esto se considera la cantidad y el tipo de alimentación que normalmente ingiere la población.

Existe diversos factores individuales que pueden afectar la variación del pH en la cavidad bucal como el tipo de dieta y además la frecuencia de alimentación. Por lo cual el factor alimentación tendrá gran impacto en la formación y la progresión de la lesión cariosa. Si algunos de los factores de autodefensa como el flujo salival, higiene bucal y los agentes causantes como una gran cantidad de microorganismos patógenos en la cavidad bucal se deberá valorar el potencial de cariogenicidad. Es importante considerar el equilibrio de la dieta cotidiana. Algunos de los mecanismos de autodefensa de la cavidad bucal se

encuentran deficientes o disminuidos y los factores causantes de la enfermedad se encuentran aumentados entonces se presentará caries dental.

## III. MÉTODO

### 3.1. Tipo de Investigación

Enfoque cuantitativo esta basado en la teoría donde se describe la realidad, la cual no cambia, luego se explica a través de la observación finalmente se mide lo cual nos permite predecir los fenómenos de la investigación.

El tipo aplicativo se fundamenta en conocimientos teóricos los cuales lo convierten en conocimientos prácticos para resolver problemas en búsqueda de las mejoras de las condiciones de vida de la población, así convertirlos en nuevo conocimientos para lograr nuevas invenciones o aplicaciones.

El diseño experimental nos permite manipular las variables independientes o para poder medir su efecto en una variable dependiente controlando las variables extrañas de la investigación donde se va a predecir los fenómenos para encontrar la relación causal.

El tipo de investigación es experimental in vitro. Con el diseño se logro manipular las variables como: *Streptococcus mutans*, con el edulcorante: *Esteviosídeo*.

### 3.2. Población y muestra

Esta investigación estará constituida por 12 muestras, cepas de *Streptococcus mutans* obtenidas en el laboratorio de microbiología. El muestreo fue de tipo no probabilístico. La muestra estará conformada por el grupo (*Esteviosídeo*) recibieron cepas de *Streptococcus mutans*.

### 3.3. Operacionalización de variables

- Variable independiente:

Tipo de Edulcorantes No calórico:

Edulcorante Stevita

Edulcorante Stevia Vía

Definición conceptual de variable independiente: Edulcorante

La variable se define como “edulcorante son sustituto del azúcar o sacarosa que presenta menor efecto cariogénico.” (Barrancos,1999, p.328)

Definición operativa de la variable independiente: Edulcorante

Para investigar la variable edulcorante *esteviosídeo* transfiere un sabor dulce parecido a la sacarosa o azúcar, se ha utilizado 2 tipos (Edulcorante Stevita y Edulcorante Stevia Vía).

- Variable dependiente

Inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*

Definición conceptual de la variable dependiente: Inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*.

La variable se define como “*Streptococcus mutans*, considerado como el iniciador de la lesión cariosa y el de mayor potencial cariogénico en la superficie lisa de las piezas dentarias.” (Perez, 2014, p. 60)

Definición operativa de la variable dependiente: Inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*.

Para investigar la variable inhibición del crecimiento bacteriano del *Streptococcus mutans*, considera suspender provisionalmente su actividad mediante la acción del uso del edulcorante Stevita y edulcorante Stevia Vía.

**Tabla 1.**

Operacionalización de las variables del estudio.

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	SEGÚN SU NATURALEZA	ESCALA
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>				
<b>Características del edulcorante</b>	Tipo de			
	Edulcorante	Stevita		Nominal
	<i>Esteviosídeo</i>	Stevia Vía	Cualitativa	Dicotómica
	Concentraciones	25 mcg. 50 mcg.	Cuantitativo	Intervalo
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>				
<b>Concentración inhibitoria mínima del halo de inhibición del <i>Streptococcus mutans</i></b>	Halo de	-Mayor halo de inhibición		
	inhibición del	-Menor halo de inhibición.	Cuantitativo	Razón
	<i>Streptococcus mutans</i>	-No hay halo de inhibición.		

Fuente: autoría propia

### 3.4. Instrumentos

En la investigación con la finalidad de facilitar el análisis de los datos se recolectarán y registrarán mediante la ficha de recolección de datos confeccionada de acuerdo con las necesidades que se plantearán.

### 3.5. Procedimiento

- Criterios de selección de la muestra y técnica de medición

- La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

La identificación y aislamiento de la cepa de *Streptococcus mutans*: la cepa de *Streptococcus mutans* codificada ATCC 35668. Luego se tomarán 100µL de saliva hasta lograr la dilución de 1:10000. Esta dilución se sembrará en una placa con agar TYCSB medio selectivo para *Streptococcus mutans* y fue colocada un sobre de anaerobiosis (Anaerogen Oxoid), para que desarrolle durante 48 horas a 36°C. Como referencia se usó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 35668 proporcionada por el laboratorio de Microbiología.

- La identificación de colonias de *Streptococcus mutans* se realizaron de forma macroscópica a base de la morfología de la colonia y a través de la lupa estereoscópica la adherencia de las colonias en el agar. Luego de forma microscópica la tinción de Gram a base del frotis de la colonia aislada. Se le agregan la prueba bioquímica de la Esculina que identifica al *Streptococcus mutans* (biotipo *c, e, f*). En caldo Todd Hewitt es aislada la colonia por 24 horas en anaerobiosis para lograr el crecimiento exponencial del agente patógeno y esparcir en el caldo esculina por 24 horas. Se le adiciona 2 gotas de citrato férrico amoniacal sobre el caldo Todd Hewitt el cual confirma el diagnóstico de *Streptococcus mutans* de la cepa codificada ATCC 35668 con la presencia rápida de una coloración negra revela la positividad de la prueba.

En un medio Mueller Hinton se humedeció un hisopo con las bacterias los cuales se sembrarán mediante el método de diseminación con la aplicación del replicador de

hisopo, el cual nos permitira sembrar en el agar por dispersión la cepa ATCC 35668 de *Streptococcus mutans* en forma rápida en 3 direcciones.

- La concentración inhibitoria mínima se determina de manera in vitro sobre la cepa ATCC 35668 de *Streptococcus mutans* con el esteviosídeo: Stevita y Stevia vía en diferentes concentraciones de 25 mcg. y 50 mcg. mediante el Agar Mueller Hinton con sangre de carnero al 5% atmósfera con CO<sub>2</sub> en jarra de microaerofilia. Se incubó a 35 °C por 24 y 48 horas. Se midió los halos con Vernier en placas de petri estériles.

-Se preparan las soluciones de esteviosídeo: Stevita y Stevia vía de diferentes concentraciones: Para lo cual se pesó 5 g. y 2.5 g. de cada producto y se añadió agua destilada estéril hasta completar 10mL en tubos de centrifuga estéril, se logró preparar 10 ml de un medio de 2000 mg/mL de esteviosídeo: Stevita y Stevia vía en agua destilada estéril. Se preparó una solución de producto en agua destilada estéril equivalente a 500mg/mL y 250mg/mL. Se esterilizan a través del filtro Millipore de 0.22 µm.

- La preparación del agente patógeno se usará para sembrar las placas de agar con el antimicrobiano contenido: El agente patógeno de la cepa ATCC 35668 de *Streptococcus mutans* se tomarán las medidas en suspensión de las colonias aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico (NaCl 0.15 M) hasta obtener una turbidez 0.5 de McFarland. Esta disposición se asemeja a una concentración  $1.5 \times 10^8$  unidades formadoras de la cepa ATCC 35668 de *Streptococcus mutans* por mL (UFC/mL).

- Con replicador de hisopo se procederá a colocar en placa de agar para su incubación e inoculación: en cada tubo contiene la suspensión del microorganismo bacteriano calibrada la cepa ATCC 35668 de *Streptococcus mutans*, se obtendrá con una micropipeta el inóculo, con el replicador de hisopo calibrado se procede a repartir en

cada pocillo confeccionado con sacabocados de 6 mm de diámetro en la placa de agar para la aplicación de los inóculos sobre la superficie del agar.

En cada placa se inoculará 12 repeticiones de cada dilución, como un control con Clorhexidina 2%, al comienzo y final una placa sin antimicrobiano, para evaluar la viabilidad y evitar la contaminación en el desenvolvimiento de las placas los cuales se mantendrán a temperatura ambiente para que finalmente se pueda secar el inóculo. Luego se incubarán a 35°C por 24 y 48 horas en anaerobiosis (Gas-Pack).

- Interpretación de Resultados: se registrara el valor de la concentración inhibitoria mínima, de los resultados de menor a mayor en la hoja de tabulación de datos para analizar la inhibición de la progresión bacteriana. En la progresión de la colonia si no presenta halo de inhibición por el inóculo se estimar como menor, mayor y ausencia. Por lo tanto se realizara la medición con el calibrador Vernier, se medirá a las 24 horas y 48 horas.

### **3.6. Análisis de datos**

Una vez terminada la recolección de los datos se procederá a su posterior análisis, presentación por medio de tablas y gráficos estadísticos.

Se tabulará la información como primer paso a desarrollar con la finalidad de hacer más manejables los datos obtenidos, seguidamente se discutirá las características que presentaran para estimar que sean los datos requeridos, a continuación se analizaran los datos a partir del punto de evaluación estadístico con ayuda de la prueba de t Student para muestras relacionadas (SPSS), nos permitirá la obtención de la distribución de media con sus respectivos análisis estadísticos se procederá a conocer la significancia estadística de cada relación. A este nivel identificaremos los puntos más relevantes de

las diferencias de nuestra investigación, finalizando el análisis se realizara la interpretación de los datos relevantes sustentados estadística y teóricamente.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Resultados del estudio

**Tabla 2**

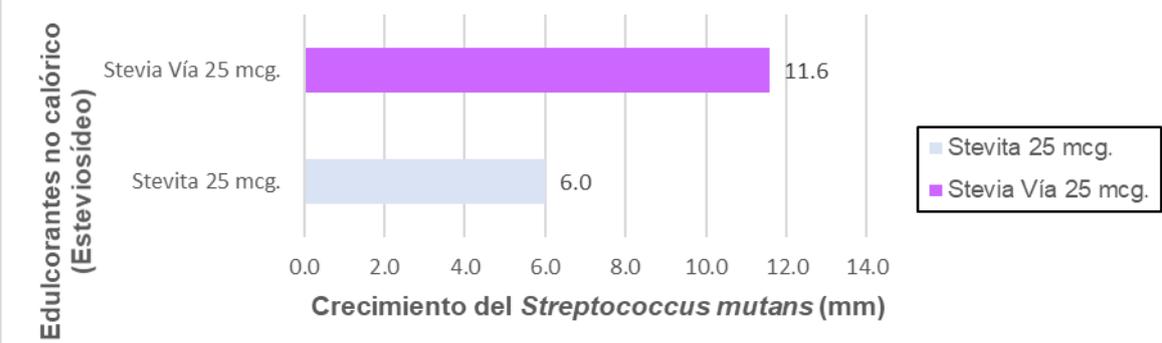
*Comparación del efecto al 25 mcg. del Esteviosídeo: Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del Streptococcus mutans.*

<b>Esteviosídeo 25 mcg.</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Desviación</b>
STEVITA	12	6.0	0.0
STEVIA VIA	12	11.6	0.5

Para el análisis se obtuvo menor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en 12 muestras con edulcorantes *Esteviosídeo: Stevita* al 25 mcg. con una media de 6 mm y el *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. produjo mayor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento de *Streptococcus mutans* con una una media de 11.6 mm.

**Figura 1.**

*Comparación del efecto al 25 mcg. del Esteviosídeo: Stevia via y Stevita en el crecimiento del Streptococcus mutans.*



**Tabla 3.**

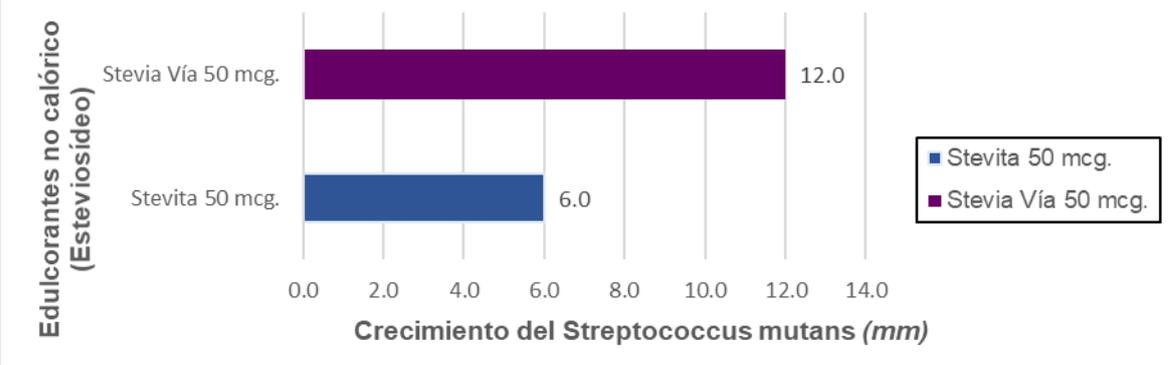
*Comparación del efecto al 50 mcg. del Esteviosídeo: Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del Streptococcus mutans.*

<b>Esteviosídeo 50 mcg.</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Desviación</b>
STEVITA	12	6.0	0.0
STEVIA VIA	12	12.0	0.4

Para el análisis se obtuvieron menor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en 12 muestras con edulcorantes *Esteviosídeo: Stevita* al 50 mcg con una media de 6 mm y con el *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 50 mcg produjo mayor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento de *Streptococcus mutans* con una media de 12 mm.

**Figura 2.**

*Comparación del efecto al 50 mcg. del Esteviosídeo: Stevia via y Stevita en el crecimiento del Streptococcus mutans.*



**Tabla 4.**

*Comparación in Vitro la concentración inhibitoria mínima del Esteviosídeo: Stevita 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del Streptococcus mutans*

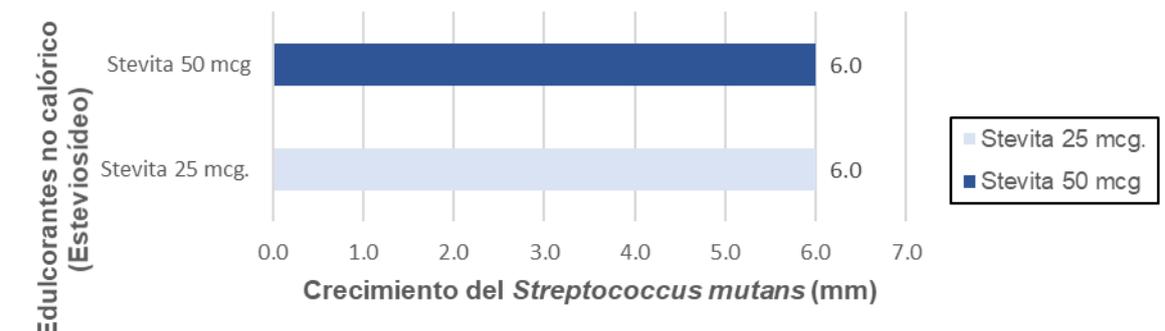
<b>Esteviosídeo Stevita Dosis</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Desviación</b>
25 mcg	12	6.0	,00000 <sup>a</sup>
50 mcg	12	6.0	,00000 <sup>a</sup>

No aplicable la prueba t student

Para el análisis se obtuvieron menor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en 12 muestras con el edulcorante *Esteviosídeo: Stevita* al 25 mcg. con una media de 6 mm y con el *Esteviosídeo: Stevita* al 50 mcg. produjo también menor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento de *Streptococcus mutans* con una media de 6 mm y a su vez se aplicó la prueba de t Student para muestras relacionadas encontrando que no existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

**Figura 3.**

*Comparación in Vitro la concentración inhibitoria mínima del Esteviosídeo: Stevita 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del Streptococcus mutans*



**Tabla 5.**

*Comparación in vitro la concentración inhibitoria mínima del Esteviosídeo: Stevia Vía 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del Streptococcus mutans.*

<b>Esteviosídeo Stevia Vía Dosis</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Desviación</b>
25 mcg	12	11.6	0.5
50 mcg	12	12.0	0.0

t=-2.803 p=0.01

Para el análisis se obtuvieron resultados de la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en 12 muestras con los correspondientes edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. con una media de 11.6 mm y 50 mcg. con una media de 12 mm presenta una concentración inhibitoria mínima mayor.

Mediante la prueba de t Student se determinó el nivel de significancia ( $p < 0.05$ ), la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en medios con los edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. y 50 mcg. encontrando una probabilidad  $p = 0.01$ .



## 4.2. Contrastación de Hipótesis

### Hipótesis

**H1:** El uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

**Ho:** El uso del edulcorante *Esteviosídeo*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria no reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

## 4.3. Análisis e Interpretación

**Nivel de significación: 5%**

**Tabla 6.**

*Análisis Estadístico de la contrastación de Hipótesis: Prueba t de Student.*

<b>Esteviosídeo Stevia Vía DOSIS</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Desviación</b>
25 mcg	12	11.6	0.5
50 mcg	12	12.0	0.0

t=-2.803

p=0.01

### **Decisión:**

Dado que  $p < 0.05$  se rechaza  $H_0$

### **Conclusión:**

Hay evidencia que el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevia Vía, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta investigación encontramos diversos hallazgos, donde se comprobó el objetivo del trabajo de investigación donde se evaluó las posibles variaciones de la concentración inhibitoria mínima del crecimiento *Streptococcus mutans* en medios de cultivos donde se les adicionó los edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* y *Stevita*, en las siguientes cantidades de 25 mcg. y 50 mcg. con el fin de evaluar la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento del *Streptococcus mutans* para así verificar el potencial cariogénico, por lo cual se encontró hay evidencia que el uso del edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía* en 25 mcg. y 50 mcg. en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana, por tanto los edulcorantes pueden brindar un nuevo conocimiento para la población peruana el cual tendrá un beneficio para su salud bucal y además poder considerar su consumo de estos edulcorantes en la dieta.

Con respecto la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en un medio donde se le adicionó el edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía* se encuentra evidencia que el uso del edulcorante, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana, encontrando una coincidencia con los siguientes investigadores Escobar, Piedrahita, Gregory, (2020), encontró un (MIC) de 25 mg/mL y la (MBIC) formación de biopelícula se reduce al 6.25 mg/mL, la *Stevia* en diversas concentraciones se encontró el aumento del pH y la disminución de la producción del ácido y (MBIC) producto del *Streptococcus mutans* con *Stevia*. El cual coincide con nuestra investigación donde se concluye que se reduce el riesgo cariogénico para la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en medios con los edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. y 50 mcg. encontrando una probabilidad  $p=0.01$ , por

tanto, hay evidencia que el uso del edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana. Así mismo con Abdel, Niazy, Elsharkawy, (2020), coincide que la relación con *Stevia* se puede valorar como agente no cariogénico en relación con *Streptococcus mutans*. De modo que en nuestros resultados el *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. y 50 mcg. reducen el factor de riesgo cariogénico en nuestra población. Por consiguiente con la investigación de Shinde, Winnier, (2020), los resultados que se encontraron con una gran reducción del recuento salival del *Streptococcus mutans* desde la saliva recolectada a los 15 minutos y 1 hora para ambos grupos fue estadísticamente significativa donde se concluye la reducción del recuento salival del *Streptococcus mutans* para ambos grupos con Xilitol y *Stevia*. En efecto según nuestros resultados ayudaría a evitar la lesión de caries dental en nuestra población. Por lo cual se concuerda también con Siraj, Pushpanjali, Manoranjitha, (2019), los cuales concluyen que el extracto de hojas de *Stevia* y producto de *Stevia*, no apoyan a la supervivencia del microorganismo bacteriano y produce pocos subproductos fermentables, por lo tanto reduce el factor de riesgo cariogénico.

En relación con la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* en un medio donde se le adicionó el edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía* se encuentra evidencia que el uso del edulcorante, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana, encontrando gran coincidencia con los siguientes investigadores Abdul, et al. (2017), en su investigación logró hallar que la mayor adherencia bacteriana se encontró durante las primeras fases en comparación con las fases establecidas de formación. La muestra control (sacarosa) presentó una adherencia bacteriana mayor al 40% y placa bacteriana del 70% más que los edulcorantes investigados. En la fase temprana de formación con edulcorantes no mostraron recuentos de bacterias y mostraron ausencia de matriz en todas las biopelículas tratadas. En la fase establecida

se encontró la presencia de matriz, pero en un grado significativamente menor en comparación con la sacarosa ( $p < 0.05$ ), en el que se concluye que presenta una menor adherencia bacteriana, la formación de biopelículas orales y se utilizaría con un agente antiplaca con los edulcorantes de la investigación como Equal Stevia®, Tropicana Slim®, Pal Sweet®, a continuación coincide con nuestra investigación que el consumo de los edulcorantes *esteviosídeo*: Stevia Vía reduce el riesgo de la lesión de caries dental en nuestra población. Además concordamos con Vandana, Reddy, Sudhir, Kumar, Raju, Babu, (2017) que sus resultados fueron en el grupo C mostraron una reducción máxima del 8% y el 10% de placa bacteriana y el índice gingival, en el grupo A, B y el D mostraron un aumento de 1.5% y 1.8% en placa bacteriana e índice gingival, el análisis de las puntuaciones de ICDAS (International Caries Detection and Assessment System) a los seis meses indicó que los valores registrados eran los mismos que los valores iniciales para los tres grupos, excepto en el D, donde hubo un aumento en la prevalencia de la lesión cavitada de 2-6 de 5.6% a 5.8%, el cual concluye que las propiedades antiplacas y antigingivitis muy potentes con *Stevia* en comparación con otros enjuagues bucales al final del estudio de seis meses, así mismo se concuerda que el consumo de *esteviosídeo*: Stevia Vía reduce el riesgo cariogénico.

En relación con Muñoz, Guevara (2017), en su investigación sus resultados fueron que halos de inhibición con el extracto de *Stevia* al 25% y 50% no presentó y al 75% sí, en un halo de inhibición de 6,47 mm y al 100%, un halo de inhibición del 9,33 mm. Se concluye que la esencia de *Stevia* en los diferentes resultados no tiene valores inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* se sugiere no usar como agente antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans*, hallando diferentes resultados alcanzados en esta investigación que el uso del edulcorante *Esteviosídeo*: Stevia Vía de 25 mcg. presenta un mayor halo de inhibición con una media de 11.6 mm y de 50 mcg. presenta un mayor halo de inhibición con una media de 12.0 mm por consiguiente reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

En relación con Kishta, Neiva, Boynton, Kim, Fontana, (2016), encontraron que el 5% de xilitol presenta menor de placa en comparación con PBS y 5% de *Stevia*, pero no significativamente diferente al 0.5% de *Stevia*. Se concluye que la *Stevia* al 5% tuvo lesiones significativamente más suaves a diferencia de los otros grupos, además no hubo diferencias significativas en las puntuaciones de dureza entre el 5% de Xilitol, el 0.5% de *Stevia* y la PBS, se reportan resultados similares en nuestro trabajo para el análisis se obtuvieron resultados de la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* con los correspondientes edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. y 50 mcg. presenta una mayor concentración inhibitoria mínima. Además se concuerda con otras investigaciones que reportan resultados análogos con el Becerra (2016), en su trabajo los resultados del análisis permitieron escoger la CMI en 1.07 mg/mL en el colutorio con esencia de extracto de *Stevia rebaudiana* en etanol de 70 cc y la concentración de 2.14 mg/mL, en etanol de 30 cc ( $p>0.05$ ). En tanto la CMB del 75mg/mL con el enjuagatorio realizado con etanol al 70 cc, se encontró estadísticamente nulo al etanol en concentración del 30 cc ( $p<0.01$ ). Por lo que se concluye posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 frente al enjuagatorio bucal con esencia etanólico de *Stevia rebaudiana*. En consecuencia con el edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía* de 25 mcg. presenta un media de halo de inhibición del 11.6 mm y de 50 mcg. presenta un media de halo de inhibición del 12.0 mm por lo tanto reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*.

En consecuencia la investigación de Junca (2016), los resultados fueron que el extracto de *Stevia rebaudiana* reveló un gran decrecimiento de las bacterias representantes de la iniciación de la caries dental y enfermedad periodontal, además con los microorganismos relacionados con la placa dental, se concluyó para evitar el desarrollo de la caries dental se debería usar diariamente el extracto de *Stevia rebaudiana*, el cual reveló tener un efecto bacteriostático en relación de los microorganismos relacionados a estas patologías. Por lo que se alcanzo en la investigación resultados equivalentes para el uso

del edulcorante *Esteviosídeo*: *Stevia* Vía, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

Por lo tanto, en la investigación de Ajagannanavar, et al. (2014), en su investigación los resultados fueron de la concentración inhibitoria mínima con esencia de *Stevia* acuoso y etnólico contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* fue del 25 % y 12.5 %. La zona media de inhibición de los extractos de *Stevia* acuosos y alcohólicos frente al *Streptococcus mutans* a las 48 horas fue de 22.8 mm y 26.7 mm la zona media de inhibición de la esencia de *Stevia* acuosos y alcohólicos frente *Lactobacillus acidophilus* a las 48 horas fue de 14.4 mm y 15.1 mm la zona media de inhibición de la clorhexidina contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* a las 48 horas fue de 20.5 mm y 13.2 mm. El cual concluye que el valores inhibitorios mostrados por el esencia de *Stevia* alcohólico contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* fue superior cuando se comparó con él de forma acuosa y fue inferior cuando se comparó con la clorhexidina, por lo cual se obtiene resultados equivalentes en la investigación para el análisis se obtuvieron resultados de la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* con los correspondientes edulcorantes *Esteviosídeo*: *Stevia* Vía al 25 mcg. la media del halo de inhibición fue de 11.6 mm y 50 mcg. la media del halo de inhibición fue de 12.0 mm lo cual nos refiere que presenta una concentración inhibitoria mínima mayor y por lo tanto reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

A continuación como la investigación de Brambilla, Cagetti, Ionescu, Campus, Lingström, (2014), los resultados encontraron una mayor formación de biopelículas de *Streptococcus mutans* in vitro en solución de sacarosa ( $p < 0.01$ ). Después de 5, 10, 15 y 30 min, el enjuague de sacarosa in vivo produjo un valor de pH estadísticamente significativamente más bajo en comparación con los extractos de *Stevia* ( $F=99.45$ ,

$p < 0.01$ ). Se concluye que el extracto de *Stevia* puede ser considerado no cariogénico. En efecto coincide en la reducción del factor de riesgo cariogénico en nuestra investigación.

De acuerdo con la investigación de Giacaman, Campos, Muñoz, Castro, (2013) los resultados fueron que los edulcorantes comerciales probados, excepto fructosa, mostraron menos desmineralización del esmalte que la sacarosa ( $p < 0.05$ ). Sólo la sacarina mostró menos biomasa y polisacáridos intracelulares que el resto de los grupos ( $p < 0.05$ ). *Stevia*, sucralosa y sacarina redujeron el número de células viables en relación con la sacarosa ( $p < 0.05$ ). Todas las alternativas de azúcar reducen la formación de polisacáridos extracelulares en comparación con sacarosa ( $p < 0.05$ ). Se concluye que los edulcorantes comerciales presentan menos cariogénicidad que la sacarosa, se conserva el potencial de desmineralización de la superficie del esmalte. La *Stevia*, sucralosa y sacarina revelaron propiedades antibacterianas e interfieren con el metabolismo bacteriano, según nuestra investigación se encontró para el análisis de la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* con los correspondientes edulcorantes *Esteviosídeo*: *Stevia* Vía al 25 mcg. y 50 mcg. presenta una concentración inhibitoria mínima mayor, por lo que reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*.

Así como en la investigación de Pérez (2013) los resultados de 3 ensayos realizados en 12 concentraciones de esencia para establecer la CIM y 12 concentraciones para establecer la CMB, accedieron elegir a la concentración inhibitoria mínima en 1.07mg/mL en la esencia en etanol de 70° y la concentración de 4.28mg/mL, en la esencia etanólica de *Stevia rebaudiana* de 30° y a la CMB en 10mg/mL en el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* de 70° y la concentración de 42.8mg/mL en la esencia etanólica de *Stevia rebaudiana* de 30° ( $p < 0.01$ ), en donde se concluye que posee efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en relación de la esencia etanólica de *Stevia rebaudiana*, con respecto a la investigación se analizó que se obtuvo menor la

concentración inhibitoria mínima en el crecimiento del *Streptococcus mutans* con edulcorantes *Esteviosídeo: Stevita* al 25 mcg. la media del halo de inhibición fue de 6 mm y *Esteviosídeo: Stevita* al 50 mcg. la media del halo de inhibición fue de 6 mm produjo también menor la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento de *Streptococcus mutans* y se utilizó la prueba de t student para muestras relacionadas encontrando que no existe diferencia significativa.

En relación con nuestro análisis se obtuvieron resultados de la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* con los correspondientes edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. la media del halo de inhibición fue 11.6 mm y 50 mcg. la media del halo de inhibición de 12.0 mm presenta una concentración inhibitoria mínima mayor. Mediante la prueba de t Student se determinó que existe diferencia en el nivel de significancia, la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento del *Streptococcus mutans* en medios con los edulcorantes *Esteviosídeo: Stevia Vía* al 25 mcg. y 50 mcg. encontrando una probabilidad  $p=0.01$ .

En la investigación existe evidencia que el uso del edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Vía*, en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reducen el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.

## VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados alcanzados en la investigación podemos concluir que:

1. El *esteviosídeo*: Stevia Vía en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reducen el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.
2. El *esteviosídeo*: Stevita en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, no reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana.
3. En los resultados presentaron mayor concentración inhibitoria mínima en el crecimiento *Streptococcus mutans* con el edulcorante *esteviosídeo*: Stevia Vía al 25 mcg. y 50 mcg.
4. En el análisis se obtuvieron menores concentraciones inhibitorias mínimas en el crecimiento *Streptococcus mutans* con edulcorantes *esteviosídeo*: Stevita al 25 mcg y al 50 mcg.
5. El consumo del edulcorante *esteviosídeo*: Stevia Vía reduce el riesgo de la lesión de caries dental ya que afecta a la concentración inhibitoria mínima en el crecimiento del *Streptococcus mutans* principal microorganismo causal del inicio de lesión de caries dental.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso de *esteviosídeo*: Stevia Vía para sustituir al azúcar en la alimentación diaria.
2. Es importante considerar más pesquisas con los demás productos de *esteviosídeo* que se distribuyen en el mercado nacional, y además se propone el uso continuo del edulcorante *esteviosídeo*: Stevia Vía porque es de fácil adquisición y de bajo precio.
3. Se propone realizar una pesquisa a una población determinada que agrupe un control de dieta e higiene bucal al aplicar los diversos edulcorantes *esteviosídeo* que se distribuyen en el mercado nacional y así determinar el potencial cariogénico.
4. El edulcorante *esteviosídeo* es fácil de adquirir en los supermercados nacionales, además de considerar las ventajas en relación a la salud bucal.

## VIII. REFERENCIAS

- Abdel, T., H., A., Niazy, M., A., & Elsharkawy E. (2020). Antibacterial Effect of Ginger, Green Tea and Pomegranate versus Chlorhexidine using *Stevia* and Sucrose sugar. *ADJ-for girls*,7(3),329-336. <http://doi:10.21608/adjg.2020.7838.1105>.
- Abdul, R., F., Baharuddin, B., A., Akbar, E., F., M., Norizan, A., H., Ibrahim, N., F., & Musa, M., Y. (2017). Alternative sweeteners influence the biomass of oral biofilm. *Arch Oral Biol*, 80,180-184. <http://doi:10.1016/j.archoralbio.2017.04.014>.
- Ajagannavar, S., L., Shamarao, S., Battur, H., Tikare, S., Al-Kheraif, A., A., & Al Sayed, M., S. (2014). Effect of aqueous and alcoholic *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) extracts against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent*, 4(2),116-121. <http://doi:10.4103/2231-0762.146215>.
- Barrancos, M., J. (1999). Operatoria dental. Tercera edición. Buenos Aires: Medica panamericana.
- Becerra, Q., L., M. (2016). *Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre el crecimiento de streptococcus mutans ATCC 25175*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1135>.
- Bender, A. (2010). *Diccionario de los Bender de nutrición y tecnología de los alimentos*. Zaragoza: acribia.

- Brambilla, E., Cagetti, M., G., Ionescu, A., Campus, G., & Lingström, P. (2014). An in vitro and in vivo Comparison of the Effect of *Stevia rebaudiana* Extracts on Different Caries-Related Variables: A Randomized Controlled Trial Pilot Study. *Caries Res*,48(1),19-23. <http://doi:10.1159/000351650>.
- Bridel, M., & Lavielle R. (1931). Sur le principe sucre des feuilles de kaa-he-e (*Stevia rebaudiana* B). *Academie des Sciences Paris Comptes Rendus, Parts*, 192, 1123-1125. Recuperado de 26 de octubre de 2020 de <https://www.bionity.com/en/encyclopedia/Stevia.html>.
- Das, S., Das, A., K., Murphy, R., A., Punwani, I., C., Nasution, M., P., & Kinghorn, A., D. (1992). Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Caries dental Res*, 26(5),363-366. <http://doi:10.1159/000261469>.
- Deviyanti, S., Herawati, M., & Ferhad, A. (2019). Antimicrobial potencial of *Stevia rebaudiana* Bertoni as Herbal Mouthwashes against cariogenic bacterial *Streptococcus mutans*. *International Conference on Community Development*, 2(1):317-321. <http://doi:10.33068/iccd.Vol2.Iss1.207>.
- Elton, J. (1990). *Stevioside Naturally* A Special. Recuperado de 1 noviembre de 2020 de <http://www.holisticmed.com/sweet/stv-ej.txt>.
- Escobar, E., Piedrahita, M., & Gregory, R., L. (2020). Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Clinical Oral Investigations*, 24,3237-3242. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03197-5>.

- Ganter, J., R., Hellwing, E., Doerken, S., & Ahmad, A.-A. (2019). In vitro evaluation of the cariogenic potential of rebaudioside A compared to sucrose and xylitol. *Clinical oral investigations*, 24,113-122. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02908-x>.
- Geuns, J., M., C. (2003). Molecules of Interest Stevioside. *Phytochemistry*. 64(5),913-921. [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00426-6](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00426-6).
- Giacaman, R., A., Campos, P., Muñoz-Sandoval, C., & Castro, R., J. (2013). Cariogenic potential of commercial sweeteners in an experimental biofilm caries model on enamel. *Arch Oral Biol*, 58(9),1116-1122. <http://doi:10.1016/j.archoralbio.2013.03.005>.
- Gómez, H., R. (2017). *Influencia del colutorio de Stevia rebaudiana y Xilitol sobre el pH salival después de la ingesta de alimentos, en niños de 6-12 años de la I.E. Integrada el Carmelo-Molinopata- Abancay 2017* [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de los Andes, Perú]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/52>.
- Hernandez, R, Mendoza, C. (2018). *Metodología de la investigación: las rutas cuantitativas y mixtas*. Mexico: McGraw-Hill.
- Hernandez, R, Fernandez, C, Baptista P. (2014). *Metodología de la investigación*. (6 ed.). Mexico D.F.: McGraw-Hill.
- Hocine, H. (2006). *Edulcorantes: comparación de productos naturales, artificiales y de alta intensidad*. Recuperado el 27 de octubre de 2020 de [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/invernada\\_promotores\\_crecimiento/15-edulcorantes.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/15-edulcorantes.pdf).

- Jeppesen, P., B., Gregersen, S., Poulsen, C., R., & Hermansen, K. (2020). Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate – sensitive K<sup>+</sup> channel activity. *Metabolism*, 49(2),208-214. [http://DOI:10.1016/s0026-0495\(00\)91325-8](http://DOI:10.1016/s0026-0495(00)91325-8).
- Junca, P., A., E. (2016). *Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de la Stevia rebaudiana* [Tesis de pregrado, Universidad de las Américas]. Repositorio Institucional. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/6044>.
- Kishta, D., M., Neiva, G., F., Boynton, J., R., Kim, Y., E., & Fontana, M., (2016). The antimicrobial potential of *Stevia* in an in vitro microbial caries model. *Am J Dent*, 29(2), 87-92.
- Liébana, U., J. (2002). *Microbiología Oral*. 2° Edición. España: Mc Graw–Hill Interamericana.
- López, R., E., F., Cevallos, G., F., M., y Santana, A., M., B. (2015). *Valoración del ph salival mediante el consumo del café (natural-procesado) endulzados con azúcar morena y edulcorantes, asociados a caries* [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3767>.
- Muñoz, M., J., E. y Guevara F., E., L. (2017). *Análisis del efecto inhibitorio de Stevia en diferentes concentraciones sobre streptococcus mutans, estudio in vitro*. [Tesis de pregrado, Universidad central de Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9380>.

Newbrun, E. (1991). *Cariologia*. México: Limusa S.A.

Pairazaman, G., Rios-Caro, T., (2020) Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre los factores de virulencia cariogénicos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Agroindustrial Science*, 10 (1) <http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.01.13>.

Pérez, G., S., P. (2013). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre Streptococcus mutans ATCC 25175* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/596>.

Pérez, L.A.G. (2004). *Caries dental en diente deciduos*. Lima: Diseño total S.R.L.

Roncalla, F., C., E. (2017). *Efecto de los endulzantes Stevia y Splenda sobre el pH salival en estudiantes de octavo semestre de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas. Arequipa-2017* [Tesis de pregrado, Universidad Alas Peruanas]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/5224>.

Siraj, E., S., Pushpanjali, k., & Manoranjitha, B., S. (2019). Efficacy of stevioside sweetener on pH of plaque among young adults. *Dent Res J*,16(2),104-109.

Shinde, M., R., & Winnier, J. (2020). Comparative evaluation of *Stevia* and Xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* count-A pilot study. *J Clin Exp Dent*,12(6),568-573. <https://doi.org/10.4317/jced.55720>.

- Shinde, M., R., & Winnier, J. (2020). Health Benefits Application of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Dentistry. *Journal of Drug Delivery & therapeutics*,10(4),271-274.  
<http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i4-s.4285>.
- Shinde, M., R., & Winnier, J. (2020). Effects of *Stevia* and xylitol chewing gums on salivary flow rate, pH, and taste acceptance. *Journal of dental Research and Review*,7(2),50-55.
- Urbina, C., L., M. (2016). *Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre el crecimiento de lactobacillus acidophilus ATCC 4356* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]. Repositorio Institucional.  
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1153>.
- Vandana, K., Reddy, V., C., Sudhir, K., M., Kumar, K., Raju, S., H., & Babu, J., N. (2017). Effectiveness of *Stevia* as a mouthrinse among 12-15-year-old schoolchildren in Nellore district, Andhra Pradesh - A randomized controlled trial. *J Indian Soc Periodontol*, 21(1), 37-43.
- Xili, L., Chengjiany, B., Eryi, X., Reiming, S., Yuengming, W., Haodong, S., & Zhiyian, H. (1992). Chronic oral toxicity and carcinogenicity study of stevioside in rats. *Food Chem. Tox.* 30(11), 957-965.

## **IX. ANEXOS**

**Tabla 7.**

*Matriz de Consistencia.*

Título: EDULCORANTE <i>ESTEVIOSÍDEO</i> EN LA REDUCCIÓN DEL FACTOR DE RIESGO CARIOGÉNICO DEL <i>Streptococcus mutans</i> EN LA POBLACIÓN PERUANA								
PROBLEMA	OBJETIVO GENERAL	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	SEGÚN SU NATURALEZA	ESCALA
¿De qué manera el uso del edulcorante <i>Esteviosídeo</i> , en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del <i>Streptococcus mutans</i> en la población peruana?	Determinar que el uso del edulcorante <i>Esteviosídeo</i> , en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del <i>Streptococcus mutans</i> en la población peruana.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i>: Stevita 25 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>2. Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i>: Stevia Vía 25 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>3. Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i>: Stevita 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>4. Determinar in Vitro la concentración inhibitoria mínima del <i>Esteviosídeo</i>: Stevia Vía 50 mcg. en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>5. Comparar el efecto de las diferentes concentraciones al 25 mcg. y 50 mcg. del <i>Esteviosídeo</i>: Stevita y Stevia Vía en el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i>.</li> </ol>	El uso del edulcorante <i>Esteviosídeo</i> , en sus diferentes niveles de concentración inhibitoria, reduce el factor de riesgo cariogénico del <i>Streptococcus mutans</i> en la población peruana.	Variable independiente:	Stevita Stevia Vía	Concentración: 25 mcg. 50 mcg.	Cualitativa	Nominal
				Tipo de Edulcorantes				

Fuente: autoría propia

## **9.1. Validación y confiabilidad de instrumento**

La validez y confiabilidad de los resultados de nuestra investigación se establece en realizar diversos protocolos y procedimientos técnicos que van a garantizar los resultados recogidos para poder explicar y además lograr las interpretaciones que se aproximarán a la realidad. Por lo cual garantizará la respuesta con relación a lo que sucede en la realidad, entonces la validez busca dar cuenta de los procedimientos efectuados para demostrar los objetivos e hipótesis de la investigación.

Además, la investigación es de tipo cuantitativa nos permite que la validez se encuentra en la fase de la recolección de los datos y no en la de análisis e interpretación. Entonces se demuestra la validez interna al grado en que los datos son extraídos correctamente de cada una de las muestras, no solo en la fase de recolección, sino en el análisis e interpretación y la validez externa nos brindara por el grado de los resultados que nos permitira generalizar en la población peruana. Por lo que dicha validez se dará por la rigurosidad metodológica. En la contrastación de la investigación cualitativa se realiza al contrastar las interpretaciones con otros investigadores, es decir, el proceso de análisis e interpretación de los datos se realiza en grupo, contrastando los resultados de cada investigador para lograr intersubjetividad. En nuestra investigación se logrará alcanzar la validez, que busca ante todo la contrastación en diversos niveles de la investigación en post de una validación intersubjetiva de teorías, datos, investigadores y métodos.

## Figura de la investigación

La presentación del edulcorante *Esteviosídeo* para estudio fue el siguiente:

### Figura 5.

*Esteviosídeo*: Stevita en polvo.



Fuente: autoría propia

### Figura 6.

*Esteviosídeo*: Stevia Vía en polvo.



Fuente: autoría propia

La presentación del edulcorante *Esteviosídeo* para estudio fue el siguiente:

**Figura 7.**

*Esteviosídeo*: Stevita 25 mcg. en polvo.



*Fuente: autoria propia*

**Figura 8.**

*Esteviosídeo*: Stevia Vía 25 mcg. en polvo.



*Fuente: autoria propia*

### Figura 9.

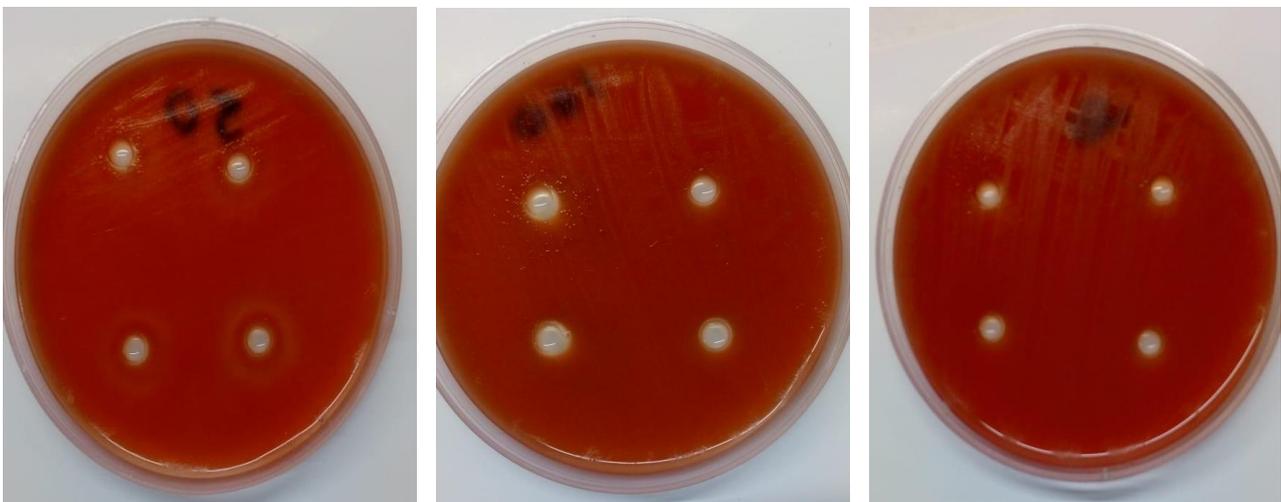
Las placas con *Streptococcus mutans* y el edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita 25 mcg. se observa menor concentración inhibitoria mínima.



Fuente: autoria propia

### Figura 10.

Las placas con *Streptococcus mutans* y el edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita 50 mcg. se observa menor concentración inhibitoria mínima.



Fuente: autoria propia

### Figura 11.

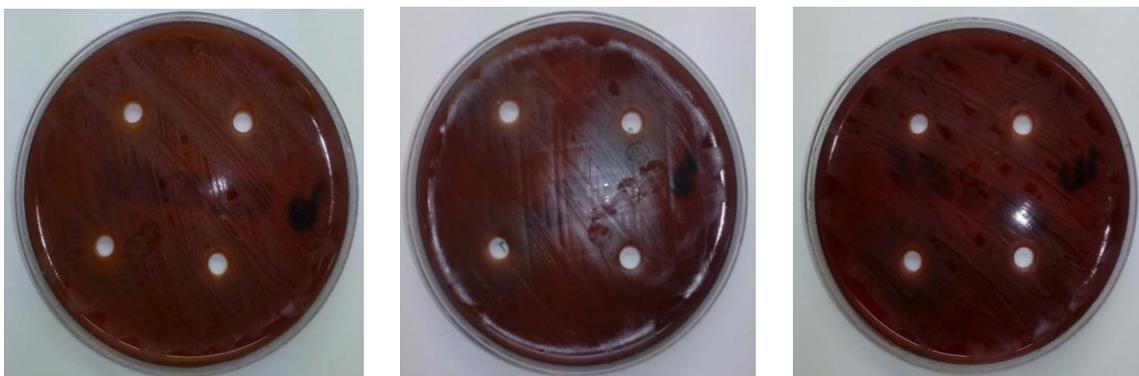
Las placas con *Streptococcus mutans* y el edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Via* 25 mcg. se observa mayor concentración inhibitoria mínima.



Fuente: autoria propia

### Figura 12.

Las placas con *Streptococcus mutans* y el edulcorante *Esteviosídeo: Stevia Via* 50 mcg. se observa mayor concentración inhibitoria mínima.



Fuente: autoria propia

**Figura 13.**

*Clorhexidina al 2%.*



*Fuente: autoria propia*

**Figura 14.**

Las placas con *Streptococcus mutans* y Clorhexidina al 2% se observa la concentración inhibitoria mínima.



*Fuente: autoria propia*

## Tabulación de datos

**Tabla 8.**

El edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita y Stevia Vía 25 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*.

<b>ESTEVIOSÍDEO 25 mcg</b>		
<b>PLACAS</b>	<b>STEVITA</b>	<b>STEVIA VIA</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

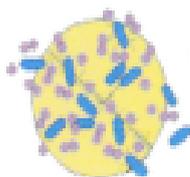
Fuente: autoría propia

**Tabla 9.**

El edulcorante *Esteviosídeo*: Stevita y Stevia Vía 50 mcg. en concentración inhibitoria mínima, reduce el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans*.

<b>ESTEVIOSÍDEO 50 mcg</b>		
<b>PLACAS</b>	<b>STEVITA</b>	<b>STEVIA VIA</b>
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

Fuente: autoría propia



## LABORATORIO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Biqa. Nora Bravo Cruz

Dr. Alfredo Guillén Oneglio

Sor Edecia 130, San Miguel, Telef. 578-5799

---

'Año de la Universalización de la Salud'

### CERTIFICADO DE EJECUCIÓN

San Miguel, 29 de junio del 2020

El que suscribe, Jefe del laboratorio de Análisis Microbiológicos deja constancia:

Es grato dirigirme a Ud. para saludarlo a nombre del laboratorio de Análisis Microbiológicos y al mismo tiempo para comunicarle que la alumna Tania Díaz Mendoza identificada con DNI N° 10689753, y registrada en la Universidad Nacional Federico Villarreal ha ejecutado su tesis de investigación titulado: **Edulcorante esteviosideo en la reducción del factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* en la población peruana en las instalaciones del laboratorio a la cual represento, realizando las labores desde 11 de mayo hasta 29 de junio del 2020.**

Se expide el presente a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente

Atentamente,



---

Alfredo Guillén Oneglio  
Colegio Médico del Perú 16795