

**Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales
(Estudio *in vitro*)****Sensitivity of *Streptococcus mutans* to three commercial mouthwashes (*in vitro* study)**

Aguilera María C, Romano E, Ramos Norys, Rojas Laura
Departamento de Ciencias Morfopatológicas.
Facultad de Odontología. Universidad de Carabobo
tinaveya@hotmail.com

Recibido: 02/02/2011
Aceptado: 02/03/2011

Resumen

Streptococcus mutans es una bacteria que se relaciona con la biopelícula cariogénica. El objetivo de este estudio fue demostrar la sensibilidad *in vitro* del *S. mutans* a los compuestos triclosán, cloruro de cetilpiridinio y gluconato de clorhexidina presentes en tres enjuagues bucales comerciales mediante el método de difusión en disco de papel de filtro y comparar la sensibilidad del *S. mutans* a dichos compuestos mediante la medición de los halos de inhibición antimicrobianos. El estudio se enmarcó dentro de un diseño de investigación experimental. La muestra estuvo conformada por una cepa liofilizada de *S. mutans* la cual se sembró en placas de Petri con agar soya sobre los cuales fueron colocados discos de papel de filtro impregnados con los compuestos triclosán al 0,03% (Colgate Plax®), cloruro de cetilpiridinio al 0,053% (Oral B®) y clorhexidina al 0,12% (Peridont®) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de cada disco. Los resultados obtenidos demuestran que el *S. mutans* es sensible a todos los enjuagues bucales, sin embargo existieron diferencias entre las mediciones del halo de inhibición de cada enjuague, teniendo el triclosán un halo de 35 mm, clorhexidina 8 mm y cloruro de cetilpiridinio 3 mm.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, triclosán, cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina, sensibilidad.

Summary. Sensitivity of *Streptococcus mutans* to three commercial mouthwashes (*in vitro* study)

Streptococcus mutans is a bacterium related to the caries biofilm. The aim of this study was to demonstrate the *in vitro* sensibility of *S. mutans* to the compounds triclosan, cetylpyridinium chloride and chlorhexidine gluconate in three commercial mouthwashes, by the method of diffusion on a filter paper discs and compare the sensitivity of *S. mutans* to these compounds by measuring the inhibition halos antimicrobials. The study is part of an experimental design. The sample consisted of a lyophilized strain of *S. mutans*, which was sown in plates Petri with agar soy which were placed on filter paper discs impregnated with compounds 0.03% triclosan (Colgate Plax®), cetylpyridinium chloride at 0.053% (Oral B®) and chlorhexidine gluconate at 0,12% (Peridont®); then measured the inhibition halos formed around each discs. The results show that *S. mutans* is sensitive to all mouthwash, but there are differences between the measurements of inhibition zone of each rinse, with the halo 35 mm triclosan, chlorhexidine gluconate 8 mm, and cetylpyridinium chloride 3 mm.

Key words: *Streptococcus mutans*, triclosan, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine gluconate, sensibility.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud estima que cinco mil millones de personas en el planeta han sufrido de caries dental, esto correspondería casi al cien por ciento de los habitantes del mundo; además de ser la principal causa de pérdida dentaria en niños y adultos jóvenes.¹

En Venezuela, según el Programa Nacional de Salud Bucal del Ministerio de Salud, la caries y la enfermedad periodontal son las principales afecciones bucales padecidas por los venezolanos, ya que es muy difícil lograr que el paciente se cepille continuamente, use el hilo dental, enjuague bucal y que, en general, tenga buenos hábitos de higiene bucal, herramientas que minimizan tanto la caries como la enfermedad periodontal.

Para comenzar, la caries es definida como una enfermedad infecciosa multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente, como consecuencia de una desmineralización provocada por los ácidos que genera la placa bacteriana a partir del metabolismo oxidativo de los hidratos de carbono de la dieta.² De tal manera, se considera que la caries representa un desequilibrio mantenido en la cavidad oral, de tal modo, que los factores que favorecen la desmineralización (ácidos de la placa bacteriana, reducción del flujo salival, reducción de la capacidad amortiguadora de la saliva, saliva ácida y ácidos erosivos) predominan sobre los que favorece la remineralización y reparación de estos tejidos (capacidad amortiguadora de la saliva, niveles de calcio y fósforo y aplicación de fluoruros tópicos).³

Entre los microorganismos que se encuentran involucrados en el desarrollo de la biopelícula o placa dental se encuentran el *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *Lactobacillus spp* y *Veillonella spp*. Específicamente el *Streptococcus mutans* se relaciona con la biopelícula cariogénica. Su morfología es de coco gram positivo, anaerobio y aerobio facultativo y se dispone en pares o en cadenas cortas. Antes de la formación de la caries dental tiene lugar un aumento significativo de *S. mutans* en saliva.⁴

Con referencia a lo anterior, si la caries no es inactivada, tras la destrucción del esmalte ataca a la

dentina y alcanza la pulpa dentaria produciendo su inflamación, pulpitis, y posterior necrosis (muerte pulpar). El resultado final es la inflamación del área que rodea el ápice o extremo de la raíz, periodontitis apical, pudiendo llegar a ocasionar una celulitis e incluso hasta llegar a producir un absceso y finalmente pérdida dentaria.²

De esta manera se sabe que la caries dental se desarrolla en parte por la interacción de los productos del metabolismo de la placa dentobacteriana sobre la superficie dentaria, por cual es fundamental la implementación de métodos de control de placa de forma regular.

Por lo tanto, el reconocimiento de la caries dental como una enfermedad multifactorial en la cual actúan microorganismos específicos involucrados en su etiología, posibilita el empleo racional de antimicrobianos locales en la odontología moderna. Esto conduce a un control de la infección, y por consiguiente, una disminución del riesgo cariogénico del paciente.

Entre los antimicrobianos locales utilizados para realizar el control de placa se encuentran los enjuagues bucales, los cuales son soluciones hechas a base de antisépticos, que se usan después del cepillado dental para disminuir el número de bacterias causantes de caries y eliminar el aliento desagradable. El *Council on scientific affairs* de la *American Dental Association* (ADA) implementó un programa de aceptación de sustancias de control de placa. Esas sustancias se valoran en estudios clínicos controlados con placebos de seis meses o más y deben demostrar mejor aumento de la salud gingival comparada con los controles. Hasta la fecha, la ADA ha aceptado dos sustancias para tratar la gingivitis: soluciones en enjuague bucal de digluconato de clorhexidina que se adquiere con receta y un enjuague bucal de aceites esenciales que se compra sin receta.⁵

Camejo⁶, determinó la sensibilidad *in vitro* de los enjuagues sanguinarina (Veadent), compuesto fenólico (Listerine) y clorhexidina (Peridex) demostrando que el *Streptococcus mutans* sólo fue sensible a la clorhexidina.

Piovano y col ⁷, evaluaron el efecto de un barniz de clorhexidina al 1%, timol al 1%, sobre los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva,

luego de realizar enseñanza y evaluación de técnicas de higiene bucal e inactivación de caries. Obtuvieron resultados en los cuales los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva disminuyeron gradualmente en cada una de las acciones referidas al control de la infección cariogénica y la aplicación de barniz de clorhexidina al 1% reduce significativamente dichos niveles, comparados con el control.

Adicionalmente, Reyes y col ⁸, realizaron un estudio, en el cual encuestaron a una población de 50 personas, para saber cuáles eran los enjuagues más utilizados, luego analizaron las marcas en cuanto a los ingredientes que contienen y a su precio, y tomaron muestras a las personas con un hisopo estéril en una placa de agar nutritivo para comprobar el efecto bactericida. Sus resultados fueron que el enjuague que contiene salicilato de metilo y timol (Listerine) fue el más efectivo, sin embargo, el salicilato de metilo produce enrojecimiento de las mucosas. Por esta razón, los autores recomendaron el enjuague cuyo compuesto es el cloruro de cetilpiridinio, ya que reduce la cantidad de bacterias de la capa dental sin afectar la salud y a un precio accesible.

En tal sentido, y considerando a los enjuagues bucales como un método masivo para el control de placa dentobacteriana tan difundido a nivel mundial, es relevante demostrar la sensibilidad *in vitro* del *Streptococcus mutans*, uno de los principales microorganismos cariogénicos, a los compuestos triclosán, cloruro de cetilpiridinio y gluconato de clorhexidina presentes en tres enjuagues bucales comerciales, mediante el método de difusión en disco de papel de filtro y comparar la sensibilidad del *Streptococcus mutans* a los compuestos mencionados, para sustentar su recomendación como método de prevención de la caries dental, destacando sus efectos ante el microorganismo más patógeno dentro de la placa dentobacteriana.

Materiales y métodos

El presente estudio es experimental, cuya muestra biológica estuvo conformada por una cepa liofilizada de *Streptococcus mutans*, procedente de la bacteriotea del Departamento

de Microbiología de la Escuela de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, la cual fue resuspendida en 3 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro - Corazón) marca Oxoid, CM0225. El caldo fue llevado a una estufa a 37°C por un lapso de 24 h en condiciones de microaerofilia. Posteriormente, se realizó una tinción de Gram para comprobar la pureza de la cepa, observándose al microscopio óptico la morfología característica del *S. mutans* (figura 1) y se preparó un inóculo de crecimiento bacteriano con una turbidez de 0,5 según el patrón de McFarland.

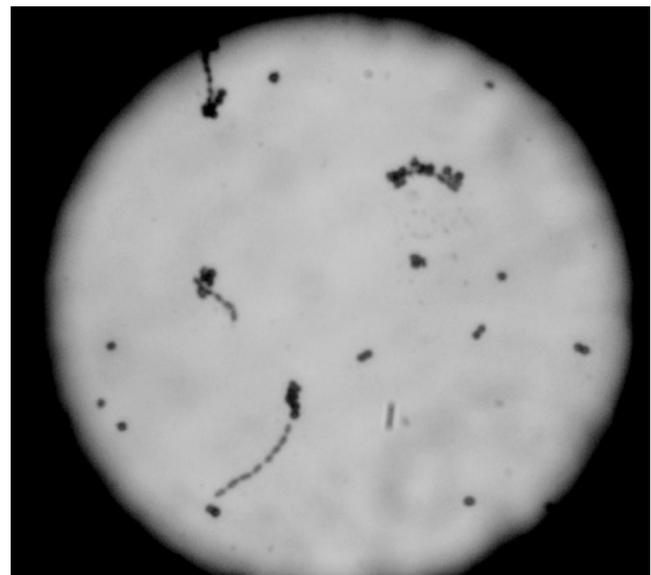


Figura 1. Morfología típica del *Streptococcus mutans*. Observación al microscopio óptico.

Las bacterias se sembraron en condiciones estériles en placas de Petri con agar soya con un hisopo estéril mediante el método de superficie, en cada placa se colocaron 3 discos de papel de filtro estériles de ¼ de pulgada (Double Rings), uno impregnado con triclosán al 0,03%, otro con cloruro de cetilpiridinio al 0,053% y otro con clorhexidina al 0,12%, la concentración de cada compuesto activo corresponde con la presente en los enjuagues comerciales. Además se colocó un disco con amoxicilina-ácido clavulánico al 20/10 mcg (Sensi disc TM, BBLTM) como control positivo, y otro disco con agua destilada estéril como control negativo en cada placa de Petri; las placas fueron incubadas en una estufa a 37°C con

condiciones de baja presión de oxígeno por un período de 24-48 h, los ensayos se realizaron por triplicado. El halo de inhibición de crecimiento del *S. mutans* alrededor de cada disco colocado en las placas de Petri, fue registrado en mm en una guía de observación.

El diámetro del halo de inhibición de crecimiento del *Streptococcus mutans* formado por cada disco de papel de filtro con el producto activo del enjuague bucal fue diferente según el enjuague. El disco con el control positivo (amoxicilina-ácido clavulánico) presentó un halo de inhibición del crecimiento de la bacteria

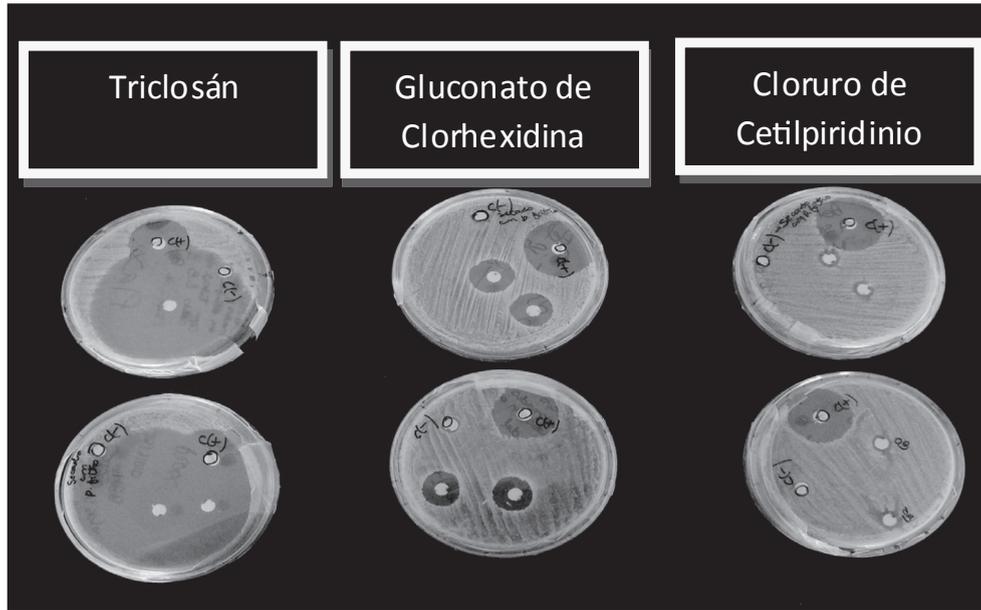


Figura 2. Halos de inhibición formados por cada compuesto de los enjuagues bucales. Método de difusión en disco de papel de filtro.

Resultados

Los resultados obtenidos de esta investigación demuestran que el *Streptococcus mutans* fue sensible a todos los enjuagues bucales, ya que en todas las placas hubo formación de un halo de inhibición alrededor de cada compuesto (figura 2).

con promedio 15 mm de diámetro, el disco con triclosán tuvo el mayor halo de inhibición con un promedio de 35 mm de diámetro, seguido del halo de inhibición del disco de papel de filtro con el gluconato de clorhexidina con un promedio de 8 mm de diámetro y el halo de inhibición del cloruro de cetilpiridinio que presentó un menor promedio, con 3 mm de diámetro (figura 3).

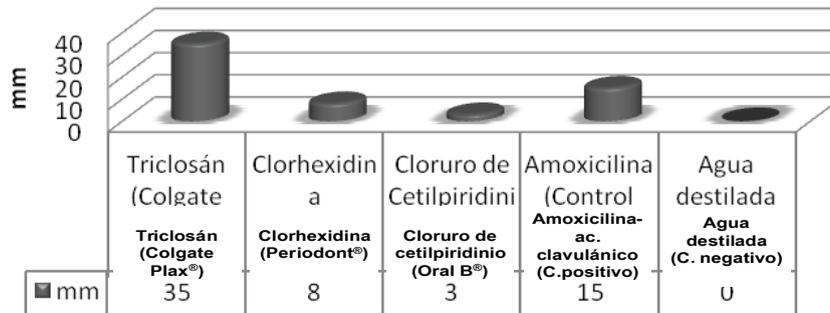


Figura 3. Sensibilidad *in vitro* del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales.

Discusión

Destacando que los antimicrobianos utilizados para realizar este estudio fueron el gluconato de clorhexidina, el triclosán y el cloruro de cetilpiridinio, es conveniente mencionar las propiedades y efectos de dichas sustancias sobre los microorganismos, y así comprender mejor su acción bactericida. Dado que el gluconato de clorhexidina es una bis-biguanida se considera de acción rápida y presenta un elevado índice de adhesión residual o permanencia en la piel (sustantividad), con un tiempo de duración de 7 a 12 h en concentraciones al 0.12% y 0.2% y combinado con otros compuestos como alcoholes, usado en los colutorios, presenta un amplio espectro antimicrobiano y fungicida. A pH entre 5 y 8 es muy eficaz frente al *Streptococcus mutans* y la *Cándida albican*, así como a otras bacterias grampositivas y gramnegativas.⁹

Por otra parte, el triclosán es un derivado fenólico con propiedades antisépticas cuyo mecanismo de acción permite la difusión del producto a través de la membrana citoplásmica para inhibir la síntesis de ARN, lo cual conlleva a una acción bactericida de amplio espectro, pero en dosis menores tiene un efecto bacteriostático, es un agente que puede ser de uso diario.

El cloruro de cetilpiridinio es un amonio cuaternario cargado catiónicamente, cuyo mecanismo de acción favorece la permeabilidad de la pared bacteriana, lo que afecta la capacidad de la bacteria para adherirse a la superficie dentaria, reduciéndola en 35%; sin embargo, son de eficacia moderada y se eliminan rápidamente de las superficies bucales.⁹

Existen de igual manera, trabajos que no sólo corroboran lo expuesto, sino confrontan la efectividad de los mismos como el realizado por Camejo⁶ quien determinó la sensibilidad *in vitro* de *S. mutans* a los enjuagues bucales, sanguinarina (Veadent), compuesto fenólico (Listerine) y gluconato de clorhexidina (Peridex), obteniendo como resultado que *S. mutans* no es sensible a los enjuagues bucales con sanguinarina (Veadent) y compuesto fenólico (Listerine), pero sí al gluconato de clorhexidina (Peridex), en el cual se comprobó un halo de inhibición de 8.2 mm, similar al diámetro del halo de inhibición

del gluconato de clorhexidina observado en la presente investigación.

En un estudio clínico realizado por Emilson¹⁰, se evidenció el efecto del gluconato de clorhexidina sobre el crecimiento del *S. mutans*. En la investigación se utilizó un gel de clorhexidina cinco minutos diarios durante catorce días, los resultados demostraron la reducción del crecimiento del *S. mutans* en la placa y a los catorce días de suspendido el tratamiento, los niveles de la bacteria se restablecieron a los iniciales.

En un estudio triple-ciego presentado por Manau y col¹¹, en el que se comparó la actividad de un colutorio de clorhexidina con un colutorio de fluoruro estañoso y con otro de fluoruro de aminas, como complemento del cepillado durante tres meses, concluyeron que el más eficaz en el control de placa fue el que contenía clorhexidina.

Por otra parte, Sekino y col¹² evaluaron la capacidad de inhibición de la clorhexidina en la formación de *novo* de placa (implicado en ello el *S. mutans*), en un estudio de formación de placa de 4 días en 10 sujetos, analizando la recolonización bacteriana de placa y saliva. En el estudio se concluyó que la clorhexidina usada como colutorio combinado con gargarismos y aplicación en lengua, retarda de manera significativa la formación de nueva placa tras 4 días sin control mecánico de la misma.

Padilla y col¹³ estudiaron la susceptibilidad de *Streptococcus mutans* para formar o no biopelícula dentobacteriana en presencia de clorhexidina, triclosán y fluoruro de sodio utilizado en colutorios orales; las cepas se aislaron desde la saliva de los pacientes y se consiguieron 60 cepas productoras y 60 no productoras de biopelícula. Los resultados evidenciaron una importante resistencia de la cepa de *S. mutans* productoras de biopelícula a los tres componentes presentes en los colutorios, para clorhexidina una resistencia de 56.7%, para triclosán 78.3% y para fluoruro de sodio 93.3%. Las cepas no productoras de biopelícula fueron todas sensibles a clorhexidina y se observó 5% de resistencia al triclosán y un 12% de resistencia al fluoruro de sodio.

En cuanto al compuesto triclosán, Imazato y col¹⁴, realizaron un estudio en Japón, donde evaluaron

el efecto inhibitorio de una resina compuesta con triclosán al 1%, los resultados demostraron inhibición significativa del crecimiento de *S. mutans* después de 6, 12 y 24 h de incubación, lo que coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio en las placas de Petri con discos impregnados con triclosán, cuyo halo de inhibición fue de mayor diámetro para el crecimiento del *S. mutans*.

Addy y col ¹⁵ afirman que el triclosán tiene un control antiplaca similar al fluoruro sódico, pero muy inferior a clorhexidina 0,12%, lo cual difiere con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que el enjuague que contiene triclosán tuvo una mayor inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* que la clorhexidina.

Harper y col ¹⁶ compararon una serie de productos comerciales franceses entre los que se encontraba el cloruro de cetilpiridinio al 0,5% (Alodont ®) y concluyeron que el cloruro de cetilpiridinio era el tercero en producir un descenso de carga bacteriana en saliva, siendo significativamente inferior a otros compuestos de clorhexidina y hexetidina, esto coincidiendo con la presente investigación, en el cual la clorhexidina mostró mayor inhibición en el crecimiento de *Streptococcus mutans* que el cloruro de cetilpiridinio.

Conclusiones

El *Streptococcus mutans* es sensible a enjuagues bucales que tengan en su composición triclosán, cloruro de cetilpiridinio o gluconato de clorhexidina; contenidos en los enjuagues bucales comerciales Colgate Plax®, Oral B® y Peridont®.

Referencias

1. World Health Organization. La Organización Mundial de la Salud publica un nuevo informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. [Internet]: [Citado 20 Ene 2009]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/>.
2. Barrancos J, Barrancos P. Operatoria dental. 4ta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
3. Mount, Graham, Hume W.R. Conservación y restauración de la estructura dental. 2da ed. Madrid: Harcourt Brace de España; 2009.
4. Ray CG, Ryan K. Sherris. Microbiología médica. Una introducción a las enfermedades infecciosas. 4ed. México: Mc Graw Hill Interamericana; 2004.
5. Newman M, Takei H, Carranza F. Periodontología clínica. 9na ed. México: Mc Graw Hill Interamericana; 2004.
6. Camejo MV. Sensibilidad in vitro de *Streptococcus mutans* a sanguinarina, compuesto fenólico y clorhexidina. Acta odont venez. 1999; 37(2): 33-7.
7. Piovano S, Marcantoni M, Doño R, Bellagamba H. Efecto de un barniz de clorhexidina sobre *Streptococcus mutans* en saliva. Acta Odontol. Latinoam. 2005; 18(1): 7-13.
8. Reyes M, Reyes M, Zepeda C. Comparación del efecto bactericida de algunos enjuagues bucales. [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2007.
9. Florez J. Farmacología humana. 5ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2008.
10. Emilson CG. Effect of clorhexidine gel treatment of *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. Scand J Dent Res. 1981; 89: 239-46.
11. Manau C, Martínez Lizan I, Ramon Torrel JM. Efectividad comparativa de un colutorio de fluoruro estañoso y fluoruro de aminas (Lemirol®) en el control de placa, gingivitis y *E. mutans salivaris*: Resultados a los tres meses. Actualidad Odontoestomatológica Española. 1993;422:47-53.

12. Sekino S, Ramberg P, Guzin Uzel N, Socransky S, Lindhe J. The effect of a chlorhexidine regimen on the novo plaque formation. Journal. J Clin Pathol. 2004; 31:609-14.
13. Padilla C, Lobos O, Villagra C, Padilla A. Susceptibilidad de cepas de *Streptococcus mutans* productores y no productores de biofilm, frente a la clorhexidina, triclosan y fluoruro de sodio utilizadas en colutorios orales. Latinoam actual biomed. 2007; 1:23-8.
14. Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y. Antibacterial effect of composite incorporating Triclosan against *Streptococcus mutans*. J Osaka univ dent sch. 1995; 35:5-11.
15. Addy M, Jenkins S, Newcombe R. The effect of triclosan, stannous fluoride and chlorhexidine on: (I) plaque regrowth over a 4-day period. J Clin Pathol. 1990; 17:693-7.
16. Harper P, Milson S, Addy M, Morm J, Newcombe RG. An approach to efficacy screening of mouthrinses: Studies on a group of French products (II) inhibition of salivary bacteria and plaque *in vivo*. J Clin Pathol. 1995; 22:723-7.

