

EFFECTO DEL DENTRÍFICO COLGATE TOTAL SOBRE EL CRECIMIENTO DEL

STREPTOCOCO mutans.

EFFECT OF THE DENTIFRICE "COLGATE TOTAL" OVER THE GROWTH OF

mutans STREPTOCOCCI.

**Linda Caracushansky Gluckstein, María Cecilia Martínez Pabón,
Lilliana Mesa Cadavid.**

Estudiantes de Pregrado de Odontología, C.E.S.

Instituto de Ciencias de la Salud. C.E.S.

Correspondencia: María Cecilia Martínez Pabón.

**Calle 16 # 41-143 Ed. Monte Real, Apto 401. Telefax: 3125315.
Medellín-Colombia**

RESUMEN:

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del dentrífico " Colgate Total " sobre el crecimiento del *S. mutans*, establecer una concentración inhibitoria mínima y buscar una aproximación a un tiempo y concentración óptimos para el uso adecuado de este producto.

Se trabajó con una cepa nativa de *S. mutans* del grupo *d*.

El microorganismo fue sometido a una prueba de sensibilidad con diferentes concentraciones del dentrífico para obtener la concentración inhibitoria mínima. Luego se realizó un diseño experimental con la metodología de superficie de respuesta, con las variables tiempo y concentración; este fue realizado con la ayuda del programa stat graphics. El diseño obtenido fue realizado primero sin ninguna modificación y luego fue repetido fijando el pH en 5.5 y agregando 5 % sacarosa. Se encontró una concentración inhibitoria mínima de 25 mg/ml y en cuanto a la interacción de las variables encontramos que a medida que aumenta el tiempo, aumenta el número de unidades formadoras de colonias. La concentración y tiempos óptimos fueron 62,5 mg/ml y 3 minutos respectivamente; y 72.5 mg/ml y 2.8 minutos para el experimento con pH 5.5 y 5 % de sacarosa. Se encontró un valor umbral de 90 mg/ml y 78 mg/ml a partir del cual el número de unidades formadoras de colonias asciende nuevamente.

De esto podemos concluir que:

- La concentración inhibitoria mínima de Colgate Total sobre el *S. mutans* en agar tioglicolato es de 25 mg/ml.
- Concentraciones superiores a 78 mg/ml muestran tendencia a aumentar el número de unidades formadoras de colonias.
- El Colgate Total tiene un efecto bacteriostático sobre el *S. mutans*.

Palabras Claves: *Mutans*, Colgate Total, dentrífico, Triclosán , Gantrez.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of the dentifrice "Colgate Total" over the growth of *Mutans Streptococci*, and a minimum inhibitory concentration for the adequate use of this product.

A native strain of *Mutans Streptococci* of d group, was used. This microorganism was subjected to a sensibility test with different concentrations of dentifrice in order to obtain a minimum inhibitory concentration. Then, an experimental design was carried out with the methodology of surface response with variables of time and concentration. This was done with the help of Stat Graphics program . The design accomplished was done first without alterations, then it was repeated fixing pH at 5.5 and adding 5% of sacarose. A minimum inhibitory concentration was established in 25 mg/ml. The relationship between the variables determined that as time passes, the number of colonies increases.

The optimum time and concentration was established in 62.5 mg/ml in 3 min, and in the second experiment 72.5 mg/ml in 2.8 min. A threshold was also established in 90 mg/ml and 78 mg/ml from where the number of colonies increases. From this findings we conclude:

- Concentrations above 78 mg/ml show a tendency to increase the number of colonies.
- The effect that "Colgate Total" shows over the microorganism is bacteriostatic.

Key Words:

S. mutans, "Colgate Total", Dentifrice, Triclosan, Gantrez.

INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LA LITERATURA:

El dentrífico es un producto usado masivamente para la prevención de la caries y en general como ayudante de la higiene oral; tradicionalmente los componentes de este producto han sido: Agentes abrasivos, estabilizantes, humectantes, agentes espesantes o ligantes, agentes aglutinantes, agentes espumantes y agentes aromatizantes (1).

Se han realizado estudios para probar el efecto sobre los microorganismos orales de diferentes sustancias usadas en los dentríficos como: Triclosán, cloruros, lauril sulfato de sodio, citrato de zinc, clorhexidina, ácido maléico, copolímero o gantrez, metoxitileno, carbonato de calcio, pasta de base de aluminio, aceite de silicona, cloruro de sodio y algunos productos naturales. Se ha encontrado que todos ejercen efecto inhibitorio y que algunas combinaciones son más eficaces (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11).

Recientemente, salió al mercado el dentrífico "Colgate Total^{Reg}", que contienen como agentes terapéuticos Gantrez y Triclosán. El Triclosán es un polvo que actúa como bactericida de amplio espectro (12,13) y el Gantrez es un hidrocoloide comestible sintético, es un espesante y estabilizante que se usa como base de los dentríficos, porque al entrar en contacto con las enzimas salivares no produce

azúcares que puedan fermentarse como en el caso de otros hidrocoloides (14). Según los fabricantes esta combinación ejerce un efecto antibacterial de acción continua, que evita la caries y mantiene la salud de los tejidos orales.

Con el fin de comprobar esta acción antibacterial, se realizó un estudio cuasiexperimental "in vitro", utilizando una cepa nativa de *S. Mutans* del grupo *d*, aislado de un paciente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia. Este microorganismo es habitante normal de la cavidad oral y es considerado uno de los principales factores etiológicos en la producción de la caries dental (15). Entre sus características fundamentales está su capacidad de mutar, de allí que se puede encontrar en forma de bacilo o coco (15). Es anaerobio facultativo y puede sintetizar glucano a partir de sacarosa, lo que le permite adherirse a superficies duras, es acidogénico (15) y tiene capacidad de sobrevivir a un pH muy bajo por largo tiempo, manteniendo su pH interno estable (16).

Por medio de este estudio, se pretende esclarecer si el dentífrico "Colgate Total" ejerce un efecto antibacterial y de ser este un efecto inhibitorio determinar la concentración inhibitoria mínima y establecer una aproximación al tiempo y la concentración óptima que se debe usar este producto.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Este estudio se realizó con una cepa nativa de *s. mutans* del grupo *d*, aislado en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia. Teniendo el microorganismo aislado, se procedió a realizar la prueba de sensibilidad para encontrar la concentración inhibitoria mínima del dentífrico sobre el *S mutans*. Se seleccionaron 10 concentraciones de Colgate Total cuyos rangos oscilaban entre los 200 mg/ml a 1 mg/ml y el control. Estas concentraciones fueron llevadas a papeles de filtro de 6 mm de diámetro a cajas de petri previamente preparadas con agar tioglicolato e inoculadas con *S. mutans* en fase exponencial, estas fueron llevadas a cámara de anaerobiosis a 37 grados centígrados por 26 horas. Pasado este tiempo se procedió a medir los halos de inhibición, siendo la concentración mínima de 25 mg/ml. Después de esto se realizó un diseño experimental, basado en la metodología de superficie de respuesta. Este problema habría sido resuelto utilizando la metodología convencional de probar todas las combinaciones de concentraciones y tiempos pero la metodología de superficie de respuesta presenta ventajas, ya que permite determinar el valor óptimo de la respuesta cuando varían simultáneamente las dos variables y permite reducir el número de experimentos por la utilización de una ecuación ajustada de segundo grado, que arroja un diseño factorial, rotatable. Para esto, nos valimos del programa stat graphics que nos permite en forma fácil obtener el diseño experimental más adecuado después de establecer los rangos de cada variable y posteriormente una vez que se ingresan los valores de la respuesta, permite obtener el gráfico de la superficie de respuesta y el valor óptimo de dicha respuesta.

Se estableció para el tiempo un rango de 1 a 5 minutos, ya que es lo que una persona se demora en cepillarse, y para la concentración un rango de 25 a 100 mg/ml porque 25 mg/ml fue la concentración inhibitoria mínima encontrada para el Colgate Total sobre el S. mutans en la prueba de sensibilidad realizada anteriormente, y 100 mg/ml fue la concentración inhibitoria máxima encontrada por Moran, Addy y Wade en 1988 (2).

La respuesta que se midió para cada combinación de factores (tiempo vs concentración), fue el número de unidades formadoras de colonias de S. mutans. Después se realizó la graficación de la respuesta en relación con el tiempo y concentración del dentífrico. De esta gráfica se calculó la concentración mínima de dentífrico y el tiempo mínimo para obtener una respuesta óptima en cuanto al número de unidades formadoras de colonias, entendiéndose por respuesta óptima el menor número de unidades formadoras de colonias.

Primero se prepararon las soluciones de la siguiente manera: Se prepararon 250 ml de solución del dentífrico de 200 mg/ml, los cuales fueron centrifugados durante 5 minutos, para eliminar abrasivos y otros interferentes, de esto se eliminó el precipitado y se tomó el sobrenadante para preparar las soluciones, ya que los agentes activos son dispersantes en agua.

Las soluciones preparadas fueron de las concentraciones 115.5, 100, 62.5, 25 y 9.5 mg/ml, luego se preparó el inóculo, usando como método de estandarización el patrón de Mc Farland para comparar su turbidez ópticamente con el inóculo, asegurándonos así de utilizar la misma concentración bacteriana en todos los experimentos. De este inóculo se tomaban 1000 microlitros que fueron depositados en cada tubo de ensayo con las soluciones Colgate Total antes mencionadas, inmediatamente después se agitó cada tubo en un vortex. Después de los tiempos establecidos por el diseño experimental se procedió a filtrar por membrana estas soluciones hasta que pasara por completo todo el contenido por filtros de nitrocelulosa, previamente colocado en las cámaras al vacío y donde quedaban las bacterias. Estos filtros se llevaron a cajas de petri previamente preparadas con caldo tioglicolato utilizando pinzas estériles. Las cajas se llevaron a la cámara de anaerobiosis por 26 horas a 37 grados centígrados, (17) luego de lo cual se realizó tinción de las colonias con azul de metileno, ya que debido a la transparencia de los mismos, se dificultaba su recuento. El recuento fue realizado con la ayuda de un estereoscopio.

Finalmente, se repitió el procedimiento anterior siguiendo el mismo diseño pero adicionando el tubo 5% de sacarosa y fijando el pH en 5.5, utilizando HCl 0.2 N, para lograr unas condiciones de crecimiento bacteriano más favorables y parecidas a las de la cavidad oral.

RESULTADOS:

A partir de la prueba de sensibilidad se puede decir que la concentración inhibitoria mínima es de 25 mg/ml, puesto que fue la concentración menor en la que aparece halo de inhibición.

Analizando el gráfico # 1 de superficie de respuesta se puede decir que a medida que aumenta el tiempo (de cepillado), aumenta también el número de unidades formadoras de colonias; al referirnos a la concentración del principio activo, se observa que cuando aumenta la concentración, disminuye el número de unidades formadoras de colonias hasta llegar a un valor umbral de 90 mg/ml, a partir del cual vuelven a aumentar.

El tiempo y la concentración de principio activo óptimos fueron 3 minutos y 62.5 mg/ml respectivamente.

En el gráfico # 2 que muestra los resultados del segundo experimento se observa que a medida que aumenta la concentración disminuye el número de unidades formadoras de colonias hasta un valor umbral de 78 mg/ml. En cuanto a la variable tiempo, a medida que aumenta se incrementa el número de unidades formadoras de colonias, hasta un tiempo de dos minutos a partir del cual la curva se hace menos empinada. La concentración se estableció en 72.5 mg/ml y 2.8 minutos para el tiempo.

DISCUSIÓN

Con relación a la dosis mínima inhibitoria del dentrífico, determinada en nuestro trabajo: 25 mg/ml, se encontró que está en el rango determinado por Moran, Addy y Wade en 1988, para 31 dentífricos con diferentes ingredientes activos probados con varias cepas de microorganismos, entre ellos dos cepas de *S. mitior*. Dicho rango fue de 0.19 a 100 mg/ml (2).

Tanto en el trabajo mencionado como en el presente, las concentraciones mínimas inhibitorias determinadas, corresponden a concentraciones bastante bajas y por lo tanto puede esperarse que con las cantidades de dentífrico que se usan normalmente en el cepillado, haya acción antibacteriana.

Con respecto al dato umbral se podría decir que se debe a que el Triclosán tiene acción sobre la membrana celular, entonces cuando los poros o receptores de membrana se encuentran copados, el transporte de esta sustancia no puede efectuarse, llevando esto a una disminución en la acción antibacteriana. Además el *S. mutans* tiene la capacidad de mantener su medio interno estable a pesar de los cambios externos.

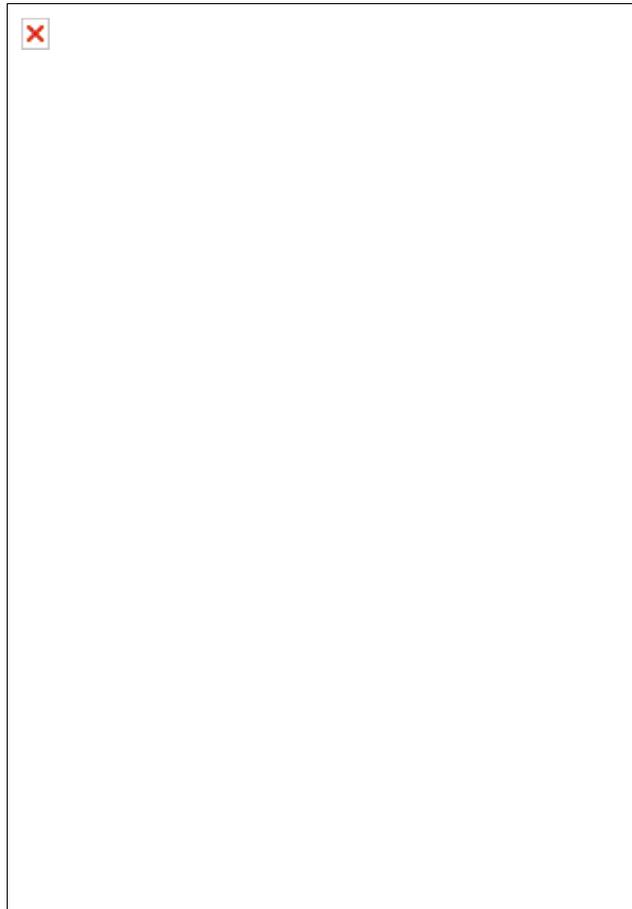
Teniendo en cuenta el dato umbral, hallado para la concentración de principio activo y teniendo en cuenta la concentración inhibitoria mínima determinada se puede afirmar para el primer experimento, que no se deben usar concentraciones inferiores a 25 mg/ml ni superiores a 90 mg/ml del dentífrico.

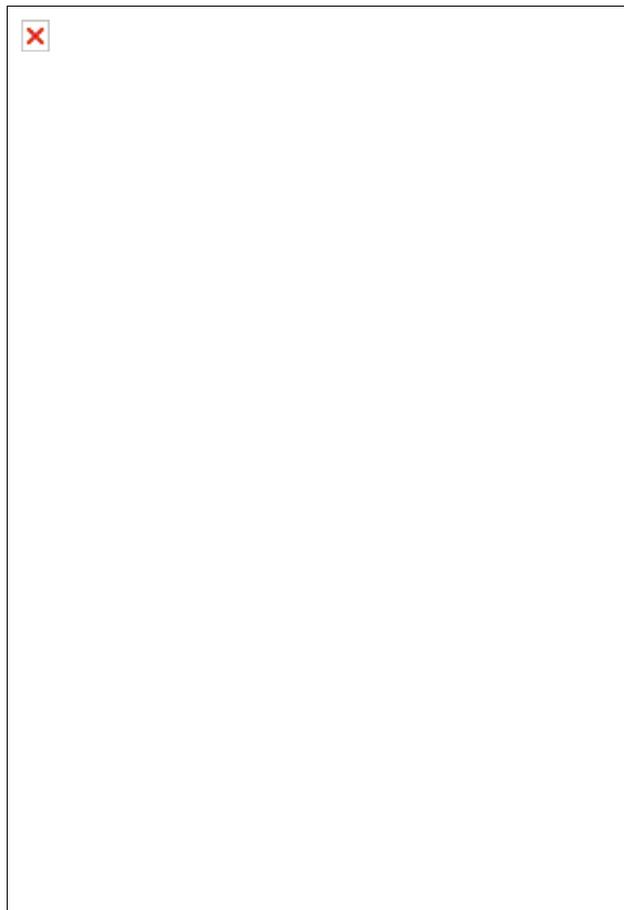
Del experimento con 5 % de sacarosa y pH 5.5, se deduce que al mejorar las condiciones metabólicas del microorganismo, se contrarresta el efecto del dentífrico lo que hace necesario una mayor concentración (72.5 mg/ml) para obtener una respuesta óptima.

Con respecto al tiempo óptimo según el comportamiento de la curva, el número de unidades formadoras de colonias asciende hasta dos minutos, luego de lo cual asciende pero con menos intensidad.

De esto se deduce que hay que tener en cuenta las condiciones en las que se desarrolla el microorganismo para la determinación de una dosis que sea efectiva, pero aun así resulta importante la determinación de una concentración máxima, ya que las curvas de ambos experimentos muestran la tendencia a aumentar a partir de una concentración umbral, después de la cual, un aumento no representa ningún beneficio.

La determinación de esta dosis máxima resulta aún más importante, si se tiene en cuenta la falsa sensación de limpieza generada por el sabor del dentífrico usado en volumen grande, que puede llevar a un cepillado insuficiente, además el riesgo de fluorosis y otros perjuicios como irritación de las mucosas y alergias.





RECOMENDACIONES:

Para hacer más confiable la extrapolación de los resultados, se podría realizar un estudio experimental que imite mejor las condiciones de la cavidad oral, o realizar un estudio "in vivo", probando dentríficos con otros componentes y estos componentes por separado, y sobre otros microorganismos.

Con relación al dentífrico, podría implementarse el uso de ingredientes naturales que también ejerzan efecto antibacterial, sin irritar los tejidos orales. También podría adicionarse otros componentes que fomenten la adherencia del Triclosán a la superficie dental y que lo liberen lentamente, para que ejerza efecto por un tiempo prolongado.

Para asegurar que el volumen usado de dentífrico sea el adecuado, puede ser adaptado un dosificador al empaque.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos a las personas del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional por su colaboración, a la Dra. Beatriz Restrepo de la Universidad de Antioquia por el aislamiento del microorganismo, a los integrantes del comité de investigación del C.E.S. y a todos

aquellos que de alguna manera hicieron posible la realización de este trabajo. Pero sobretodo a nuestras asesoras y a nuestros padres pues no solo nos aportaron sus conocimientos y su experiencia sino también su valor ayudándonos a ser mejores personas.

BIBLIOGRAFIA

1. American Dental Association: Terapéutica odontológica aceptada 1985. ed 3ª p 242-350.
2. Moran-J; Addy-M; Wade-W. Determination of minimum inhibitor concentrations of commercial toothpastes using on agar dilution method. J-Dent. 1988; 16; 27-31.
3. Wade-wg; Addy-M. Antibacterial activity of some triclosan-containing toothpaste and their ingredients. J-Periodontol. 1992 Apr: 64(4), 280-2.
4. Wu-Yuan-CD; Green-L; Birch-WX. In vitro screening of chinese medicinal toothpaste: Their effects on growth and plaque formation of mutan Streptococi. Caries Research. 1990, 24(3): 198-202.
5. Marsh-PD; Bradshaw-DJ. Microbiological effects of new agents in dentifrices for plaque control. Int-Dent-J.1993 Aug; 43(4 suppl): 399-406.
6. Gaffar-A, Nabi_ et al. Antiplaque effects of dentifrices containing triclosan/copolymer/Na F system versus triclosan dentifrices containing copolymer. Am-J-Dent. 1990 sep: 3 spec # s7-s14.
7. Mankodi-S; Walker-C; et al. Clinical effect of a triclosan-containing dentifrices on plaque and gingivitis: A six month study. Clin-Pre-Dent. 1992 Nov-Dec; 4-10.
8. Bolden-TE; Zambon -JJ; et al . The clinical effect of a dentifrice cntaining triclosan and copolymer in a sodium fluoride/silica base on plque formation and gingivitis: A six month clinical study. J-Clin_Dent. 1992;3(4);125-31.
9. Tahmassebi-J; Duggal-MS. Effect calcium carbonate based toothpaste with 0.3% triclosan triclosan on pH changes in dental plaque in vivo. Caries-Res. 1994:28(4): 272-6.
10. Triratana -T; Kravaphan-P; Amornchat-C; et al. Effect of triclosan/copolymer pre-brush mouthrinse on stablished plaque formation and gingivitis: A six moth clinical study in Thailand. J-Clin-Dent. 1995; 6(2); 142-7.
11. Ellinosen-JE; Rolla-G. Dental plaque inhibition by a combination of triclosan and polydimethyylsiloxane (silicone oil). Scand-J-Dent-Res.1994 feb:102 (1): 26-9.

12. Reminton: Farmacia. Ed 17^a #2 p 1687.
13. Velasco Alonso; Lorenzo P; Serrano José S y otros: Velasquez farmacología. Interamericana Mc Graw Hill. Ed 16^a p 890.
14. J-Dziedzak: Revista food Technology. Food Technhology. Julio, 1988.
15. Burnett George W; Schuster George S : Microbiología oral y enfermedad infecciosa. Panamericana. 1982. P 177-1792 228-230.
16. New brum Ernest: Biología oral cariología Limusa México 1984. ed 1^a.
p 21-145.
17. Gonzalez Lia ; Grisales Erika; Quintero Yasmy. Efecto del aspartame sobre el crecimiento del S. Mutans a nivel experimental. Instituto de ciencias de la salud. Medellín 1996.

[Regresar a Tabla de Contenido](#)