



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA

ACTIVIDAD INHIBITORIA *in vitro* DEL ACEITE DE COCO SOBRE
Streptococcus mutans AISLADOS DE ESCOLARES DE 6 AÑOS.

Trabajo Especial de Grado para optar al título de Odontólogo

Br. Kessly Nayarith Delgado Guerrero
Br. Victoria Patricia Rodríguez Fuenmayor
Tutor: Prof. Elaysa J. Salas Osorio PhD

Mérida – Agosto, 2024

DEDICATORIA

A mi madre, cuya fe inquebrantable en mí ha sido un pilar fundamental; a mi padre, quien ha estado siempre presente para brindarme su apoyo incondicional; a mi hermana, un ejemplo de valentía y dedicación inigualables; a Marión, cuyo constante respaldo y confianza han sido una curita para mí; a la Dra. Adriana Andrade, por su apoyo constante tanto para mí como para mi hijo; y a Marcelo, mi hijo, cuya presencia es mi mayor motivación diaria para enfrentar cada desafío con determinación.

Kessly Delgado.

A mi madre y a mi hija, con amor.

Victoria Rodríguez.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de los Andes, Facultad de Odontología, por brindarnos una formación académica excepcional. A la Dra. Elaysa Salas, quien nos ha guiado en este camino y generosamente nos ha permitido acceder a su laboratorio para alcanzar los objetivos de esta investigación, estamos eternamente agradecidas. Sin su invaluable apoyo, este logro no habría sido posible.

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
Resumen.....	xii
INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO I.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.1 Objetivos de la investigación	7
1.1.1 Objetivo general	7
1.1.2 Objetivos específicos	7
JUSTIFICACIÓN	8
CAPÍTULO II	10
MARCO TEÓRICO.....	10
1.2 Antecedentes	10
1.2.1 Efecto de otros aceites de origen natural sobre <i>Streptococcus mutans</i> 10	
1.2.2 Efecto del aceite de coco sobre otras bacterias de la cavidad bucal	14
1.2.3 Efecto del aceite de coco sobre <i>Streptococcus mutans</i>	15
1.2.3.1 <i>In vivo</i>	15
1.2.3.2 <i>In vitro</i>	17
1.3 Bases conceptuales.....	22
1.3.1 Caries	22
1.3.1.1 Etiopatogenia	23
1.3.1.2 Clasificación.....	23
1.3.1.3 Factores predisponentes	24

1.3.2	<i>Streptococcus mutans</i>	25
1.3.2.1	Factores de virulencia	25
1.3.2.2	Caries y su relación con <i>Streptococcus mutans</i>	25
1.3.2.3	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva.....	26
1.3.2.4	Determinación del nivel de riesgo a caries	27
1.3.3	Medicina no convencional	28
1.3.3.1	Fitofármacos.....	28
1.3.3.2	Componentes de los fitofármacos.....	28
1.3.3.3	Fitoterapia en odontología	28
1.3.4	<i>Oil listening</i>	29
1.3.4.1	Gandusha.....	29
1.3.4.2	Kavala Graha.....	29
1.3.5	<i>Coco (Cocos nucifera)</i>	29
1.3.5.1	Definición.....	30
1.3.5.2	Cultivo.....	30
1.3.5.3	Compuestos activos.....	30
1.3.5.4	Propiedades	30
1.3.6	Aceite de coco	31
1.3.6.1	Técnicas de extracción de aceite de coco.....	32
1.3.6.2	Mecanismo de acción antibacteriana del aceite de coco.....	32
1.3.7	Aceite de coco en la cavidad bucal	34
1.3.7.1	Enjuague bucal.....	34
1.3.7.2	Crema dental	34
1.4	Técnicas de evaluación de actividad antibacteriana.....	34
1.4.1	Métodos de dilución.....	34
1.4.1.1	Microdilución en caldo	34

www.bdigital.ula.ve

1.4.1.2	Macrodilución en caldo.....	34
1.4.1.3	E-test	35
1.4.2	Métodos de difusión.....	35
1.4.2.1	Kirby-Bauer	35
1.4.2.2	Pocillos.....	35
1.4.3	Métodos turbidimétricos	36
1.4.4	Métodos de tinción.....	36
1.4.5	Métodos moleculares	36
1.4.6	Elección de la técnica.....	36
CAPÍTULO III.....		37
MARCO METODOLÓGICO.....		37
2.1	Alcance y diseño de la investigación	37
2.2	Ejemplares biológicos	37
2.3	Sistemas de variables	38
2.3.1	Variable independiente	38
2.3.2	Variable dependiente.....	38
2.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	38
2.5	Procedimientos, materiales, equipos e instrumentos.....	38
2.5.1	Materiales, Equipos e Instrumentos	39
2.5.2	Procedimiento	39
2.6	Aspectos éticos.....	47
2.7	Plan de análisis de resultados.....	47
CAPÍTULO IV.....		48
RESULTADOS.....		48
I.	Identificación de riesgo a caries.....	48
II.	Aislamiento: Identificación preliminar	48
III.	Fase de pruebas de evaluación preliminar	49

CAPÍTULO V	54
DISCUSIÓN	54
CAPÍTULO VI.....	58
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
Referencias.....	60
APÉNDICE.....	72
Instrumento empleado para la recolección de los datos.....	72
Apéndice A: Pruebas para detectar <i>Streptococcus mutans</i>	72
Apéndice B: Evaluación preliminar de los aceites de coco	72
Apéndice C: Concentración Mínima Inhibitoria.....	74
Apéndice C: Consentimiento Informado	74

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Recolección de la muestra.....	40
Figura 2.	Preparación del agar.....	40
Figura 3.	Inoculación de la saliva mediante la técnica de semicuantificación.....	41
Figura 4.	Incubación de las placas en microaerobiosis	41
Figura 5.	Crecimiento bacteriano en agar mitis saalivarius.....	42
Figura 6.	Crecimiento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas de incubación	42
Figura 7.	Selección de las colonias características de <i>Streptococcus mutans</i>	42
Figura 8.	Colonias seleccionadas para subcultivos	42
Figura 9.	Muestras subcultivas en agar	43
Figura 10.	Prueba para catalasa	43
Figura 11.	Tubos de ensayo con turbidez similar al patrón 0,5 McFarland equivalente a 10^8 CFU/ml	43
Figura 12.	Preparación de la solución madre y las diluciones de aceite de coco con DMSO	44
Figura 13.	Vertimiento del aceite sobre las placas	45
Figura 14.	Inoculación de <i>Streptococcus mutans</i> sobre las placas de Mueller Hinton con aceite de coco.	45
Figura 15.	Inoculación de las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> sobre el correspondiente aceite de coco.....	45
Figura 16.	Placas de Petri con los diferentes aceites de coco a distintas concentraciones con las cepas a estudiar	46
Figura 17.	Formación de pozos	46
Figura 18.	Técnica en pozos para medición de halo inhibitorio.....	47
Figura 19.	<i>Observación al microscopio, posterior a la tinción de Gram presencia de Streptococcus mutans, forma; coco, disposición: cadenas</i>	49

Figura 20.	Crecimiento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> en las concentraciones	51
	10%, 25%, 50% y 75% de aceite de coco.....	51
Figura 21.	Inhibición del crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> por acción del aceite de coco virgen prensado al frío.....	51
Figura 22.	Presencia de contaminantes en aceite de coco virgen prensado al frío artesanal	52
Figura 23.	Comparación de la presencia de contaminantes entre los aceites de coco comercial y artesanal. A) Aceite de coco virgen prensado al frío artesanal B) Aceite de coco virgen prensado al frío comercial.....	52
Figura 24.	Observación en el microscopio de los contaminantes encontrados, posterior a la tinción Gram.....	52
Figura 25.	Halo inhibitorio con técnica de pozos.....	53

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i>	<i>Diferencia entre los métodos</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 2.</i>	<i>Escala de conteos microbianos de Streptococcus mutans.</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 3.</i>	<i>Materiales, equipos e instrumentos.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 4.</i>	<i>Gradiente de concentraciones</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 5.</i>	<i>Resultados de la evaluación de Riego a caries en los cinco pacientes escolares de 6 años.</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 6.</i>	<i>Resultados preliminares del aislamiento de colonias presuntivas de Streptococcus mutans a partir de muestras de saliva de escolares de 6 años.....</i>	<i>49</i>
	<i>.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabla 7.</i>	<i>Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío artesanal (YWL01) sobre aislados de Streptococcus mutans</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 8.</i>	<i>Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío artesanal comercial (NTR02) sobre aislados de Streptococcus mutans</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 9.</i>	<i>Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío comercial (Maux03) sobre aislados de Streptococcus mutans</i>	<i>51</i>



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO BIOPATOLOGÍA

ACTIVIDAD INHIBITORIA *in vitro* DEL ACEITE DE COCO SOBRE

Streptococcus Mutans AISLADOS EN ESCOLARES DE 6 AÑOS

Trabajo Especial de Grado para optar al título de Odontólogo

Br. Kessly Nayarith Delgado Guerrero
Br. Victoria Patricia Rodríguez Fuenmayor
Tutor: Prof. Elaysa J. Salas Osorio PhD

Mérida – Venezuela, Julio 2024

Resumen

La caries dental es una enfermedad multifactorial y polimicrobiana, siendo *Streptococcus mutans* la bacteria más relevante en su desarrollo. A pesar de la disponibilidad de enjuagues bucales comerciales para reducir la carga bacteriana, su uso puede conllevar efectos secundarios indeseables. Por ello, es necesario investigar alternativas naturales, como fitofármacos, que sean accesibles, económicas y con menos efectos adversos que los productos farmacéuticos convencionales. Este estudio descriptivo y experimental evaluó la actividad inhibitoria *in vitro* de diferentes concentraciones (10%, 25%, 50% y 75%) de tres muestras de aceite de coco (uno artesanal y dos comerciales) sobre aislados de *Streptococcus mutans* obtenidos de escolares de 6 años. Se utilizó el método de difusión en agar, con gluconato de clorhexidina al 0.12% como control positivo. Se identificaron 31 aislados de *Streptococcus mutans*, de los cuales 11 fueron seleccionados al azar para evaluar la actividad antibacteriana. Solo el 20% de los aislados de *Streptococcus mutans* mostró susceptibilidad al aceite de coco, sin importar la concentración o el tipo de aceite. Además, se observó una mayor presencia de microorganismos contaminantes en el aceite de coco virgen artesanal. Se concluye que el efecto inhibitor del aceite de coco es selectivo para ciertos aislados de *Streptococcus mutans* y se enfatiza la necesidad de implementar medidas para el control y disminución de caries.

Palabras Clave: *Streptococcus mutans*, aceite de coco, caries dental, fitofármacos, terapias alternativas.

INTRODUCCIÓN

La caries dental es la patología resultante de la desmineralización del esmalte dental ocasionada por la actividad de bacterias acidogénicas, lo que conlleva a una interacción multifactorial que involucra aspectos genéticos¹, susceptibilidad de la superficie dental, flujo salival inadecuado, consumo de carbohidratos fermentables y deficiente higiene bucal. La detección temprana y la prevención de la caries dental es fundamental para evitar complicaciones bucales, esto implica la realización de revisiones dentales periódicas, mantenimiento de una adecuada higiene bucal, aplicación de tratamientos con flúor, realización de profilaxis y aplicación de selladores dentales^{1,2}. Comprender la naturaleza multifactorial de la caries dental es esencial para el desarrollo de estrategias efectivas de prevención y tratamiento.

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positiva que se dispone en cadenas, no es móvil y es catalasa negativa. Esta bacteria es fundamental en el desarrollo de la caries dental debido a sus habilidades para producir ácido, resistir a los ácidos y formar biopelículas. Estas características permiten que *Streptococcus mutans* forme una capa extracelular que promueve la adhesión de la bacteria a la superficie del diente. Además, la producción de ácido láctico disuelve la estructura cristalina del esmalte dentario, que conduce a la desmineralización de los tejidos duros de la cavidad bucal, contribuye con su capacidad para colonizar y persistir en la superficie dental, lo que aumenta su potencial patogénico en la cavidad bucal^{3,4}.

Existen métodos convencionales para el control de la caries, entre los cuales se destaca el uso de fluoruros. Este compuesto puede aplicarse de forma tópica mediante crema dental, enjuague bucal o barniz, y también puede ser ingerido en el agua fluorada o suplementos. El fluoruro ejerce su acción fortaleciendo el esmalte dental, lo que resulta en una mayor resistencia frente al ataque ácido, contribuye así en la prevención de la desmineralización de los tejidos dentales¹. Los mecanismos de acción del fluoruro constan de la remineralización del esmalte dental y la inhibición del metabolismo bacteriano, que contribuye a prevenir la desmineralización de los tejidos dentales y la formación de lesiones cariosas⁵. En ese mismo orden de ideas, la

correcta higiene bucal, que incluye el cepillado regular y adecuado, el uso de hilo dental, crema dental y enjuagues bucales⁶, ayudan a controlar el proceso de formación de caries.

Conjuntamente, los selladores dentales, son una capa protectora aplicada en las superficies oclusales de los molares y premolares, cuyo objetivo es prevenir la acumulación de placa y bacterias en los surcos y fisuras profundas de los dientes. Los selladores suelen ser aplicados en los dientes de los niños poco después de la erupción dental. Se ha demostrado que los selladores dentales son altamente efectivos para prevenir la caries dental, reduce el riesgo de lesiones cariosas en comparación con la ausencia de selladores⁷. Además, se menciona que son más eficaces cuando se aplican en los molares permanentes en comparación con los molares primarios².

También, la modificación de la dieta es un factor clave en la prevención de la caries dental, ya que una dieta rica en carbohidratos fermentables, como el azúcar y el almidón, puede aumentar significativamente el riesgo a desarrollar caries. Por lo tanto, limitar la ingesta de alimentos y bebidas que contienen estos carbohidratos fermentables puede ser una estrategia efectiva, ya que reduce la desmineralización del esmalte y esto da como resultado la disminución de formación de lesiones cariosas⁶⁻⁷.

De igual forma, se han re-explorado en los últimos años, métodos de medicina complementaria para evaluar la eficacia de diversos productos naturales, especialmente de origen vegetal, en la prevención de la caries dental. En algunas culturas, se ha observado el uso de terapias menos industrializadas, químicas o invasivas, como la bacterioterapia, nanoterapia⁸ y la fitoterapia, en particular la medicina *Aryuvédica*. Estas prácticas de medicina *Aryuvédica* incluyen diversas técnicas de higiene bucal, como el cepillado o *Dant Dhavani*, que implica masticar palillos herbales por la mañana y después de cada comida para prevenir enfermedades, el raspado de la lengua o *Jivha Lekhana*, preferiblemente utilizando oro, plata, cobre o acero inoxidable, terapias de regeneración de tejidos con hierbas medicinales, y el *oil pulling*, que consiste en enjuagar la cavidad bucal con aceite, así como otros enjuagues o *Gandoosha*^{9,10}.

Los fitofármacos son una categoría de medicamentos que se encuentran dentro de la medicina no convencional y se elaboran a partir de plantas, hierbas y aceites. El uso de estas alternativas busca reducir los costos y los efectos colaterales asociados con los tratamientos convencionales, y mejorar el acceso a los mismos. Los fitofármacos han

adquirido una importancia creciente en la actualidad debido a su eficacia en el tratamiento de diversas enfermedades, así como a su menor impacto ambiental y su fácil disponibilidad.

La investigación científica ha revelado que en la naturaleza existen compuestos con capacidad para combatir las bacterias patógenas presentes en la cavidad bucal. Dentro de estos compuestos, el aceite de coco ha despertado un gran interés debido a su composición. El aceite de coco, un producto de origen vegetal se destaca por su alto contenido de ácido láurico, el cual constituye aproximadamente el 60% de su composición. Estas grasas presentan propiedades que inhiben la adhesión de microorganismos a la superficie dental, lo que resulta en la prevención de la formación de caries. Además, el aceite de coco exhibe propiedades terapéuticas reconocidas en odontología, siendo utilizado como enjuague bucal para reducir la carga de microorganismos cariogénicos, disminuir la biopelícula dental, tratar la candidiasis bucal, aliviar la xerostomía y mitigar la halitosis¹¹ siendo eficaz y efectivo contra una variedad de bacterias, tales como: *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Lactobacillus*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mutans*.

Estudios previos *in vivo* e *in vitro* del aceite de coco virgen sobre *Streptococcus mutans*, han comparado su capacidad inhibitoria con la de la clorhexidina, sugiriendo que el aceite de coco es tan efectivo como la clorhexidina, la cual posee un amplio espectro antibacteriano^{8,12}. En contraposición, un estudio¹³ realizado en Lima en 2018 reveló que un aceite de coco comercial de origen alemán no mostró capacidad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans*. Esta controversia en la evidencia científica ha motivado el presente trabajo, el cual tiene como objetivo evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados en escolares de 6 años, con un estudio de alcance descriptivo y diseño experimental.

Esta investigación consta de 5 capítulos que están distribuidos de la siguiente manera:

1. Capítulo I- Planteamiento del problema, donde se exponen el problema, los objetivos de investigación y la justificación de este.
2. Capítulo II- Marco teórico, constituido por antecedentes que sirven de sustento teórico para esta investigación, bases conceptuales las cuales definen y describen términos de relevancia para esta investigación.

3. Capítulo III- Marco Metodológico, conformado por el enfoque, alcance y diseño los cuales son necesarios para llevar a cabo esta investigación.
4. Capítulo IV- Resultados: Este capítulo comprende la presentación de los resultados y categoría de análisis.
5. Capítulo V- Discusión: se analizaron los datos obtenidos con la bibliografía obtenida en las bases de datos.
6. Capítulo VI- Conclusiones: conclusiones y recomendaciones para futuras investigaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries es un problema para la salud pública en general ^{14,15}, es una de las enfermedades que se presenta con mayor frecuencia en la cavidad bucal, se considera como una enfermedad infecciosa y transmisible¹⁶⁻²⁰ de origen multifactorial^{1,21,22} y polimicrobiano²³. Su aparición se debe a la interacción de cuatro factores: hospedero, microorganismos, dieta y tiempo²⁴, caracterizada por la destrucción de los tejidos duros^{25,26}.

Es pertinente destacar que, a pesar de la caries tener un origen polimicrobiano, el principal microorganismo asociado a esta enfermedad es *Streptococcus mutans*^{19,25,27-30}. Se trata de una bacteria Gram positiva que se encuentra habitualmente en la superficie dental, y su principal fuente de nutrición es la sacarosa. Investigaciones han demostrado que existe una relación directa entre *Streptococcus mutans* y la desmineralización de los tejidos duros de la cavidad bucal. Los mecanismos principales que desencadenan el proceso de caries son la producción de glicocálix, que se dispone como una capa extracelular y promueve la adhesión de la bacteria a la superficie dental, y la producción de ácido láctico, el cual disuelve la estructura cristalina del esmalte dentario³¹⁻³³.

Para prevenir la caries, es fundamental implementar estrategias tanto a nivel individual, como la aplicación de flúor, el uso de hilo dental, la utilización de selladores de fosas y fisuras, la estimulación de la presencia de calcio en la saliva y exámenes dentales cada seis meses; así como se deben implementar estrategias a nivel colectivo, tales como el control del porcentaje de flúor en el agua potable (ppm) y la promoción de la salud a través de programas educativos con el propósito de reducir los índices de caries.

A lo largo de la historia, los fármacos industrializados han sido ampliamente utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades bucales⁴. No obstante, se ha observado que la utilización de colutorios para abordar la presencia de *Streptococcus*

mutans puede conllevar efectos adversos. La clorhexidina se posiciona como el *Gold Standard* en el ámbito de los enjuagues bucales sobre *Streptococcus mutans*, siendo un agente químico antiséptico de gran potencia que se adhiere eficazmente a la superficie bacteriana para ejercer su acción inhibitoria. A pesar de sus beneficios, la clorhexidina también presenta efectos secundarios, tales como la pigmentación de los dientes, la alteración del sentido del gusto, tinción del dorso de la lengua, lesiones descamativas en las encías y otras mucosas bucales, reacciones alérgicas, retracción de las encías, resequedad de la mucosa, irritación de la mucosa y la resistencia bacteriana^{12,34-38}.

La medicina alternativa ofrece diversas técnicas para disminuir la cantidad de bacterias responsables de la formación de caries dental, entre las cuales destaca el "*oil pulling*" o "*oil swishing*", una antigua terapia ayurvédica de origen indio^{13,39} que implica el uso de aceite de coco durante un período de 30 minutos diarios como enjuague bucal, siendo esto una estrategia para promover la higiene bucal^{40,41}.

En la actualidad, existe un notable interés en investigar el impacto de hierbas y plantas en el entorno de la cavidad bucal^{13,17,29,42-52}, se busca encontrar alternativas medicinales que logren complementar la medicina convencional y así disminuir efectos adversos y sus costos, la evidencia clínica busca controlar la caries mediante los tratamientos convencionales y además mediante tratamientos no convencionales como lo es la fitoterapia¹², debido a que los fitofármacos poseen buen comportamiento biológico para tratar enfermedades^{20,42,53}, menor costo, no dañan el medio ambiente⁵⁴ y son de fácil acceso⁵⁵.

El aceite de coco destaca como un componente fundamental en la técnica del *Oil Pulling*, y su relevancia se respalda en investigaciones que han evidenciado las diversas propiedades beneficiosas para el bienestar integral, incluyendo la salud bucal^{56,57}. Algunas investigaciones han identificado al aceite de coco como poseedor de propiedades antimicrobianas efectivas contra patógenos bucales^{41,52,58-63}. Se encontraron estudios *in vitro* que afirman su capacidad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans*^{13,20,25,37,64,65}. Asimismo, se han documentado investigaciones *in vivo* que, aunque presentan limitaciones en la evidencia, sostienen de manera coherente la misma aseveración^{47,49,51,64}. No obstante, se observa una disparidad en la literatura científica, ya que un estudio que empleó aceite de coco comercial no evidenció actividad antibacteriana significativa contra

*Streptococcus mutans*¹³, por consiguiente, surge la interrogante ¿existe una diferencia en la acción inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* del aceite de coco virgen prensado al frío comercial y el aceite de coco virgen prensado al frío artesanal?

1.1 Objetivos de la investigación

1.1.1 Objetivo general

Evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados en escolares de 6 años.

1.1.2 Objetivos específicos

- Identificar el nivel de riesgo a caries en escolares de 6 años mediante el conteo de UFC/ml de *Streptococcus mutans*.
- Obtener aislados de *Streptococcus mutans* escolares de 6 años para la evaluación *in vitro* de la actividad inhibitoria del aceite de coco.
- Comprobar la actividad antimicrobiana del aceite de coco sobre los aislados de *Streptococcus mutans*.
- Comparar la actividad antibacteriana del aceite de coco virgen prensado al frío comercial y el aceite de coco virgen prensado al frío artesanal sobre *Streptococcus mutans*
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados de escolares de 6 años.

JUSTIFICACIÓN

La caries es un problema de salud pública importante en el mundo siendo la enfermedad crónica más común en la infancia, y afecta a más del 50% de los niños, también es una de las principales causas de pérdida de dientes en adultos pudiendo tener un impacto significativo en la calidad de vida. Las personas con caries dental suelen tener una menor calidad de vida en relación con quienes no tienen caries, es necesario que se tomen medidas para prevenir esta patología. Se necesitan esfuerzos de salud pública para mejorar el acceso a la atención dental y educar sobre la importancia de la prevención de la caries dental.

La caries no solamente repercute la calidad de vida bucal, sino que también trae consigo un desbalance en la economía de las familias, debido a los extensos tratamientos que generalmente se necesitan para restaurar los órganos dentarios afectados. Un paciente afectado por la caries temprana de la infancia generalmente requerirá de tratamientos como obturaciones de resina o amalgama, terapia pulpar, rehabilitación con coronas, exodoncias y aparatología que ayude no sólo a la estética dental sustituyendo a los órganos dentarios perdidos, sino también a la funcionalidad, preservando el espacio que se necesita para la dentición permanente.

Considerando a los enjuagues bucales como una terapia para el control de caries dental utilizado a nivel mundial, dentro de los que inhiben el *Streptococcus mutans* se encuentra la clorhexidina, sustancia de potente acción antibacteriana, que actúa sobre las bacterias Gram negativas y Gram positivas, reduciendo los patógenos bucales, pero con efectos adversos.

En el área de la salud bucal, distintas plantas medicinales son empleadas para formulaciones farmacológicas como, colutorios, cremas dentales, enjuagues bucales, de los cuales se han demostrado beneficios tanto terapéuticos como económicos. Actualmente se ha considerado el potencial que posee el aceite ya que constituye una innovación para la salud, especialmente en el área odontológica en la cual puede llegar a convertirse en un producto altamente valioso.

En consiguiente, como resultado de la controversia sobre la eficacia del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans*, el presente trabajo se plantea determinar si una sustancia natural es igual o más efectiva que la clorhexidina para la inhibición del *Streptococcus mutans*, para lo cual se necesitará colocar en contacto directo la bacteria con un aceite de coco virgen

comercial y con aceite de coco virgen artesanal para así identificar si es positiva la respuesta sobre el microorganismo.

La investigación cuenta con aportes relevantes ya que de ser afirmativa la respuesta del aceite de coco contra el *Streptococcus mutans*, representará una alternativa natural, que actúa como inhibidor de las bacterias causantes de la caries dental, siendo una sustancia de aplicación, bajos costos, y propiedades naturales que respaldan su efectividad. Así mismo, servirá para futuras investigaciones en el área odontológica, traduciéndose en novedosos avances científicos, que permiten la comprobación de un tratamiento antibacteriano de origen natural, que garantiza beneficios a nivel de salud y economía.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

1.2 Antecedentes

En este capítulo se consideran aspectos teóricos fundamentales para el presente estudio. En tal sentido se incluyen estudios previos donde los investigadores utilizaron aceites para la disminución de bacterias en la cavidad bucal. A continuación, se citan algunas investigaciones en orden temático y cronológico: desde los más recientes a los más antiguos, seccionándolo en 3 partes: efectividad de otros aceites de origen natural sobre *Streptococcus mutans*, efecto del aceite de coco sobre otras bacterias en la cavidad bucal, efecto del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans in vivo e in vitro*.

1.2.1 Efecto de otros aceites de origen natural sobre *Streptococcus mutans*

Chamorro⁶⁶ en el año 2023 realizó un trabajo experimental, *in vitro*, comparativo y longitudinal, con el objetivo de determinar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* (*eucalipto*) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La actividad antimicrobiana fue evaluada por el método *Kirby Bauer*. Utilizó extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus* en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%, durante un período de 24 y 48 horas. Realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los halos de inhibición entre las diferentes concentraciones del extracto. Los resultados demuestran una actividad antibacteriana significativa del extracto de *Eucalyptus globulus* sobre *Streptococcus mutans* con diferencias significativas en los halos de inhibición entre las otras concentraciones del extracto, además se evidenció un efecto temporal en la actividad antibacteriana, con variaciones en los resultados a las 24 y 48 horas de exposición. La autora concluye que los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus* demostraron un efecto antibacteriano *in vitro* contra *Streptococcus mutans* y además que la concentración influye en la actividad bacteriana, siendo la más efectiva cuando se presenta en concentraciones altas.

Bustamante⁶⁷ en el año 2022 realizó un estudio experimental *in vitro* con un enfoque cuantitativo con el objetivo de evaluar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de la *Passiflora edulis* sobre cepas de *Streptococcus mutans*. En el estudio, expuso las cepas ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* al extracto etanólico de la *Passiflora edulis*. La actividad antimicrobiana fue evaluada por el método de difusión de discos mediante el diámetro de crecimiento de la zona de inhibición en placas de agar *Mueller-Hinton* con 5% de sangre; se observó la detención del crecimiento bacteriano en comparación con los grupos positivos. La *Passiflora edulis* tuvo efecto inhibitorio a diferentes concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans*. A medida que las concentraciones eran menores del 50%, los halos de inhibición disminuían a 6mm. Encontró halos de inhibición de 24mm a las 48 horas de exposición al extracto etanólico de *Passiflora edulis* al 100% sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados obtenidos en este estudio demostraron un efecto inhibitorio significativo del extracto etanólico de la *Passiflora edulis* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* evaluadas. En conclusión, este estudio *in vitro* sugiere que el extracto etanólico de la *Passiflora edulis* tiene un efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans*, lo que podría tener implicaciones en el campo de la odontología y la salud bucal.

Sáenz⁶⁸ en el año 2022 llevó a cabo una investigación experimental *in vitro*, con un enfoque cuantitativo. El objetivo principal fue evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial e infusión de manzanilla sobre *Streptococcus mutans*. En el estudio, manipuló variables independientes relacionadas con las presentaciones de la manzanilla (aceite e infusión) para observar su efecto sobre *Streptococcus mutans*. Utilizó la técnica de *Kirby Bauer*, los grupos de estudio fueron distribuidos de manera controlada para comparar los efectos de las diferentes presentaciones de la manzanilla. Los resultados obtenidos reflejaron diferencias significativas en el efecto antibacteriano entre el aceite esencial de manzanilla y la infusión de manzanilla al 20%. Como conclusión, determinó que el aceite esencial de manzanilla demostró un mayor efecto antibacteriano frente a la infusión de manzanilla al 20% sobre *Streptococcus mutans*. Estos hallazgos sugieren el potencial beneficio de utilizar el aceite esencial de manzanilla en el cuidado bucal, destacando su posible aplicación en la práctica odontológica para combatir esta bacteria asociada a la caries dental.

Vivar⁶⁹ en el año 2021 realizó un estudio cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, con el objetivo de evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* del aceite

esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La metodología utilizada incluyó la obtención del aceite esencial mediante hidrodestilación, seguido de la evaluación *in vitro* de las concentraciones del aceite en las cepas de *Streptococcus mutans*, la técnica para evaluar la actividad microbiana fue la microdilución en caldo. Estableció dos grupos experimentales con diferentes concentraciones de eucalipto, un grupo de control positivo con gluconato de clorhexidina 2% y un grupo de control negativo con etanol 70°. Los resultados mostraron inhibición del aceite de *Eucalyptus globulus*, siendo la concentración al 100% la que presentó el mayor efecto. En conclusión, el estudio demostró que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tiene acción inhibitoria sobre *Streptococcus mutans*, lo que sugiere su potencial aplicación en el control de esta bacteria relacionada con la caries dental. Los hallazgos respaldan la relevancia de explorar el uso de productos naturales en odontología para promover la salud bucal.

Manrique⁷⁰ en el año 2019 realizó un estudio cuantitativo experimental prospectivo para evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en el crecimiento del *Streptococcus mutans*. Los grupos experimentales se distribuyeron de acuerdo con la concentración de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, 40 muestras de *Rosmarinus officinalis* divididos en 5 grupos de concentraciones, al 50%, 75%, 100%, así como para gluconato de clorhexidina al 2% y para Buffer fosfato salino (PBS). Encontró que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* demostró un efecto antibacteriano significativo en el crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, siendo más efectivo a concentraciones más altas. Concluye que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* posee propiedades antibacterianas sobre *Streptococcus mutans*, lo que sugiere su potencial aplicación en el campo de la odontología para el control de esta bacteria asociada a la caries dental.

Obando⁷¹ en el año 2018 realizó una investigación de tipo experimental, prospectivo y longitudinal, *in vitro* con enfoque cuantitativo, con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). La metodología utilizada incluyó la extracción del aceite esencial de la manzanilla, la preparación de diferentes concentraciones con un control negativo (dimetilsulfoxido), y la evaluación de su efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados mostraron una acción

antibacteriana significativa del aceite esencial de la manzanilla sobre *Streptococcus mutans*, evidenciada por la observación de halos de inhibición en las muestras tratadas con el aceite esencial. En conclusión, el estudio demostró que el aceite esencial de la manzanilla posee un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*, lo que sugiere su potencial aplicación en el campo de la odontología para el control de esta bacteria asociada a la caries dental.

Barrientos¹⁷ en el año 2017, realizaron un trabajo experimental, prospectivo y longitudinal cuyo objetivo fue conocer la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en comparación a la clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los grupos de estudio estuvieron distribuidos de manera que se pudiera realizar una comparación adecuada entre los dos tratamientos, utilizaron la prueba estadística T de Student para muestras pareadas para comparar los resultados entre el grupo de estudio (aceite esencial de canela) y el grupo de control positivo (clorhexidina al 0.12%). Los resultados obtenidos mostraron que el aceite esencial de canela presentó una actividad antibacteriana significativa en comparación con la clorhexidina. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos, lo que sugiere el potencial del aceite esencial de canela como agente antibacteriano. En conclusión, el estudio demostró que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* posee una actividad antibacteriana efectiva contra *Streptococcus mutans*, lo que podría tener implicaciones en el campo de la odontología y el cuidado bucal.

Lastra⁴³ en el año 2017 realizó un trabajo experimental prospectivo, para probar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Menta piperita* (Menta), *Origanum vulgare* (Orégano) y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. La metodología utilizada fue de tipo analítica, empleando pruebas estadísticas como la T de Student y U de Mann Whitney con una significancia del 5%. Los grupos de estudio se distribuyeron de la siguiente manera: grupo 1: *Origanum vulgare*, grupo 2: *Menta piperita*, grupo 3: *Cymbopogon citratus*. Los resultados mostraron que las tres plantas tenían efectos antimicrobianos sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. En cuanto a la distribución de los grupos, se observó que el *Origanum vulgare* tuvo una media de 20,02, la *Menta piperita* de 12,19 y el *Cymbopogon citratus* de 20,94 en cuanto a su efecto antimicrobiano. En conclusión, el estudio demostró que el *Origanum vulgare*, *Menta piperita* y *Cymbopogon citratus* poseen propiedades antimicrobianas contra *Streptococcus mutans* y

Lactobacillus acidophilus, lo que sugiere su potencial aplicación en el campo de la salud bucal.

Montoya⁷² en el año 2017 realizó una investigación experimental que tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de un colutorio elaborado con extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis L.* (romero) sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. La muestra consistió en 100 uL de colutorio a base de extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis L.* (romero), una suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Los resultados muestran que el colutorio elaborado a base de extracto alcohólico de *R. officinalis* tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* superando al control positivo gluconato de clorhexidina al 0,12% en más de un 30%. Así mismo se estableció la CMI y la CMB del colutorio elaborado a base de extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* sobre *Streptococcus mutans* la cual fue de 2 mg/mL y 5 mg/mL respectivamente. Para *Enterococcus faecalis* la CMI y la CMB del colutorio elaborado a base de extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* fue de 3 mg/mL y 6 mg/mL respectivamente.

1.2.2 Efecto del aceite de coco sobre otras bacterias de la cavidad bucal

Aranda⁷³ en el año 2020, realizó un estudio comparativo de tipo experimental con el objetivo de determinar la eficacia inhibitoria del aceite de coco sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556. Cultivaron la bacteria en un cultivo Mueller Hinton sangre y la inocularon con diferentes concentraciones de aceite de coco (25%, 50%, 75%, 100%). Posterior a ello, se midió la susceptibilidad de la bacteria al aceite de coco. Para la concentración mínima inhibitoria utilizaron el método de macro dilución. El análisis estadístico se realizó con una prueba de ANOVA complementado con la prueba de post hoc Duncan. Los resultados mostraron que todas las concentraciones del aceite de coco lograron inhibir a la bacteria, existiendo diferencia significativa entre la efectividad inhibitoria de estas, siendo la concentración de aceite de coco al 100% la que presenta mayor efectividad inhibitoria, mientras que al 25% es la que presenta menor efectividad inhibitoria. La conclusión del estudio fue que el aceite de coco tiene un efecto inhibitorio sobre la bacteria *Streptococcus sanguinis*.

Gayatri y cols⁷⁴ en el año 2017 realizaron un estudio experimental *in vitro* donde analizaron los efectos del aceite de coco virgen en diferentes concentraciones sobre cepas de *Actinomyces sp.* y *Prevotella sp.* Las cepas fueron cultivadas en un medio selectivo y confirmado visualmente mediante tinción de Gram. Cada cultivo bacteriano fue expuesto a aceite de coco virgen en concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100%. Posteriormente, realizaron pruebas de viabilidad con un ensayo de metil-tiazolil-tetrazolio. Después de la identificación, suspendieron 200 uL de bacterias en una placa de 96 pocillos e incubaron en un ambiente anaeróbico durante 20 horas a 37°C. El estudio encontró que el aceite de coco puede reducir la viabilidad bacteriana, con un efecto antibacteriano comparable al gluconato de clorhexidina al 0,2%, proporcionando una alternativa natural y segura a los agentes antibacterianos tradicionales. Sin embargo, la administración de 100% aceite de coco no es tan efectiva como el gluconato de clorhexidina al 0,2% en el control de *Prevotella spp.*; siendo *Actinomyces spp.* más susceptible que *Prevotella spp.* a la administración de varias concentraciones de aceite de coco.

1.2.3 Efecto del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans*

1.2.3.1 *In vivo*

Ahmed y cols.⁴⁷ en el año 2020, evaluaron el efecto antimicrobiano del aceite de coco en la reducción del recuento de *Streptococcus mutans* en la saliva de un grupo de niños egipcios y compararon su efecto con el enjuague bucal de clorhexidina. El estudio incluyó a 60 niños egipcios de entre 5 y 10 años. Los niños se dividieron en dos grupos: el grupo A (grupo de estudio) se les pidió que se enjuagaran con 10 ml de aceite de coco tres veces al día durante dos semanas, mientras que el grupo control se les pidió que se enjuagaran con 10 ml de enjuague bucal de clorhexidina 0,2%, tres veces al día durante dos semanas. Tomaron muestras de saliva no estimulada de cada niño antes y después del tratamiento para establecer los niveles base y los niveles posteriores al tratamiento. El estudio encontró que tanto el aceite de coco como el enjuague bucal de clorhexidina redujeron significativamente el recuento de *Streptococcus mutans* en la saliva de los niños después de dos semanas de tratamiento. Sin embargo, el grupo de aceite de coco mostró una reducción significativamente mayor en el recuento de *Streptococcus mutans* en comparación con el grupo de clorhexidina. Los autores

concluyen que el aceite de coco puede ser una terapia de enjuague bucal segura y efectiva para mantener la higiene oral en el hogar.

Molina⁷⁵ en el año 2019 realizó una investigación con el objetivo de medir el efecto del *oil pulling* (aceite de coco) sobre la carga bacteriana de *Streptococcus mutans*, cuantificado en saliva, en comparación con la clorhexidina, al 0,12%, evaluado en 60 estudiantes de segundo semestre de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Los estudiantes se dividieron aleatoriamente en tres grupos de 20 cada uno: grupo A (aceite de coco), grupo B (enjuague con clorhexidina al 0,12%) y grupo C (agua destilada). Recolectaron muestras de saliva de los estudiantes antes y después del tratamiento, se aisló y cultivó *Streptococcus mutans* a partir de ellas. Se evaluó la actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco comercial mediante la técnica de vertido. Los resultados mostraron actividad inhibitoria del aceite de coco similar a la de la clorhexidina al 0,12%. El grupo que utilizó aceite de coco mostró una reducción significativa en el número de UFC de *Streptococcus mutans* en la saliva después del tratamiento. En conclusión, el estudio demostró que el aceite de coco tiene un efecto inhibitorio significativo sobre *Streptococcus mutans* en la saliva y puede ser utilizado como un agente terapéutico alternativo para prevenir y tratar la caries dental. Siendo, el aceite de coco una alternativa natural y segura a la clorhexidina al 0,12% para el control de la placa bacteriana.

Pavithran y cols.⁴⁹ en el año 2019 realizaron un ensayo clínico aleatorizado controlado, con una relación de asignación de 1:1, cuyo objetivo fue evaluar el efecto de la terapia con aceite de coco puro contra *Streptococcus mutans in vivo*. Los participantes se dividieron en tres grupos: el grupo A (experimental aceite de coco), el grupo B (control positivo aceite de sésamo) y el grupo C (control negativo solución salina). Se instruyó a los participantes que hicieran enjuagues con 10 ml de aceite, durante la mañana por 10 o 15 minutos. La saliva no estimulada recolectada antes y después del procedimiento de enjuagues con aceite se analizó en busca de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans*. El medio de cultivo utilizado fue *agar mitis salivarius* en placas de agar. Los resultados mostraron que el grupo A tuvo una reducción significativa en la carga bacteriana en la saliva en comparación con los grupos B y C. Concluyendo que, el enjuague bucal con aceite de coco puede ser una alternativa efectiva y segura para mejorar la salud bucal, ya que reduce significativamente el recuento de *Streptococcus mutans* en la saliva.

Peedikayil y cols.⁵¹ en el año 2016 realizaron un estudio de intervención *in vivo* que comparó la eficacia antibacteriana del aceite de coco y la clorhexidina en el tratamiento de la caries dental causada por *Streptococcus mutans*. Los participantes se dividieron en dos grupos: el grupo de estudio que utilizó aceite de coco y el grupo de control que utilizó clorhexidina, realizaron enjuagues todos los días después del cepillado de 2 a 3 minutos durante 30 días. Se registraron los recuentos en placa y saliva el día 1, el día 15 y el día 30, Los resultados mostraron que ambos grupos tuvieron una disminución significativa en el número de *Streptococcus mutans* en la saliva y la placa dental, pero no hubo una diferencia significativa entre los dos grupos. Los autores concluyeron que el aceite de coco puede ser una alternativa efectiva y segura a la clorhexidina en el tratamiento de la caries dental causada por *Streptococcus mutans*.

Kaushik y cols.⁶⁴ en el año 2016 realizaron un estudio controlado aleatorio *in vivo* cuyo objetivo fue evaluar la eficacia del enjuague bucal con aceite de coco en la reducción de la cantidad de *Streptococcus mutans* en la saliva, en comparación con el enjuague bucal con clorhexidina y un grupo control que utilizó agua destilada. La investigación se llevó a cabo con 60 voluntarios sanos de entre 18 y 22 años, que fueron divididos aleatoriamente en tres grupos de 20 sujetos cada uno. El grupo A realizó enjuagues con aceite de coco, el grupo B con clorhexidina y el grupo C con agua destilada. Los participantes del grupo A se enjuagaron la boca con 10 ml de aceite de coco durante 10 minutos, el Grupo B se enjuagaron la boca con 5 ml de clorhexidina durante 1 minuto y el Grupo C con 5 ml de agua destilada durante 1 minuto por la mañana antes del cepillado. Se recogieron muestras de saliva y se cultivaron el primer día y después de 2 semanas. Los resultados mostraron que el enjuague bucal con aceite de coco fue tan efectivo como la clorhexidina en la reducción de la cantidad de *Streptococcus mutans* en la saliva. Además, el grupo que recibió aceite de coco no presentó efectos secundarios negativos, mientras que la clorhexidina sí los ocasionó, en conclusión, este estudio sugiere que el enjuague bucal con aceite de coco puede ser una alternativa segura y efectiva a la clorhexidina para reducir la cantidad de *Streptococcus mutans*.

1.2.3.2 *In vitro*

- **Aceite de coco comercial**

Alberca y Colca¹³ en el año 2018 realizaron una investigación cuyo objetivo fue la evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana de los aceites y extractos metanólicos de

sésamo, coco y girasol sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), para la prueba de susceptibilidad utilizaron la técnica de difusión en agar. Las bacterias fueron adquiridas del laboratorio GenLab del Perú, cultivadas siguiendo las instrucciones del fabricante y sembradas por el método de estriado en una placa de agar sangre al 8%. Por último, fueron incubadas 10 días a 37°. Para evaluar la actividad antibacteriana utilizaron placas con agar Mueller Hinton inoculadas con 0,5 mL de *Streptococcus mutans*. Las placas fueron incubadas durante 3 horas a temperatura ambiente hasta que solidificó el agar que contenía las bacterias. Seguidamente, con ayuda de un sacabocados, en cada placa realizaron perforaciones de 9 mm de diámetro, los pocillos fueron sellados con 0,1 mL del mismo agar para evitar la dispersión del extracto. A cada pocillo le adicionaron 0,2 mL de cada uno de los aceites evaluados, como control positivo utilizaron 0,2 mL de clorhexidina, las placas fueron incubadas en anaerobiosis durante 7 días a 37°, transcurrido el tiempo de incubación procedieron a medir los halos de inhibición con un vernier. Teniendo como resultado que el halo inhibitorio para el aceite de coco fue un promedio de 0 mm, los aceites comerciales de sésamo, coco y girasol no presentaron efecto antibacteriano. Los extractos metanólicos de sésamo y girasol no tuvieron efecto antibacteriano; sin embargo, el extracto metanólico de coco presentó una actividad antibacteriana de 12,8 mm aprox. Así mismo, la prueba de citotoxicidad muestra que la CC50 del extracto metanólico de sésamo es de 100 µg/mL, el extracto de coco es de 200 µg/mL y el extracto de girasol es de 450 µg/mL, para la clorhexidina que fue el control positivo un promedio de 25 mm, por lo que concluyen que estos aceites no mostraron efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

Richani²⁵ en el año 2015, realizó un estudio de tipo experimental puro longitudinal, de alcance explicativo, en el que investigó el efecto del aceite de coco comercial sobre *Streptococcus mutans*. Utilizó 5 placas de Petri con agar soya, la susceptibilidad fue evaluada mediante la técnica de difusión en disco por duplicado, los impregnó con 20 µL de aceite de coco comercial, además colocó un disco de amoxicilina-ácido clavulánico de 30 mcg como control positivo y otro con 20 µL de agua destilada estéril como control negativo en cada placa de Petri; las placas fueron incubadas en una estufa a 37 °C durante un lapso de 24 a 48 horas y luego evaluó mediante la observación directa el halo de inhibición, obteniendo como resultados que los halos de amoxicilina+ ácido clavulánico oscilaron entre 40 y 41 mm y los

del aceite de coco entre 14 y 16 mm. Concluyendo que la amoxicilina+ ácido clavulánico es más efectivo que el aceite de coco.

- **Aceite de coco artesanal**

Suárez y Rey⁷⁶ en el año 2023 realizaron una investigación experimental *in vitro* con el objetivo de comparar la eficacia del aceite esencial de *Cocos nucifera* con respecto a la inhibición de *Streptococcus mutans*. La prueba de susceptibilidad fue evaluada mediante la técnica el método de Kirby Bauer, la metodología utilizada consistió en exponer la cepa certificada ATCC® 25175TM de *Streptococcus mutans* al aceite esencial de *Cocos nucifera* obtenido mediante destilación por arrastre de vapor, utilizando un sistema soxhlet con agua destilada como diluyente, manipularon las cepas bajo condiciones controladas y conocidas. Las cepas de *Streptococcus mutans* fueron divididas en tres grupos: Grupo A (estudio: aceite de coco), Grupo B (estudio: clorhexidina) y Grupo C (control: agua destilada), realizaron diluciones del 5% al 100% del aceite esencial. Utilizaron cepa de referencia *Streptococcus mutans* ATCC®25175 sembrada en agar sangre 5%. La sensibilidad la evaluaron con el método de difusión en agar (Kirby– Bauer), con formación de halos de inhibición ≥ 18 mm. Determinaron la concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima bactericida (CMB) y dosis letal 50% (DL50). Los resultados los obtuvieron evaluando el grado de sensibilidad de *Streptococcus mutans* a concentraciones entre el 5% y el 100% del aceite esencial de *Cocus nucifera*. Concentraciones superiores al 50% del aceite esencial de *Cocus nucifera* generaron halos de inhibición ≥ 18 mm sobre *Streptococcus mutans*, encontraron una CMB de 145,6 mg/dl y una DL50 de 91,0 mg/dl. A partir de una dilución del 30% se observaron halos de inhibición ≥ 15 mm Los resultados mostraron una reducción estadísticamente significativa de *Streptococcus mutans* en los grupos que utilizaron aceite de coco y clorhexidina, en comparación con el grupo de control que utilizó agua destilada. En conclusión, el estudio demostró que el aceite esencial de *Cocos nucifera* posee una efectividad similar a la clorhexidina en la reducción de *Streptococcus mutans*, lo que sugiere su potencial como agente antibacteriano en el cuidado bucal.

Vásquez y Guardia³⁷ en el año 2021 realizaron un estudio experimental *in vitro* para determinar el efecto antibacteriano del aceite de *Cocus nucifera* (Coco) sobre cepas de *Streptococcus mutans* a concentraciones de 25%, 50% y 75%. Utilizaron la técnica de Kirby

Bauer para determinar la sensibilidad antimicrobiana. El efecto lo determinaron mediante el halo de inhibición y la concentración inhibitoria, utilizando la penicilina G procaína como control positivo y la suspensión estándar de *Streptococcus mutans* como control negativo. Realizaron doce réplicas por cada concentración de aceite de coco (25 %, 50 % y 75 %). La concentración de aceite de coco al 25 % generó una media inhibitoria de 17 mm y $2,23 \times 10^2$ UFC, al 50 % una media de 21,75 mm y $0,17 \times 10^2$ UFC, al 75 % una media de 22 mm y 0 UFC, la penicilina G procaína una media de 14,25 mm y 0 UFC, el control negativo dio una media de $2,8 \times 10^5$ UFC. La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis detectó una diferencia estadística altamente significativa de las tres concentraciones de aceite de coco ($p < 0,01$). La prueba de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni determinó que las concentraciones del 50 % y del 75 % tenían una acción inhibitoria similar y que tanto la concentración del 75 % como la penicilina G procaína daban una media de 0 UFC. Todas las concentraciones presentaron halos de inhibición y los tamaños aumentaron directamente proporcional a las concentraciones utilizadas, siendo la concentración al 75%, la que mostró el mayor halo de inhibición 22 mm Finalmente, concluye que el aceite de *Cocos nucifera* posee actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Baqer⁶⁵ en el año 2020 publicó un estudio cuyo objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana de diferentes concentraciones del aceite de sésamo y aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* y especies de *Lactobacillus*, utilizó la técnica de difusión en agar. La suspensión bacteriana de $1,5 \times 10^8$ CFU/ml se sembró en dos placas de agar Mueller Hinton mediante hisopos de algodón estériles. Las bacterias se prepararon por separado, se añadió de 3 a 10 colonias de especies de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* para cada tubo de ensayo etiquetado que contenía 1 ml de solución salina 0,9%. La turbidez de cada tubo se ajustó a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ ufc/ml. Etiquetaron los pocillos y agregaron 0,1 ml de aceite de coco, aceite de sésamo, clorhexidina (como control positivo) y un diluyente DMSO (dimetilsulfóxido) como control negativo, que fueron transferidos por separado al pozo correspondiente utilizando el método estándar. Concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% del aceite de coco y el aceite de sésamo también se probaron de manera similar. Las placas se incubaron anaeróticamente a 37°C durante 24 horas, después de lo cual midieron el diámetro de las zonas de inhibición alrededor de los pozos, se registraron en milímetros y realizaron pruebas por triplicado. Los resultados del estudio mostraron que ambos aceites

poseen actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* y especies de *Lactobacillus*. Además, se encontró que la inhibición del aceite de coco es proporcional a la concentración 18 mm para 100%; 14 mm al 75% y 10 mm al 50%, el sésamo tuvo una actividad inhibitoria significativamente mayor que el aceite de coco sobre *Lactobacillus*. Los autores concluyeron que el aceite de sésamo y aceite de coco tienen actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* y especies de *Lactobacillus*, lo que sugiere que estos aceites pueden ser una alternativa natural a los productos químicos para el cuidado bucal.

Moreno⁷⁷ en el año 2019, realizó un estudio experimental *in vitro* con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano de los aceites de coco y copaiba utilizando la prueba de difusión en agar y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante la técnica de micro dilución en caldo sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados mostraron el promedio de los halos de inhibición para el aceite de coco fue de 10.8 mm. (25%) y 23.5 mm. (50%); del aceite de copaiba fue de 11 mm. (25%) y de 20.5 mm. (50%); de la combinación del aceite de coco + copaiba fue de 16.1 mm. (25%) y de 18.8 mm. (50%); se obtuvo $p = 0.000 < 0.05$, lo cual indicó que, si existe una diferencia estadística entre los tratamientos. Concluyen que, el aceite de coco al 50% obtuvo mayor efecto antibacteriano en comparación de las demás concentraciones, demostrando que ambos aceites tienen un efecto antibacteriano significativo sobre *Streptococcus mutans* y podrían ser utilizados como alternativas naturales en la prevención y tratamiento de la caries dental.

Nagase y cols.⁷⁸ en el año 2017, realizaron un estudio experimental *in vitro* con el objetivo de comparar la eficacia del aceite de coco virgen orgánico y el ácido láurico sobre la inhibición del crecimiento de diferentes cepas bacterianas, realizaron pruebas de difusión en disco y dilución seriada para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración bactericida mínima (MBC) de cada compuesto. Además, llevaron a cabo observaciones microscópicas y análisis de microarrays para investigar los mecanismos de acción. Los resultados demuestran que tanto el aceite de coco virgen orgánico como el ácido láurico tienen acción antimicrobiana contra especies de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mutans*. Sin embargo, el aceite de coco virgen orgánico fue más efectivo que el ácido láurico en la inhibición del crecimiento bacteriano. Además, se encontró que el aceite de coco virgen orgánico tenía un efecto sinérgico con ciertos antibióticos.

También mencionan que el aceite de coco no tiene actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*. Así mismo, encuentran que la actividad del ácido láurico está mediada por un mecanismo bactericida, mientras que el del aceite de coco virgen funciona como bacteriostático. Los autores concluyen que el aceite de coco virgen orgánico y el ácido láurico tienen potencial como agentes antimicrobianos naturales. Además, sugieren que el aceite de coco virgen orgánico podría ser utilizado en combinación con antibióticos para mejorar su eficacia.

Torres²⁰ en el año 2017, realizó trabajo de tipo experimental *in vitro* para evidenciar el efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Preparó un aceite de coco virgen prensado al frío artesanal, la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 25175™. Para realizar la prueba de sensibilidad utilizó la técnica de Kirby Bauer, midió la inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones de aceite de coco y clorhexidina, se determinó la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida. Los resultados mostraron que la clorhexidina presentó un halo inhibitorio de 15.47 mm, el aceite de coco al 100% de 12.96 mm, al 75% presenta 12.05 mm y al 50% de 11.17mm. El estudio demostró que el aceite de coco tiene un efecto antimicrobiano significativo en cepas de *Streptococcus mutans* y puede ser una alternativa natural y efectiva a los enjuagues bucales comerciales que contienen clorhexidina, a pesar de que el microorganismo presenta significativamente mayor sensibilidad frente a la clorhexidina al 0,12% que al aceite de coco en sus tres concentraciones.

1.3 Bases conceptuales

1.3.1 Caries

La caries dental es el resultado de la acidificación prolongada que induce la desmineralización del esmalte dental. Esta acidificación se inicia a partir del metabolismo de los carbohidratos por una biopelícula bacteriana, lo que conlleva a la reducción de los niveles de calcio y fosfato en el esmalte. La desmineralización, proceso caracterizado por la pérdida de calcio y fosfato, constituye el mecanismo subyacente en la patogénesis de la caries dental, la cual se manifiesta tras episodios repetidos de desmineralización a lo largo de un periodo prolongado. La caries es una consecuencia de la colonización bacteriana de la estructura

dental desmineralizada tras una disminución del pH oral provocada por la exposición a carbohidratos⁸.

1.3.1.1 Etiopatogenia

La etiopatogenia de la caries dental se basa en la interacción de cuatro factores principales: el hospedero, el microorganismo, el tiempo, la dieta y el sustrato. Cuando estos elementos se combinan, se crea un ambiente propicio para el desarrollo de la caries dental. La presencia de bacterias cariogénicas, como *Streptococcus mutans*, en la placa dental metaboliza los carbohidratos de la dieta, produciendo ácidos que desmineralizan el esmalte dental. Si esta desmineralización no es contrarrestada por procesos de remineralización, se produce la caries dental^{24,67,79,80}.

1.3.1.2 Clasificación

Según la localización⁸¹

- Caries coronal: afecta la parte visible de los dientes.
- Caries radicular: afecta las raíces de los dientes.

Según la extensión⁸¹

- Caries incipiente: afecta solo el esmalte.
- Caries moderada: afecta el esmalte y la dentina.
- Caries avanzada: afecta el esmalte, la dentina y posiblemente la pulpa dental.

Según la velocidad de progresión⁸¹

- Caries activa: está en proceso de avance.
- Caries inactiva: ha detenido su progresión.

Según el sistema de clasificación ICDAS⁸²

- **Código 0:** Diente sano.
- **Código 1:** Mancha blanca.
- **Código 2:** Cavitación incipiente.

- **Código 3:** Cavitación evidente.
- **Código 4:** Dentina afectada.
- **Código 5:** Pulpa afectada.

1.3.1.3 Factores predisponentes

Factores relacionados con el hospedero:

- **Saliva:** La saliva juega un papel importante en la protección de los dientes contra la caries dental al neutralizar los ácidos, remineralizar el esmalte y eliminar las bacterias. Una disminución en el flujo salival o una alteración en su composición pueden aumentar el riesgo de caries⁸³.
- **Dieta:** La frecuencia y cantidad de azúcares en la dieta es un factor determinante en el desarrollo de caries. Los azúcares fermentables son metabolizados por las bacterias de la placa dental, produciendo ácidos que desmineralizan el esmalte dental.^{84,85}
- **Higiene bucal:** Una higiene bucal deficiente permite la acumulación de placa dental, lo que aumenta el riesgo de caries^{86,87}.
- **Edad:** Los niños y los adultos mayores son más propensos a la caries dental. En los niños, el esmalte dental es más susceptible a la desmineralización. En los adultos mayores, la disminución del flujo salival y la presencia de enfermedades sistémicas pueden aumentar el riesgo de caries⁸⁸⁻⁹⁰.

Tiempo: Para el inicio del proceso de caries dental, se requiere la interacción simultánea de un hospedero bucal susceptible, bacterias cariogénicas específicas y una fuente de carbohidratos fermentables. Es importante destacar que la cariogenicidad del azúcar no depende tanto de la cantidad consumida, sino más bien de la frecuencia y continuidad de su ingesta en el tiempo²⁰.

Factores relacionados con el microorganismo

- **Biofilm:** es una biopelícula que se acumula en la superficie de los dientes. Las bacterias de la biopelícula fermentan los azúcares de la dieta, produciendo ácidos que desmineralizan el esmalte dental⁹¹.

- ***Streptococcus mutans***: Es una bacteria cariogénica que se encuentra en la biopelícula. Esta bacteria produce ácidos y tiene la capacidad de adherirse y permanecer en la superficie de los dientes ^{4,26,81,92}.

1.3.2 *Streptococcus mutans*

Es un coco Gram positivo, anaerobio y aerobio facultativo, se dispone en pares o en cadenas cortas, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido^{26,92}.

1.3.2.1 *Factores de virulencia*

La virulencia de un microorganismo se refiere a su potencial para causar daño y generar enfermedad. En el caso de la caries dental, *Streptococcus mutans* posee diversos factores de virulencia que le permiten provocar esta enfermedad: adhesión, acidogénesis, producción de enzimas, invasión, resistencia a antibióticos, aciduricidad, antígeno de proteína de superficie, proteínas de unión a glucano, síntesis de glucano, glucotransferasas, los genes GTFB y GTFC^{76,79,93,94}.

1.3.2.2 *Caries y su relación con Streptococcus mutans*

Es una bacteria cuya hábitat es la cavidad bucal, capaz de inducir caries en cualquier superficie del diente, sin embargo, es importante mencionar que el paso más importante para que se produzca la caries, es la adhesión inicial del *Streptococcus mutans* a la superficie del diente, pero para que esto se produzca se necesita de un microorganismo (*Streptococcus mutans*), la dieta (ingesta de hidratos de carbono como la sacarosa), un huésped (saliva y diente) y el tiempo (frecuencia de ingesta de carbohidratos)^{95,96,97}. Es decir, su mecanismo de acción principalmente es el producir ácidos aprovechando la presencia de carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa para producir una desmineralización del esmalte cuando metaboliza los carbohidratos, disgregándose y liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, produciendo calcio y fosfato, estos, a su vez, se irradian fuera del esmalte. Este proceso se conoce como desmineralización^{19,98,99}.

Este microorganismo tiene dos sistemas metabólicos; fosfotransferasa (PTS) y sistemas de fuerza motriz de protones (pmf)) que se autorregulan para optimizar la absorción de glucosa con concentraciones variables (bajas o altas) de azúcar en el ambiente bucal. El PTS es un mecanismo de absorción de azúcar de alta afinidad impulsado por fosfoenol piruvato (PEP) y opera a pH neutro. Permite que las bacterias absorban glucosa en concentraciones bajas de glucosa extracelular. El PMF es un sistema de absorción de azúcar de baja afinidad activado por una fuerza motriz de protones (pmf) que opera a un pH bajo y permite la absorción de glucosa en altas concentraciones de glucosa extracelular. El biofilm tiene una capacidad de oxígeno reducida, por lo que, como mecanismo de supervivencia, los microorganismos producen su energía mediante glucólisis anaeróbica. La glucólisis conduce al metabolismo de la glucosa en trifosfato de adenosina (ATP), que es la fuente de energía para el crecimiento y el metabolismo de las células bacterianas. Los ácidos lácticos y algunos otros ácidos orgánicos se producen como subproductos de este metabolismo de la glucosa y se difunden desde la biopelícula hasta las superficies de los dientes. Los ácidos provocan la desmineralización del esmalte a un $\text{pH} \leq 5,5$, que es el pH crítico para la disolución del esmalte. Cuando el esmalte (y la dentina) se desmineralizan, el tejido dental libera iones de calcio y fosfato⁴.

1.3.2.3 Recuento de *Streptococcus mutans* en saliva

Uno de los métodos más comúnmente empleados para el recuento de *Streptococcus mutans* se basa en la obtención de muestras de saliva. Este procedimiento puede clasificarse como un recuento cuantitativo o semicuantitativo, existen diferencias entre ambos métodos, y la elección depende de la precisión y el tipo de análisis que se desee realizar¹⁰⁰ (Tabla 1).

El método cuantitativo consiste en determinar el número de UFC de *Streptococcus mutans* por mililitro (ml) de saliva, mediante un conteo exacto de las colonias. El método semicuantitativo estima la cantidad de *Streptococcus mutans* en la saliva sin realizar un conteo exacto de UFC, sólo clasifica el crecimiento¹⁰⁰.

Tabla 1. Diferencia entre los métodos

Característica	Método Cuantitativo	Método Semicuantitativo
Precisión	Alta (número exacto de UFC)	Baja (estimación en categorías)
Procedimiento	Conteo exacto de colonias	Clasificación de crecimiento
Resultados	UFC/mL exacto	Clasificación (bajo, moderado, alto)

Tiempo y Recursos	Más tiempo y recursos requeridos	Menos tiempo y recursos requeridos
Aplicación	Estudios detallados y comparativos	Evaluaciones rápidas y clínicas

Autoría propia

1.3.2.4 Determinación del nivel de riesgo a caries

El riesgo de caries dental se clasifica y determina a partir del conteo de *Streptococcus mutans* en saliva mediante diferentes criterios que evalúan la cantidad de esta bacteria en la muestra. El total del conteo de *Streptococcus mutans* se determina a través de contar cuantas unidades formadoras de colonias (UFC) crecieron en la placa. Las UFC que se forman en la placa se multiplican por el factor de dilución salival y ese será el número de UFC del individuo examinado¹⁰¹. Generalmente, se utilizan las siguientes categorías:

1. **Bajo Riesgo:** Un recuento de *Streptococcus mutans* inferior a 10^3 UFC/mL (unidades formadoras de colonias por mililitro) se asocia con un bajo riesgo de desarrollar caries. En este rango, la presencia de la bacteria es considerada mínima y, por lo tanto, el potencial de formación de caries es reducido.
2. **Riesgo Moderado:** Un conteo que oscila entre 10^3 y 10^5 UFC/mL indica un riesgo moderado de caries. En este intervalo, la cantidad de *Streptococcus mutans* es suficiente para contribuir a la desmineralización del esmalte dental, aumentando la probabilidad de caries.
3. **Alto Riesgo:** Un recuento superior a 10^5 UFC/mL se asocia con un alto riesgo de caries dental. En este caso, la presencia abundante de *Streptococcus mutans* sugiere una mayor capacidad para metabolizar azúcares y producir ácidos, lo que favorece la desmineralización dental y, por ende, el desarrollo de caries.¹⁰⁰

Tabla 2. Escala de conteos microbianos de *Streptococcus mutans*.

CONTEOS MICROBIANOS	EXPRESIÓN DE BACTERIAS POR ML	NIVEL
≤1,000	10^3	Leve
10,000	10^4	Moderado
100,000	10^5	Alto
≥1,000,000	10^6	Muy alto

Tomado de¹⁰¹

1.3.3 Medicina no convencional

1.3.3.1 Fitofármacos

La fitoterapia es la ciencia encargada del estudio de las características especiales de las drogas vegetales, como lo son sus propiedades químicas y cualidades terapéuticas. La fitoterapia se basa en todos aquellos medicamentos cuyos ingredientes activos se originan del reino vegetal¹⁰².

Desde la antigüedad se ha estudiado el uso del reino vegetal a partir de sus composiciones químicas y por ende sus principios activos con fines terapéuticos, con la finalidad de disminuir o solucionar una patología de origen orgánica o psíquica¹⁰².

Las propiedades medicinales de las plantas se dan gracias a los metabolitos secundarios, en donde podemos encontrar: los aceites esenciales, alcaloides, cumarinas, esteroides, gomas, flavonoides, glucósidos, fenoles, quinonas, resinas taninos, lactonas, mucílagos y terpenos, entre otros. Algunos de estos metabolitos son aislados, luego transformados y por último son sintetizados en fármacos, este proceso deberá cumplir con la calidad, seguridad y eficacia suficiente para garantizar un efecto terapéutico ideal¹⁰³.

1.3.3.2 Componentes de los fitofármacos

Las industrias farmacéuticas se han abocado en la búsqueda de diversas sustancias activas provenientes de la naturaleza con acciones antimicrobianas ya que se ha demostrado en diversos estudios que muchos de estos fitofármacos poseen ventaja sobre los medicamentos de origen químico o sintético ya que los principios activos y por ende sus procesos están biológicamente equilibrados^{11,104}. En los componentes de lo fitofármacos se encuentra:

- Sustancia activa: es la farmacológicamente activa.
- Conectivo: se le adjunta para modificar sus características organolépticas ej: colorante y saborizante.
- Vehículo: es la sustancia añadida a las formas medicamentosas líquidas; (agua, alcohol, éter, ácido acético, etc.)

1.3.3.3 Fitoterapia en odontología

El estudio de plantas medicinales ha contribuido con diversos avances curativos en enfermedades de cavidad bucal. En la actualidad se siguen investigando diversas plantas y sus cualidades, logrando así obtener una serie de sustancias activas con acciones curativas¹⁰⁵.

En general, en la cavidad bucal se aplican las medidas de medicación, profilaxis o la combinación de ambas. Entre los medicamentos indicados se encuentran los fitofármacos, como terapia única o combinada con otras medicinas¹⁰⁶.

1.3.4 Oil listening

El "*oil pulling*" es una práctica tradicional de enjuague bucal que implica hacer enjuagues con aceite en la boca durante un período de tiempo específico, con el objetivo de mejorar la salud oral y general. Se cree que esta técnica ayuda a eliminar toxinas, bacterias y residuos de la boca, promoviendo así la salud bucal^{10,48,107}.

1.3.4.1 Gandusha

El "*Gandush*" es una técnica de higiene bucal, utilizada para el tratamiento y prevención de enfermedades bucales. Consiste en la retención de un volumen significativo de líquido en la cavidad bucal, de manera que se impida la realización de movimientos de gárgaras. Durante la práctica de *Gandush*, la boca es colmada por completo con una solución medicamentosa líquida, la cual se mantiene en reposo por un período de aproximadamente 3 a 5 minutos antes de ser expulsada¹⁰.

1.3.4.2 Kavala Graha

Es otra técnica de higiene bucal en la que se realiza la retención de una cantidad adecuada de líquido con la cavidad bucal cerrada por un lapso de aproximadamente 3 minutos, seguido por la ejecución de movimientos de gárgaras. Este procedimiento constituye un tratamiento simple que, al ser llevado a cabo de manera regular, contribuye a la mejora de los sentidos, la generación de una sensación de frescura. Estas prácticas de higiene bucal también pueden resultar beneficiosas para el tratamiento del mal aliento, la sequedad bucal, la disminución de los sentidos, la fatiga, la anorexia, la pérdida del gusto, la visión deteriorada, el dolor de garganta y todas las alteraciones asociadas con el desequilibrio de kapha¹⁰.

1.3.5 Coco (*Cocos nucifera*)

El coco es el fruto de *Cocos nucifera* (familia *Arecaceae*), un árbol originario de Asia. Como materia prima en diversas industrias (alimentos, cosmética, textil), el coco cumple un importante papel socioeconómico. La pulpa del coco seco o copra contiene más de 60% de aceite que puede ser extraído por diversos métodos. Además de ser rico en ácido láurico, el aceite no sufre degradación a altas temperaturas⁵⁷.

1.3.5.1 Definición

El coco fruto del género de plantas de la familia de las palmáceas, tribu de las *coccoas*, representado raras veces por especies acaules. El cocotero árbol de donde se obtiene el coco, es uno de los árboles más útiles al hombre, pues todas sus partes, desde la raíz a las hojas, tienen aplicación, lo cual le ha valido el nombre de rey de los vegetales. La tradición popular de los hindúes dice que el cocotero sirve para 99 cosas diferentes⁵⁵.

1.3.5.2 Cultivo

Si se comercializa como fruta fresca o agua, la cosecha se efectúa cuando el coco tiene entre 5 y 6 meses. En esta época el contenido de azúcar y agua es muy elevado y el sabor es más intenso. Dentro de cada grupo, existe un gran número de variedades^{55,57}.

1.3.5.3 Compuestos activos

Compuesto mayormente de ácidos grasos de cadena media (AGCM). Estos ácidos grasos contienen entre 6 – 12 átomos de carbono. Con la unión de 3 AGCM + 1 glicerol se forma el TCM (triglicérido cadena media). En el aceite de coco, el ácido graso de cadena media (AGCM) más presente es el ácido láurico, pero existen otros AGCM importantes, como es el caso del ácido mirístico, ácido cáprico y ácido caprílico⁵⁵. Otro compuesto activo son los péptidos antimicrobianos, que se encuentran en el agua de coco y se ha demostrado que tienen actividad contra ciertas bacterias, además, se ha identificado que el monolaurin es un compuesto activo en el aceite de coco que puede tener una mayor penetración debido a la presencia de agentes emulsionantes en formulaciones⁵⁵. Los principales minerales que contiene el aceite de coco son: magnesio, calcio, fósforo, hierro, yodo, selenio, sodio, zinc, cromo, aluminio, bario, cadmio y flúor⁵⁹.

1.3.5.4 Propiedades

El coco es un fruto que tiene muchas propiedades medicinales, nutricionales y artesanales, a continuación, se nombran algunas de ellas:

1. Uno de los usos más extendidos del coco es para obtener aceite de cocina o margarina. Las grasas del coco son resistentes a altas temperaturas. Debe consumirse con moderación pues contiene grasas saturadas.
2. La mezcla de nutrientes del agua de coco contiene minerales, vitaminas, proteínas, carbohidratos y antioxidantes, la convierten en una bebida isotónica o

rehidratante que pueden consumir los deportistas. También puede ser fermentada para producir vinagre.

3. El coco contiene ácido láurico, que al ser procesado sirve para crear jabones, detergentes y champús. El aceite de coco también es aprovechado por la industria para elaborar cremas, fragancias y diversos cosméticos.
4. Reduce las posibilidades de padecer enfermedades cardiovasculares, ya que ayuda a regular la presión sanguínea, los niveles de azúcar y de colesterol en la sangre.
5. Está recomendado especialmente para personas con diabetes pues el aceite de coco no produce picos de insulina en sangre.
6. Tiene propiedades antibacteriana, antifúngica y antiséptica.
7. Mejora y facilita las digestiones pesadas.
8. Tiene un factor de protección solar.
9. Cuida la salud bucal al evitar la formación de placa dental y caries.
10. Por su poder para eliminar hongos se utiliza para combatir la candidiasis (*Cándida albicans*).
11. Es una excelente fuente de energía.
12. Favorece el buen funcionamiento del sistema inmunológico.
13. El aceite de coco estimula el metabolismo.
14. Refuerza la función tiroidea⁵⁵.

1.3.6 Aceite de coco

El aceite de coco se obtiene de la pulpa de la nuez de coco. En los países originarios (Ceilán, India) la extracción se hace de la pulpa fresca, mientras que en Europa y en América el aceite se extrae de la pulpa seca (copra). La pulpa fresca contiene del 30 al 40% de aceite y el 50% de agua; la copra contiene del 60 al 70% de aceite. El aceite de coco tiene un olor característico, es blanco o ligeramente amarillento y se encuentra de una manera líquida por encima de los 25 grados centígrados de temperatura⁶³.

El aceite de coco tiene una composición única: contiene de 45 a 50% de ácido láurico y de 13 a 18% de ácido mirístico y otros ácidos de cadenas de entre 8 y 10 carbonos. Contiene poco ácido palmítico 10% y muy poco ácido esteárico 3%, los ácidos insaturados presentes son pocos, 5 a 8% de ácido oleico y 1 a 2.5% de ácido linoleico. El alto contenido en ácidos

grasos saturados de peso molecular relativamente bajo y la escasez de ácidos grasos insaturados dan lugar a las características del aceite de coco. Hay que hacer notar que, a diferencia de la mayor parte de los aceites de origen vegetal, las características de los diversos aceites de coco, cualquiera que sea su procedencia, no presentan variaciones¹⁰⁸.

1.3.6.1 Técnicas de extracción de aceite de coco

Se han implementado una variedad de procedimientos para la extracción del aceite de coco, los cuales abarcan técnicas tanto de extracción en caliente como en frío, además de métodos secos y húmedos. Algunos de estos procesos incluyen el uso de disolventes orgánicos^{104,109}, también se han utilizado técnicas de extracción por arrastre de vapor, extracción enzimática, fermentación, entre otras⁷⁶.

Existen diversas técnicas para la extracción del aceite, como el uso de prensas mecánicas o solventes. Ambos métodos emplean tecnología convencional desarrollada en la industria de los aceites vegetales. La extracción mecánica es eficaz y rentable para semillas con alto contenido de aceite, como la copra. Por otro lado, el método de extracción con solventes es más apropiado para semillas con bajo contenido de aceite o para extracciones adicionales de la pasta de copra. El residuo resultante de la extracción del aceite se conoce como pulpa de copra.

La extracción mecánica del aceite involucra seis etapas básicas mostradas en el diagrama simplificado de la extracción del aceite de coco vía prensado total: almacenamiento de la copra; preparación de la copra-molienda; calentamiento de la copra molida; extracción del aceite - presión total; procesamiento del aceite extraído y almacenamiento de productos¹⁰⁸.

1.3.6.2 Mecanismo de acción antibacteriana del aceite de coco

A pesar de la existencia de diversas teorías, el mecanismo preciso de acción aún no ha sido completamente esclarecido. Una de las teorías propone un mecanismo que implica la hidrólisis alcalina de los lípidos, lo que conduce a un proceso de saponificación o formación de jabón. Se menciona que el ácido láurico presente en el aceite de coco podría reaccionar con los alcalinos presentes en la saliva, como el hidróxido de sodio y los bicarbonatos, para generar un compuesto similar al laureato de sodio. Este compuesto resultante se cree que disminuye la adhesión y acumulación de la placa dental, además de exhibir propiedades limpiadoras^{75,110,111}.

Así mismo se cree que el mecanismo de acción del aceite de coco se fundamenta en la presencia de ácido láurico, el cual exhibe propiedades antibacterianas significativas. El ácido láurico tiene la capacidad de perturbar la integridad de la membrana celular de las bacterias, ocasionando daños que eventualmente conducen a su destrucción³⁸. Además, se ha observado que el aceite de coco puede interferir con el proceso de adhesión bacteriana a las superficies dentales, dificultando así su capacidad de crecimiento y proliferación en el entorno bucal. En detalle, el mecanismo de acción del aceite de coco se desencadena cuando el ácido láurico se combina químicamente con el hidróxido de sodio y el bicarbonato presentes en la saliva, lo que resulta en la inhibición de la agregación y adhesión del biofilm dental a la superficie dental, un proceso conocido como saponificación. La consistencia viscosa del aceite de coco contribuye a prevenir la formación de placa y la adhesión bacteriana en los dientes. Por otro lado, los ácidos monoláurico y monocáprico presentes en el aceite tienen la capacidad de penetrar las membranas celulares bacterianas, lo que conlleva a la supresión de agentes patógenos al inhibir las enzimas involucradas en la producción de energía y la transferencia de nutrientes⁷⁶.

Otra hipótesis plantea que la naturaleza viscosa del aceite interfiere con la acumulación de placa y la adhesión bacteriana. Durante el enjuague con aceite, se observa una emulsificación de este, lo que resulta en un aumento de la superficie del aceite. El proceso de emulsificación se inicia aproximadamente a los 5 minutos posteriores al enjuague con el aceite. Esta capa de aceite que se forma sobre los dientes y las encías actúa como agente inhibidor de la coagregación bacteriana y la formación de placa. Por consiguiente, se cree que la eliminación de bacterias patógenas en la cavidad bucal, responsables de afecciones como la caries dental, la gingivitis, la periodontitis y el mal aliento, se ven favorecida por este mecanismo de acción del aceite^{75,110,112}.

Además, otra teoría menciona que los triglicéridos de cadena media (ácido cáprico, ácido láurico) que se encuentran en el aceite de coco son los responsables, ya que muestran una inhibición bacteriana máxima⁶⁴.

1.3.7 Aceite de coco en la cavidad bucal

1.3.7.1 Enjuague bucal

Esta práctica consiste en enjuagar la boca con aceite de coco durante 15-20 minutos, para luego escupirlo. Se ha demostrado que esta práctica reduce la aparición de caries, placa dental, gingivitis, estomatitis y el mal aliento^{11,113-119}.

1.3.7.2 Crema dental

Actúa como un agente antimicrobiano y antiinflamatorio que puede ayudar a combatir los microorganismos nocivos en la cavidad bucal y promover una mejor salud bucal. Es una opción natural y efectiva para aquellos que buscan alternativas más saludables en su rutina de higiene bucal^{120,121}.

1.4 Técnicas de evaluación de actividad antibacteriana

1.4.1 Métodos de dilución

Determinan la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).

1.4.1.1 Microdilución en caldo

La técnica de microdilución es un método preciso y eficaz en microbiología para evaluar la actividad antibacteriana de sustancias al determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un agente antimicrobiano, que corresponde a la menor concentración del compuesto capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Esta técnica implica la realización de diluciones seriadas del agente antibacteriano en caldo de cultivo con la bacteria de interés, donde la CMI se establece como la concentración más baja que detiene el crecimiento visible de la bacteria. Además, se determina la concentración mínima bactericida (CMB) como la concentración más baja que resulta en la muerte del 99,9% de las bacterias. La microdilución en microplacas es una valiosa herramienta para investigar la sensibilidad de las bacterias a diversos agentes antimicrobianos¹²².

1.4.1.2 Macrodilución en caldo

La macrodilución es una técnica utilizada en microbiología para evaluar la actividad antibacteriana de sustancias mediante la dilución de los compuestos en volúmenes mayores que en la microdilución. Esta técnica permite determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un agente antimicrobiano, es decir, la menor concentración del compuesto que

inhibe el crecimiento bacteriano en condiciones de mayor volumen de caldo de cultivo. La macrodilución es una herramienta valiosa para estudiar la sensibilidad de las bacterias a diferentes agentes antimicrobianos en un contexto de diluciones a mayor escala¹²².

1.4.1.3 *E-test*

El método E-test es una técnica de evaluación antibacteriana que combina la difusión en disco con una gradilla de concentraciones crecientes de un agente antimicrobiano en una tira plástica. Esta técnica permite determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico frente a un microorganismo específico, ofreciendo una forma precisa y eficiente de medir la sensibilidad de las bacterias a diferentes agentes antimicrobianos. Se coloca una tira impregnada con un gradiente de concentraciones del agente antibacteriano sobre un agar inoculado con la bacteria. La CMI se determina como la concentración en la que se observa una inhibición completa del crecimiento bacteriano alrededor de la tira¹²³.

1.4.2 Métodos de difusión

Se utiliza para medir la sensibilidad bacteriana a un agente antibacteriano.

1.4.2.1 *Kirby-Bauer*

El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia^{122,124}.

1.4.2.2 *Pocillos*

El método pocillos consiste en realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana mediante la disposición de diferentes concentraciones de agentes antimicrobianos en pocillos o cavidades específicas. Esta metodología permite determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico frente a un microorganismo en estudio, facilitando la identificación de la sensibilidad de las bacterias a distintos agentes antimicrobianos en condiciones controladas. Se realizan pocillos en un agar inoculado con la bacteria y se agregan diferentes concentraciones del agente antibacteriano. Se mide el diámetro del halo de inhibición alrededor de cada pocillo para determinar la sensibilidad de la bacteria¹²⁵.

1.4.3 Métodos turbidimétricos

Los métodos turbidimétricos son una técnica comúnmente utilizada en la evaluación antibacteriana para medir el crecimiento bacteriano en función de la turbidez de la muestra. Estos métodos se basan en la capacidad de las bacterias para dispersar la luz, lo que se traduce en un aumento de la turbidez a medida que crecen en presencia de agentes antimicrobianos. La medición de la turbidez a lo largo del tiempo permite determinar la eficacia de los agentes antimicrobianos al inhibir o matar las bacterias en estudio¹²⁶.

1.4.4 Métodos de tinción

Permiten observar la morfología bacteriana y su respuesta a un agente antibacteriano: Se tiñe la bacteria con diferentes colorantes y se observa al microscopio. Se pueden observar cambios en la morfología bacteriana, como la pérdida de integridad de la membrana celular, en presencia del agente antibacteriano. La tinción de bacterias facilita la identificación de características morfológicas, como la forma y disposición celular, así como la presencia de estructuras como la pared celular o flagelos. Estos métodos son esenciales para el estudio de la sensibilidad bacteriana a agentes antimicrobianos y para la clasificación de microorganismos en función de su respuesta a tratamientos antibióticos¹²⁷.

1.4.5 Métodos moleculares

Son técnicas avanzadas que permiten identificar y caracterizar bacterias a nivel genético, lo que resulta fundamental para comprender la resistencia bacteriana a los antimicrobianos y para el desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas. Estas técnicas incluyen la secuenciación del ADN, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la espectrometría de masas, entre otras, que proporcionan información detallada sobre la composición genética de las bacterias y su capacidad de respuesta a los tratamientos antibióticos¹²⁸.

1.4.6 Elección de la técnica

La técnica de evaluación de actividad antibacteriana más adecuada dependerá de diversos factores, como el tipo de agente antibacteriano, la bacteria de interés, la información que se desea obtener y los recursos disponibles.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

En esta sección se describen los procedimientos para alcanzar los objetivos de esta investigación, así como el alcance y diseño de la investigación; los especímenes biológicos, y los instrumentos, materiales, equipos utilizados; las técnicas y procedimientos de análisis referidos al procesamiento estadístico.

2.1 Alcance y diseño de la investigación

De acuerdo con Hernández y cols.¹²⁹ y a los objetivos planteados en la investigación, tuvo un alcance descriptivo, ya que buscó evaluar *in vitro*, el aceite de coco sobre aislados de *Streptococcus mutans*. Adicionalmente, el diseño fue experimental se manipuló, de manera intencional, la variable independiente para analizar el efecto sobre la variable dependiente dentro de una situación controlada, es decir, se pretendió establecer el posible efecto inhibitor del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans* en comparación con la clorhexidina utilizado como control positivo, se consideró que fue un experimento puro con un diseño de post prueba y grupo de control, puesto que reúne los requisitos para el control y la validez interna.

2.2 Ejemplares biológicos

Los ejemplares biológicos, se conformaron por aislados bacterianos puros de *Streptococcus mutans*, obtenidos a partir de la saliva recolectada a cinco (5) escolares de 6 años, mediante cultivo microbiológico en medios selectivos diferenciales.

Los aceites de coco virgen objeto de evaluación fueron obtenidos por prensado al frío, siendo uno de origen artesanal (YWL01) y dos comerciales (NTR02 y Maux03). El gluconato de clorhexidina 0,12% utilizado como control positivo, corresponde a una marca comercial conocida y la solución salina fisiológica estéril como control negativo, fue elaborada en el laboratorio para esta investigación.

2.3 Sistemas de variables

2.3.1 Variable independiente

- Aceite de coco virgen prensado al frío comercial.
- Aceite de coco virgen prensado al frío artesanal.

2.3.2 Variable dependiente

La susceptibilidad de los aislados de *Streptococcus mutans* obtenidos de la saliva de los escolares de 6 años al aceite de coco.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

De acuerdo con los objetivos establecidos, la técnica empleada para la recolección de datos fue la observación directa¹²⁹. Los datos obtenidos fueron registrados en la ficha desarrollada por las investigadoras (Apéndice A, B y C) y validada, revisada y evaluada por expertos en el área, a fin de evitar comprometer los resultados y la credibilidad de las conclusiones de la investigación. En dichos instrumentos se recolectó información correspondiente a: 1) Aislamiento e identificación morfológica y bioquímica de los aislados presuntivos de *Streptococcus mutans*. 2) Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco, clasificándola de la siguiente manera: un signo positivo (+) para la inhibición total; un signo positivo y negativo (+/-) para la inhibición parcial, y un signo negativo (-) para la ausencia de inhibición. 3) Determinación de concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite de coco. Es necesario mencionar que se registraron datos correspondientes a los grupos controles positivos y negativos de cada experimento.

2.5 Procedimientos, materiales, equipos e instrumentos

En esta sección se mencionarán los materiales, instrumental y equipos necesarios para la realización de este estudio (Tabla 3).

2.5.1 Materiales, Equipos e Instrumentos

Tabla 3. *Materiales, equipos e instrumentos*

Medios de Cultivo	<ul style="list-style-type: none">• Agar mitis salivarius• Agar Mueller Hinton• Caldo tripticasa soja• Agar tripticasa soja• Agua destilada estéril
Reactivos e indicadores	<ul style="list-style-type: none">• Peróxido de hidrógeno• Coloración de Gram• Solución salina fisiológica estéril
Controles del proceso	<ul style="list-style-type: none">• Clorhexidina 0.12%• Solución salina fisiológica estéril 0,9%
Material de Laboratorio	<ul style="list-style-type: none">• Tubos de ensayo• Vasos de precipitado• Placas de Petri• Propipetas• Pipetas• Palillos de madera• Asa bacteriológica• Mecheros• Laminas cubre y portaobjetos
Equipos	<ul style="list-style-type: none">• Balanza• Autoclave• Incubadora• Pipetas automáticas• Cuenta colonias
Misceláneos	<ul style="list-style-type: none">• Guantes• Tapabocas• Pinzas algodonerías• Puntillas estériles• Espátulas• Aceite de inmersión• Papel aluminio.• Gradillas

2.5.2 Procedimiento

Para comprender mejor los procedimientos experimentales, el trabajo se dividió en dos etapas: Pre-experimental y Experimental.

Etapas pre-experimental:

Fase I: Descripción de los Objetivos de la Investigación y Procedimiento de Obtención del Consentimiento Informado. Se informó a los padres y representantes detalladamente sobre los objetivos y alcances de la investigación, así como, la metodología a emplear para la obtención de la muestra. Posteriormente se procedió a la lectura del consentimiento informado y se solicitó su aprobación a través de la firma (Apéndice D).

Fase II: Recolección de la muestra. Previo a la recolección de la muestra, se pidió al niño no ingerir alimentos durante 30 minutos. Posteriormente se indicó que debía pasar la lengua con firmeza por todos los dientes y pensar en alimentos que le gustaba consumir, para así inducir la salivación. Se le proporcionó un recipiente estéril para que colocara toda la saliva producida durante un lapso de 5 minutos (Figura 1).



Figura 1. Recolección de la muestra.
A) Indicaciones al paciente B) Muestras en envase estéril

Fase III: Cultivo de la muestra. Se preparó el agar mitis salivarius siguiendo las instrucciones del fabricante (Figura 2).

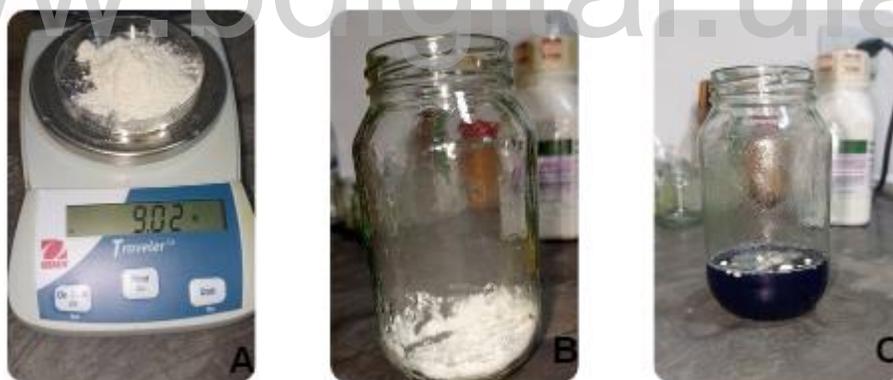


Figura 2. Preparación del agar.

Con un asa en aro calibrada de 5 μ L, se inoculó, por duplicado, la muestra de saliva en las placas, utilizando la técnica de semicuantificación de colonias. Esta técnica consiste en trazar una línea desde el centro hacia la periferia de la placa de Petri, regresando para atravesar el diámetro de la placa con un estriado compacto y uniforme sin levantar el asa, cubriendo toda la superficie. Posteriormente, se giró la placa 90° y se efectuó otro estriado en ángulo recto con

respecto al primero. Las placas se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 35 ± 1 °C, en microaerobiosis con un 5% de CO₂ (Figuras 3 y 4).



Figura 3. Inoculación de la saliva mediante la técnica de semicuantificación



Figura 4. Incubación de las placas en microaerobiosis

Fase IV: Aislamiento e identificación. Finalizado el período de incubación, las placas fueron observadas para determinar la presencia de las colonias características sugestivas de *Streptococcus mutans*, es decir, colonias oscuras, brillantes, de bordes definidos con un halo transparente alrededor. Se seleccionaron, al azar, 8 colonias por placa, y se realizaron las pruebas preliminares de: tinción de Gram y catalasa. Los aislados que resultaron cocos Gram positivos dispuestos en cadenas y catalasa negativa fueron codificados y subcultivados en agar tripticosa soja para las pruebas siguientes (Figuras 5, 6, 7, 8, 9 y 10).



Figura 5. Crecimiento bacteriano en agar mitis salivarius



Figura 6. Crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* a las 24 horas de incubación



Figura 7. Selección de las colonias características de *Streptococcus mutans*



Figura 8. Colonias seleccionadas para subcultivos

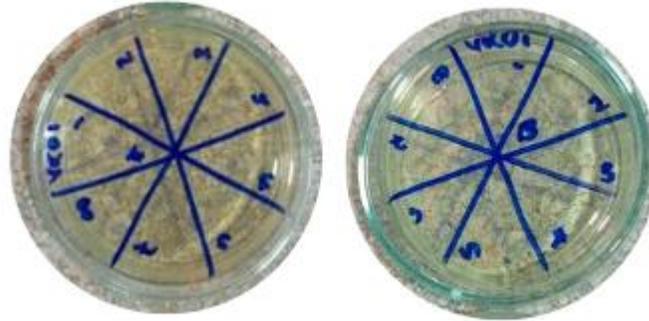


Figura 9. Muestras subcultivas en agar



Figura 10. Prueba para catalasa

Fase VI: Preparación del inóculo. A partir de los aislados seleccionados se prepararon suspensiones bacterianas equivalentes al tubo número 0.5 de McFarland (correspondiente a $1,5 \times 10^8$ CFU/ml), tomando una pequeña porción del crecimiento bacteriano contenido en las placas de agar tripticasa soja de 24 horas de cultivo y resuspendiéndola en 1 mL de solución salina fisiológica estéril contenido en tubo de ensayo con tapa de rosca. Las suspensiones así ajustadas fueron utilizadas como inóculo dentro de los 15 minutos siguientes (Figura 11).



Figura 11. Tubos de ensayo con turbidez similar al patrón 0,5 McFarland equivalente a 10^8 CFU/ml

Etapa Experimental:

Fase I: Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco.

Se preparó agar Mueller Hinton utilizando la cantidad, según las indicaciones del fabricante. Posteriormente, se dispensó en tubos con tapa de rosca (15 mL), y se esterilizó a 121°C por 15 minutos.

Paralelamente, se preparó una solución madre de aceite de coco pesando 50g de aceite de coco y se diluyó en 100 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) y se calentó a 25 °C para facilitar la disolución (Figura 12).



Figura 12. Preparación de la solución madre y las diluciones de aceite de coco con DMSO

Luego, se procedió a preparar las placas con el gradiente de concentraciones establecido para el estudio (Tabla 4), agregando el volumen correspondiente en el agar previamente fundido y temperado a 45°C, se homogeneizó completamente y por último se vertió en placas estériles para su solidificación a temperatura ambiente (Figura 13).

Tabla 4. Gradiente de concentraciones

Concentración en porcentaje	Volumen de la solución madre en microlitros	Agar Mueller Hinton en mililitros
10	200	12
25	500	12
50	1000	12
75	1500	12

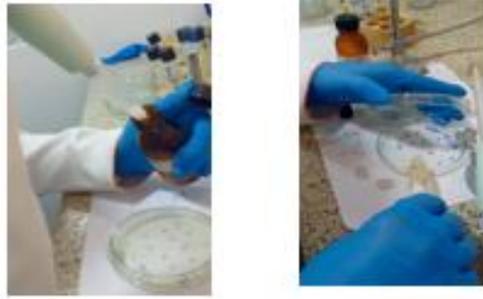


Figura 13. Vertimiento del aceite sobre las placas

Una vez solidificadas las placas se procedió a inocular 9 μ L de los inóculos estandarizados de los aislados *Streptococcus mutans* sobre la superficie del agar y se dejaron reposar durante una hora para permitir la absorción del inóculo. Las placas se incubaron a 37°C, en microaerobiosis durante 24 horas. Este proceso experimental se llevó a cabo por duplicado. Cumplido el tiempo de incubación se realizó la lectura de los resultados mediante la observación directa simple, considerando que el efecto inhibitorio correspondió a la ausencia de crecimiento de *Streptococcus mutans* (Figura 14, 15 y 16).



Figura 14. Inoculación de *Streptococcus mutans* sobre las placas de Mueller Hinton con aceite de coco.



Figura 15. Inoculación de las cepas de *Streptococcus mutans* sobre el correspondiente aceite de coco



Figura 16. Placas de Petri con los diferentes aceites de coco a distintas concentraciones con las cepas a estudiar

Fase II: Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite de coco y la clorhexidina

A las cepas que resultaron positivas de la prueba preliminar, se les determinó la CIM haciendo uso de la técnica de difusión en agar de Kirby Bauer con pozos. Se prepararon tubos de agar Mueller Hinton de 12 ml y se temperaron a 45 °C, por otra parte, se prepararon suspensiones equivalentes al tubo 0,5 McFarland de las cepas de *Streptococcus mutans* y se inocularon 100 µl en el agar, por duplicado. Seguidamente se homogeneizó, se vertió en placas de Petri estériles que contenían cilindros de acero necesarios para la formación de los pozos y se dejó solidificar (Figura 17).



Figura 17. Formación de pozos

Se retiraron los cilindros de acero, y se procedió a verter 80 µl de un gradiente de concentraciones del aceite correspondiente al intervalo donde hubo inhibición, se utilizó clorhexidina como control positivo y solución salina fisiológica estéril como control negativo. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas. La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se llevó a cabo mediante observación directa simple y la medida de los halos (Figura 18).



Figura 18. Técnica en pozos para medición de halo inhibitorio

2.6 Aspectos éticos

Con el objetivo de preservar la ética en la investigación, se llevó a cabo un protocolo que incluyó una búsqueda minuciosa de información supervisada por expertos en el campo, con el fin de garantizar la fiabilidad de los resultados y mantener su integridad. Además, es importante destacar que:

- No hay conflicto de interés
- Se realizó un protocolo adecuado al momento de la manipulación de las cepas y los aceites.
- Se respetó la integridad de los resultados.
- El estudio no es financiado por ninguna marca comercial, la cual se beneficie o afecte los resultados en cuanto al aceite de coco.
- Los representantes de los escolares aceptaron mediante el consentimiento informado el uso de la saliva de sus representados, y no presentan ningún conflicto de interés con el experimento.

2.7 Plan de análisis de resultados

Para el análisis de los resultados obtenidos, se utilizó estadística descriptiva para variables cualitativas nominales con el propósito de identificar la presencia o ausencia de *Streptococcus mutans* en las placas de agar mediante la elaboración de tablas. El software empleado para este análisis fue SPSS versión 17, los resultados se agruparon en tablas y gráficos para su posterior interpretación.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

I. Identificación de riesgo a caries

Se estudiaron 5 pacientes masculinos de 6 años, observando el crecimiento de *Streptococcus mutans* en todos los pacientes analizados (5/5) (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de la evaluación de Riesgo a caries en los cinco pacientes escolares de 6 años.

PACIENTE	CRECIMIENTO EN AGAR MITIS SALIVARIUS	
Paciente 1	+	≥ 1000000
Paciente 2	+	≥ 1000000
Paciente 3	+	≥ 1000000
Paciente 4	+	≥ 1000000
Paciente 5	+	≥ 1000000

Fuente: Datos propios obtenidos del conteo posterior al cultivo de la saliva recogida de los escolares.

II. Aislamiento: Identificación preliminar

La tabla 6 muestra los resultados preliminares del aislamiento. Se obtuvieron 96 aislados de los cuales 31 fueron Gram positivos y 52 resultaron negativos para la prueba catalasa. Luego del subcultivo se logró el crecimiento de 27 aislados presuntivos de *Streptococcus mutans*, a partir de los cuales se seleccionaron aleatoriamente 11 para las pruebas con aceite de coco (Figura 19).

Tabla 6. Resultados preliminares del aislamiento de colonias presuntivas de *Streptococcus mutans* a partir de muestras de saliva de escolares de 6 años

CÓDIGO	GRAM	MORFOLOGÍA	DISPOSICIÓN	CATALASA	SUBCULTIVO
VK01A1	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK03B2	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK04B8	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK05A6	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK05A4	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK02A8	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK05B3	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK04A3	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK05B6	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció
VK01B5	Positivo	Coco	En cadenas	Negativo	Creció

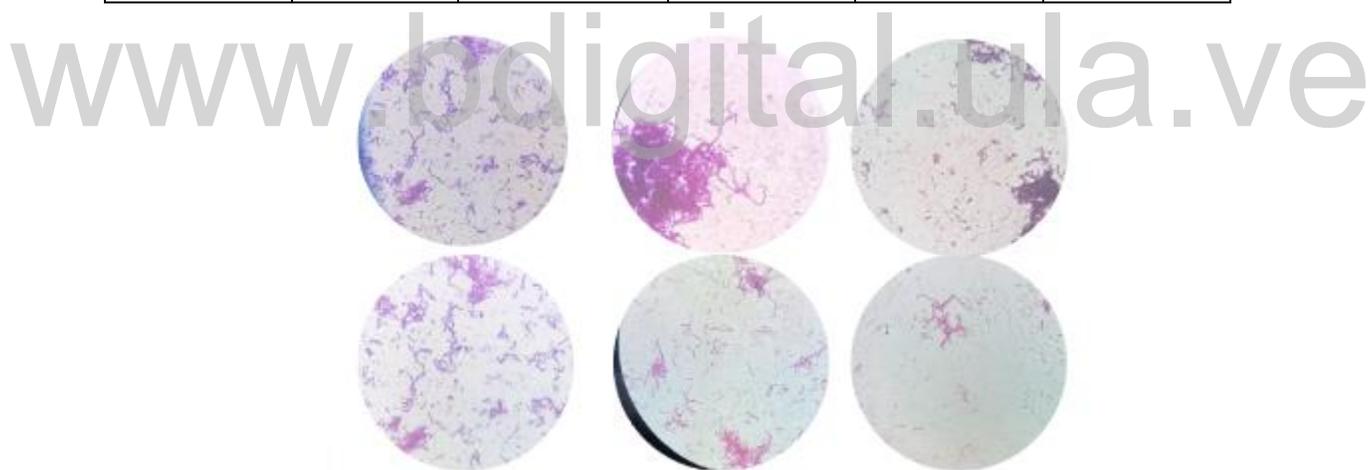


Figura 19. Observación al microscopio, posterior a la tinción de Gram presencia de *Streptococcus mutans*, forma; coco, disposición: cadenas

Fuente: Datos propios

III. Fase de pruebas de evaluación preliminar

En la evaluación preliminar, se observó que únicamente los aislados 6 y 10 fueron completamente inhibidos por los aceites en todas las concentraciones testadas (Tablas 7, 8, y 9) (Figuras 20 y 21).

Tabla 7. Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío artesanal (YWL01) sobre aislados de *Streptococcus mutans*

AISLADO	10%		25%		50%		75%		Control positivo
	PLACA								
	1	2	1	2	1	2	1	2	
VK01B4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK03B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04B7	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A6	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK02A8	+	+	-	-	++	++	-	-	-
VK05B3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B8	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04A3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Datos propios

Tabla 8. Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío artesanal comercial (NTR02) sobre aislados de *Streptococcus mutans*

AISLADO	10%		25%		50%		75%		Control positivo
	PLACA								
	1	2	1	2	1	2	1	2	
VK01B4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK03B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04B7	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A6	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK02A8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VK05B3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B8	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04A3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Datos propios

Tabla 9. Evaluación preliminar de la actividad inhibitoria del aceite de coco virgen prensado al frío comercial (Maux03) sobre aislados de *Streptococcus mutans*

AISLADO	10%		25%		50%		75%		Control positivo
	PLACA 1	PLACA 2							
VK01B4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK03B2	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04B7	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A6	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05A4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK02A8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VK05B3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B8	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK04A3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
VK05B6	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Datos propios



Figura 20. Crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* en las concentraciones 10%, 25%, 50% y 75% de aceite de coco

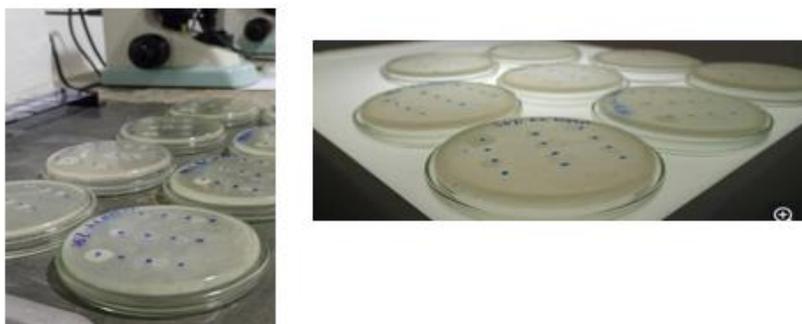


Figura 21. Inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* por acción del aceite de coco virgen prensado al frío

Además, se notó un incremento en el crecimiento de microorganismos contaminantes en el aceite de coco virgen prensado en frío artesanal en comparación con el aceite de coco virgen prensado en frío comercial Figuras 22, 23 y 24).



Figura 22. Presencia de contaminantes en aceite de coco virgen prensado al frío artesanal



Figura 23. Comparación de la presencia de contaminantes entre los aceites de coco comercial y artesanal.
A) Aceite de coco virgen prensado al frío artesanal B) Aceite de coco virgen prensado al frío comercial

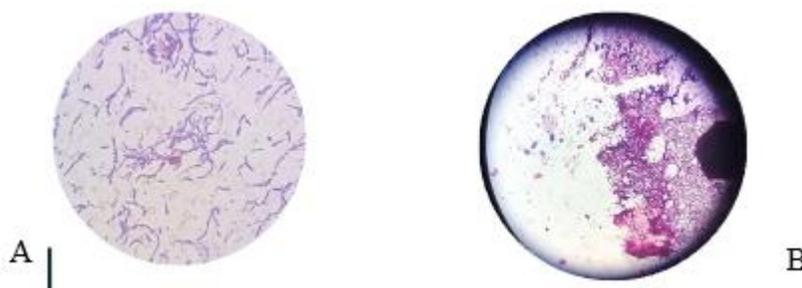


Figura 24. Observación en el microscopio de los contaminantes encontrados, posterior a la tinción Gram
A) *Lactobacillus* B) Bacterias contaminantes

A pesar de no haberse determinado susceptibilidad de manera preliminar en el 80 % de los aislados evaluados, se llevó a cabo un ensayo mediante la técnica de difusión en el agar con pozos, utilizando las soluciones madre preparadas para la prueba preliminar, obteniendo como

resultado un halo inhibitorio para los 3 aceites de coco probados de 0 mm y para la clorhexidina 20,1 mm (Figura 25).



Figura 25. Halo inhibitorio con técnica de pozos.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

La investigación proporcionó evidencia que permitió alcanzar los objetivos específicos establecidos inicialmente. Con relación al riesgo de caries, este estudio reveló que los escolares presentaban un alto riesgo de caries, dado que, el recuento de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) en todos los niños superaba los 10^6 UFC/ml, resultado que concuerda con un estudio realizado por Falcón¹³⁰, donde los escolares tenían un recuento superior a 10^5 UFC/ml de *Streptococcus mutans*. Así mismo, Rodríguez y cols.¹³¹ en 2023 mencionan que el 46.66% de los pacientes de 5 a 7 años eran portadores de caries, y Cabrera cols.¹³² revelaron en su estudio que los infantes del sexo masculino tenían un ligero predominio en lesiones cariosas. En contraposición a lo afirmado por Rojas y cols.¹³³ en el 2020, quienes indicaron un bajo riesgo de caries en los escolares, ya que la prevalencia de caries fue del 22%, a pesar del elevado consumo de alimentos considerados cariogénicos.

En relación con la actividad inhibitoria del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* se observó que solo el 20% de los microorganismos se inhibieron. Este hallazgo se respalda por investigaciones previas realizadas por Hugues y cols.¹³⁴, quienes compararon aceites vegetales, con sus respectivos ácidos grasos, obteniendo como resultado que el aceite de coco inhibió en un 26% a *Streptococcus mutans*, señalan que, aunque hubo cierta actividad antimicrobiana, no fue suficiente para considerarse efectivo, en contraposición estudios como el de Torres²⁰ reporta que *Streptococcus mutans* es sensible ante el aceite de coco e indica que existen diferencias significativas entre la eficacia inhibitoria producida por la clorhexidina en relación al aceite de coco. Los resultados de esta investigación indican que el aceite de coco posee una capacidad inhibitoria moderada, lo cual se puede asociar a la selectividad de ciertos aislados de *Streptococcus mutans*, ya que los componentes bioactivos del aceite, especialmente los ácidos grasos de cadena media (AGCM) como el ácido láurico, ejercen su efecto antimicrobiano a través de la disrupción de la membrana celular bacteriana, comprometiendo su integridad y

funcionalidad. Esta acción no solo interfiere con la viabilidad de las bacterias, sino que también puede inhibir su capacidad de adhesión a las superficies dentales, un paso crucial en la formación de biopelículas y caries. Sin embargo, la variabilidad genética entre cepas puede resultar en diferencias en la susceptibilidad a los compuestos antimicrobianos, ya que algunos aislados pueden poseer mecanismos de resistencia que les permiten evadir los efectos del aceite de coco, lo que resalta la importancia de considerar la composición específica de los aislados bacterianos y el origen del aceite de coco al momento de evaluar la eficacia del aceite en la prevención de caries. Además, podría considerarse que, si bien los enjuagues bucales con aceite de coco no alcanzan la misma eficacia que la clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans*, pudiera evaluarse como un ingrediente simbiótico en preparados para la prevención de las caries, representando una alternativa valiosa en comunidades con limitaciones económicas para promover la salud bucal.

En contraste, los estudios *in vivo* hallaron resultados positivos para la inhibición del aceite de coco; Ahmed y cols.⁴⁷. en su estudio con saliva de niños egipcios explican que la disminución de *Streptococcus mutans* fue mayor que con la clorhexidina, así mismo, Owittayakul y cols.¹³⁵ examinaron el efecto del aceite de coco en 40 estudiantes universitarios, debían realizar enjuagues bucales todos los días durante dos semanas, consiguieron que la reducción de *Streptococcus mutans* fue de 39%. Por otra parte, Jauhari y cols.¹³⁶ en una investigación con 52 niños entre 6 y 12 años evaluaron la actividad antimicrobiana del *oil pulling*, los enjuagues bucales a base de hierbas y el enjuague bucal con flúor sobre la actividad de caries y los recuentos de *Streptococcus mutans*, utilizando el kit Oratest y Dentocult SM, y en su hallazgo mencionan que la eficacia de los enjuagues bucales con flúor y con hierbas era comparable, mientras que el *oil pulling* no proporcionó ningún beneficio adicional para ser utilizado como un agente antimicrobiano eficaz en la reducción de la colonización bacteriana. Sin embargo, Molina⁷⁵, Pavithran y cols.⁴⁹ y Kaushik y cols.⁶⁴, cuantificaron saliva de adultos para posteriormente evaluar las UFC/ml de *Streptococcus mutans* y los resultados eran similares en los grupos que utilizaron aceite de coco y el grupo control que utilizó clorhexidina. Este contraste en los resultados puede explicarse por el mecanismo de acción del aceite de coco, que se atribuye principalmente a su contenido de ácido láurico y otros ácidos grasos de cadena media, los cuales poseen

propiedades antimicrobianas que pueden alterar la membrana celular de las bacterias, facilitando su eliminación. Sin embargo, la variabilidad en la respuesta de los diferentes grupos de estudio sugiere que factores como la concentración del aceite, la duración del tratamiento y la composición del microbiota bucal pueden influir en la eficacia del aceite de coco como agente antimicrobiano, lo que resalta la necesidad de más investigaciones para establecer su potencial en comparación con agentes antimicrobianos convencionales como la clorhexidina.

Por otra parte, sobre el objetivo de evaluar la capacidad inhibitoria en diferentes concentraciones del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans*, se obtuvo un resultado relevante. A diferencia de estudios anteriores, como el de Firdaus¹²¹, quien realizó un estudio *in vitro*, recolectó muestras de placa dental de niños con caries y aisló las cepas, las cuales expuso a un aceite de coco virgen que demostró efecto antibacteriano en concentraciones superiores al 80%, y de investigaciones como la de Torres²⁰ que sugirió una relación directa entre la concentración de aceite de coco y su efecto inhibitorio, los resultados de Suárez y Rey⁷⁶ al probar un aceite de coco obtenido mediante destilación por arrastre de vapor mostraron que a mayor concentración, mayor era el halo inhibitorio del aceite sobre el microorganismo, del mismo modo, Vásquez y Guardia³⁷, mencionan que las concentraciones del 50 % y del 75 % tienen una acción inhibitoria similar, por otra parte Baqer⁶⁵ y Moreno⁷⁷ reportaron inhibición en concentraciones mayores al 50%. En contraste con estas investigaciones, en nuestro estudio se evidenció que el aceite de coco exhibió una acción inhibitoria constante sobre *Streptococcus mutans*, independientemente de la concentración utilizada en las pruebas (10%, 25%, 50% y 75%). Este hallazgo desafía las expectativas previas y sugiere que la efectividad del aceite de coco como agente inhibidor de *Streptococcus mutans* no está directamente relacionada con su concentración, lo que podría tener implicaciones significativas en el desarrollo de enjuagues bucales y productos para el cuidado bucal basados en este compuesto natural.

En el presente estudio, se planteó realizar una comparación entre el aceite de coco comercial y el aceite de coco artesanal a fin de determinar posibles disparidades en su actividad, y aunque no hay estudios donde los comparen, en el presente estudio no se observaron diferencias en la acción antimicrobiana entre ambas variantes de aceite, sin

embargo, investigaciones previas de Alberca y Colca¹³, al emplear un aceite de coco comercial, obtuvieron un halo de inhibición de 0 mm por otra parte, Richani²⁵ utilizó un aceite de coco comercial, y halló una inhibición de 10mm, sin embargo estudios como el de Baqer⁶⁵ quien utilizó un aceite de coco comercial, encontró una inhibición de 18 mm, Torres utilizó un aceite de coco artesanal y obtuvo un halo inhibitorio 12.96 mm, Vásquez y Guardia quienes también manipularon un aceite artesanal, consiguieron una media de 22 mm, lo que sugiere que ambas maneras pueden o no ser efectivas, y su inhibición depende de diversos factores (concentración del aceite de coco, método de aplicación, método de extracción, condiciones del medio de cultivo, variabilidad en la cepa de *Streptococcus mutans*, mecanismos de acción, tiempo de exposición) y no solo del método de obtención.

Un aspecto importante por destacar en esta investigación, a pesar de no ser un objetivo, está relacionado con la calidad y pureza; se notó que el aceite de coco virgen prensado en frío comercial no presentó crecimiento de contaminantes respecto a los observados en el aceite de coco virgen prensado en frío artesanal. Al realizar el análisis microscópico de los contaminantes, se identificó la presencia de cocos y bacilos Gram positivos, catalasa positiva, lo que plantea serias preocupaciones sobre la seguridad y eficacia del aceite de coco artesanal en el contexto de la salud bucal. La presencia de estos contaminantes podría interferir con la capacidad del aceite de coco para reducir la colonización de *Streptococcus mutans*, ya que los microorganismos contaminantes pueden competir por los mismos nichos ecológicos en la cavidad bucal o incluso contribuir a la formación de biofilms que favorecen la proliferación de bacterias cariogénicas. Además, la calidad del aceite de coco, influenciada por los procesos de producción, puede afectar su composición química y, por ende, su eficacia antimicrobiana. Esto subraya la importancia de investigar y establecer estándares de control sanitario para los productos artesanales, asegurando que no solo sean efectivos en la reducción de patógenos bucales, sino que también sean seguros para el consumo, lo que es crucial para mantener una buena salud bucal.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tras llevar a cabo un estudio experimental para evaluar la actividad inhibitoria del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* en escolares de 6 años, se han obtenido resultados significativos que contribuyen al campo de la odontología y la microbiología bucal. A continuación, se presentan las conclusiones más relevantes derivadas de esta investigación:

1. **Efectividad limitada del aceite de coco:** Los resultados obtenidos en esta investigación indican que tanto el aceite de coco comercial como el artesanal presentan una actividad inhibitoria limitada sobre *Streptococcus mutans*, con un porcentaje de inhibición del 20%. Esto sugiere que, aunque el aceite de coco puede tener propiedades antimicrobianas, se considera que el efecto inhibitor del aceite de coco es selectivo de ciertos aislados de *Streptococcus mutans*, este resultado sugiere realizar más investigaciones para así poder emplear su uso como agente terapéutico en el control de la caries dental.
2. **Variabilidad en la actividad antibacteriana:** La similitud en los resultados de inhibición entre los dos tipos de aceite de coco sugiere que la fuente del aceite (comercial vs. artesanal) no influye significativamente en su capacidad para inhibir *Streptococcus mutans*. Sin embargo, se debe considerar la variabilidad en la composición de los aceites, que podría afectar su actividad antimicrobiana.
3. **Necesidad de protocolos estándar:** La falta de evidencia concluyente sobre la acción inhibitoria del aceite de coco resalta la necesidad de establecer protocolos de investigación estandarizados. Esto permitirá la comparación de resultados entre estudios y contribuirá a la validación científica de su uso en la prevención de caries. Se recomienda diseñar y adoptar protocolos estandarizados para la evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites naturales, incluyendo el aceite de coco. Estos protocolos deben incluir variables como la concentración del aceite, el tiempo de exposición, disolvente y el método de aislamiento de *Streptococcus mutans*.

4. **Investigaciones futuras:** Se sugiere realizar estudios adicionales que evalúen diferentes concentraciones de aceite de coco, así como la combinación de este con otros agentes antimicrobianos, para determinar si se puede potenciar su efecto inhibitorio.
5. **Análisis de Composición:** Es recomendable llevar a cabo un análisis detallado de la composición química de los aceites de coco utilizados en los estudios, para identificar los componentes que podrían estar contribuyendo a la actividad antimicrobiana y su relación con la efectividad observada.
6. **Necesidad de estudios clínicos:** A pesar de los resultados obtenidos en este estudio *in vitro*, se hace necesario realizar investigaciones microbiológicas y clínicas adicionales para validar y ampliar la eficacia y seguridad del aceite de coco en el control de la caries dental, considerando factores como la dosificación, la frecuencia de aplicación, el método de obtención del aceite de coco e incluso factores individuales de cada paciente. Se necesitan más hallazgos utilizando diferentes aceites de coco (marca, método de extracción, diluyente) para poder conocer el diferente comportamiento del aceite.
7. **Necesidad de seguridad microbiológica:** De acuerdo con los resultados obtenidos es necesario mencionar la importancia del control y la bioseguridad al momento de producir aceites de coco artesanales, ya que los contaminantes presentes pudiesen afectar el microbiota bucal.

En resumen, los resultados de esta investigación sugieren que el aceite de coco utilizado posee propiedades antimicrobianas moderadas que podrían ser aprovechadas como coadyuvante en la prevención de la caries dental. Estas conclusiones abren nuevas perspectivas en el campo de la odontología preventiva y destacan la importancia de seguir explorando el potencial terapéutico de productos naturales en el cuidado de la salud bucal.

Referencias

1. Featherstone J. Dental caries: A dynamic disease process. *Aust Dent J*. 2008 Sep;53(3):286–91.
2. Ahovuo-Saloranta A, Forss H, Walsh T, Nordblad A, Mäkelä M, Worthington H V. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in permanent teeth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;(7):CD001830.
3. Cui G, Li P, Wu R, Lin H. Streptococcus mutans membrane vesicles inhibit the biofilm formation of Streptococcus gordonii and Streptococcus sanguinis. *AMB Express*. 2022;12(1).
4. Meyer F, Enax J, Epple M, Amaechi BT, Simader B. Cariogenic biofilms: Development, properties, and biomimetic preventive agents. *Dent J (Basel)*. 2021 Aug 1;12(154).
5. Ten J, Featherstone J. Mechanistic Aspects of the Interactions Between Fluoride and Dental Enamel. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. 1991 Jul;2(1):283–96.
6. Moynihan P, Petersen P. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. *Public Health Nutr*. 2004 Feb;7(1a):201–26.
7. Conde S. Efectividad anticariogénica de sellantes de fosas y fisuras resinosos aplicados en piezas permanentes. [Perú]: Universidad Privada de Tacna; 2019.
8. Felix A, Terrick A, Kristen A. Nanotechnology-based therapies for the prevention and treatment of Streptococcus mutans-derived dental caries. *J Oral Biosci*. 2021 Dec;63(4):327–36.
9. Díaz M. El efecto del oil pulling sobre la salud bucal. [Santo Domingo, República Dominicana]: Universidad Iberoamericana; 2020.
10. Singh A, Purohit B. Tooth brushing, oil pulling and tissue regeneration: A review of holistic approaches to oral health. *J Ayurveda Integr Med*. 2011;2(2):64–8.
11. Ortega E, Gómez B, Salame V. Los beneficios que aporta el aceite de coco a la salud bucal. *Revista Dilemas Contemporáneos: Educación, Política y Valores [Internet]*. 2022 [cited 2023 Nov 15];(59). Available from: <http://www.dilemascontemporaneoseducacionpoliticyvalores.com/>

12. Abu S, Beenish K, Rashid A, Amber K, Sohaib Z, Muhammad M, et al. Comparative efficacy of Moringa oleifera and coconut oil-based mouthwashes versus chlorhexidine in reducing human oral microbial populations in healthy adults: a single blind clinical trial. *J Herb Med.* 2024 Mar;44.
13. Alberca P, Colca S. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de los aceites y extractos metanólicos de sésamo, coco y girasol sobre cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175). Reportorio Académico UPC. [Perú]: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2018.
14. Camus G, Peterson P. La OMS publica un nuevo informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 3]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/>
15. Organización Mundial de la Salud. Salud Bucodental. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>. 2022.
16. Liebana J. *Microbiología Oral*. 2 ed. McGraw-Hill. Interamericana de España. Madrid; 2002.
17. Barrientos L, Jorge A. Actividad antibacteriana del aceite esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio In vitro. [Lima- Perú]: Universidad Privada Norbert Wiener; 2017.
18. Hoyos M, Esprella A, Saavedra C, Espinoza H. Radiología de la Caries Dental. *Revista de Actualización Clínica Investigación. Rev Act Clin Med.* 2013;38:1857–62.
19. Pelaez P. Evaluación del efecto antimicrobiano del Triclosan y Clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* (Estudio in vitro). Universidad Central del Ecuador; 2014.
20. Torres C. Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Universidad Central del Ecuador; 2017.
21. González M, Betancourt R, Morales A. Caries dental y factores de riesgo en adultos jóvenes. Distrito Capital, Venezuela. *Revista Cubana Estomatología.* 2009;46(3).
22. Homayouni A, Pourjafar H, Mirzakhani E. A comprehensive review of the application of probiotics and postbiotics in oral health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13.
23. Sin C, Britos M, Chamorro E, Cáceres M, Fernández D, Ortega S. Aceites esenciales con actividad antibacteriana: posible aplicación y administración en odontología. *Revista Odontología Vita* [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 15];2:32–43. Available from: <https://revistas.ulatina.ac.cr/index.php/odontologiavital>

24. Castro R, Padilla C. Producción de ácido láctico y glicocálix en cepas de *Streptococcus mutans* y su relación con el grado de destrucción coronaria por caries. [Chile]: Universidad de Talca. Facultad de Ciencias de la Salud; 2007.
25. Richani F. Efecto del aceite de coco sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. In vitro [Tesis]. [Venezuela]: Universidad de Carabobo; 2015.
26. Barrancos P. “Operatoria dental”. 4ta ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2006.
27. Federación Dental Internacional (FDI). El Desafío de Las Enfermedades Bucodentales - Una llamada a la acción global [Internet]. Vol. 2. Ginebra: Atlas de salud Bucodental; 2015 [cited 2024 Jul 31]. Available from: https://www.fdiworlddental.org/sites/default/files/2021-03/book_spreads_oh2_spanish.pdf
28. Graciano M, Correa Y, Martínez C, Burgos A, Ceballos J, Sánchez L. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. Revista Nacional de Odontología. 2012;8(14):32–45.
29. López M. Efectividad antibacteriana in vitro del gel de Burm- F. (aloe vera) y extracto hidroetanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2018.
30. Aguilera M, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). ODOUS . 2011;12(1):7–12.
31. Chirinos J, Chota L. Desarrollo de un enjuague bucal de extracto de flores de *Tropaeolum majus* L. con actividad antibacteriana in vitro en cepas de *Streptococcus mutans*. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018.
32. Espinoza M, León-Manco R. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. Revista de estomatología Herediana. 2015;25(3):187–93.
33. Lakshmi T, Rajendran R, Krishnan V. Perspectives of oil pulling therapy in dental practice. Dent Hypotheses. 2019;4(4):131–4.
34. Alvarado C. Evaluación de la actividad inhibitoria de extractos, fracciones y subfracciones obtenidas de la planta *Isertia laevis* sobre bacterias de importancia en caries dental. Rev Fed Odontol Colomb. 2008;71(223):8–14.
35. Oakley C. Should you try oil pulling. [Internet]. WebMd. 2018 [cited 2019 Mar 12]. Available from: <http://www.webmd.com/oral-health/features/oil-pulling>

36. Ali A, Zahra A, Kamthan M, Husain F, Albalawi T, Zubair M, et al. Microbial Biofilms: Applications, Clinical Consequences, and Alternative Therapies. *Microorganisms*. 2023 Aug 1;11(8).
37. Vásquez G, Guardia G. Antibacterial Effect of Coconut Oil (*Cocos nucifera*) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175: An In vitro Study. *Int J Odontostomat*. 2021;15(4):922–7.
38. Afonso D, Sepúlveda J. Efecto del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* en la cavidad bucal en pacientes pediátricos. Revisión bibliográfica. [San Diego, Valencia-Venezuela]: Universidad José Antonio Páez; 2021.
39. Terán G. Comparación de la efectividad antimicrobiana entre el aceite esencial de canela y la clorhexidina frente *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro [Tesis]. [Ecuador, Ecuador]: Universidad Central del Ecuador; 2016.
40. Shanbhag K. Oil pulling for maintaining oral hygiene e A review. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences* [Internet]. 2017;7(1):106–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.05.004>
41. Asokan S, Emmadi P, Chamundeswari R. Effect of oil pulling on plaque induced gingivitis: A randomized, controlled, triple-blind study. *Indian J Dent Res*. 2009;20(1):47–51.
42. Tumbaco L. Efecto in vitro antimicrobiano del aceite esencial y extracto etanólico de zanahoria (*Daucus carota*) frente a *Streptococcus mutans*. Universidad Autónoma Regional de Los Andes; 2018.
43. Lastra R. Efecto antimicrobiano del *Origanum Vulgare*, *Menta Piperita*, *Cymbopogon Citratus* sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* en el Hospital Militar Central. Lima 2017. Universidad de Huáncayo; 2017.
44. Schovelin A, Muñoz M. Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (*Origanum vulgare*) sobre el Crecimiento in Vitro de *Streptococcus mutans*, 2015. *Int J Odontostomat*. 2018;12(4):337–42.
45. Rodríguez L, Pumarola J, Canalda C. Acción antimicrobiana in vitro de distintas Medicaciones sobre *Enterococcus faecalis* y *Actinomyces israelii*. *Endodoncia (Mex)* [Internet]. 2009 [cited 2024 May 2];27:7–12. Available from: <http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/65864/1/568396>
46. Bocanegra-Arista R, Millones-Gómez P. Efecto antibacteriano de la *Copaifera Officinalis* Peruana, sobre bacterias orales responsables del fracaso en tratamientos de conducto. *Medicina naturista*. 2021;15(1).

47. Ahmed S, Mostafa M, El-Malt M. Effect of Coconut Oil Pulling on Streptococcus Mutans Count in Saliva in Comparison with Chlorhexidine Mouthwash. *Al-zar Dental Journal for Girls*. 2020;7(1):7–11.
48. Peedikayil F, Sreenivasan P, Narayanan A. Effect of coconut oil in plaque related gingivitis - A preliminary report. *Nigerian Medical Journal*. 2015;56(2):143–7.
49. Pavithran V, Krishna M, Kumar V, Jaiswal A, Selvan A, Rawlani S. The effect of oil pulling with pure coconut oil on Streptococcus mutans: A randomized controlled trial. *Journal of Indian Association of Public Health Dentistry*. 2017;15(3):200–4.
50. Catalan H. Evaluar la incidencia y severidad de estomatitis protésica, así como el recuento de levaduras del género Candida, en sujetos portadores de prótesis removible en presencia de esta enfermedad oral, tratados con clorhexidina al 0,12% y aceite de coco virgen al 100% durante siete días. [Chile]: Universidad de Chile; 2023.
51. Peedikayil F, Vimal R, John S, Chandru TP, Sreenivasan P, Ahm G, et al. Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on Streptococcus mutans: An in vivo study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016;6(5):447–52.
52. Shino B, Peedikayil FC, Jaiprakash SR, Ahmed Bijapur G, Kottayi S, Jose D. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on Candida albicans Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. *Scientifica (Cairo)*. 2016;2016:7061587. doi: 10.1155/2016/7061587. Epub 2016 Mar 14. PMID: 27051559; PMCID: PMC4808662.
53. Buitrón X. Uso y comercio de plantas Medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación. *Traffic International*. 1999;95–101.
54. Reyes F, Palou E, López M. Vapores de aceites esenciales: alternativas de antimicrobianos naturales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2014;6(1):29–39.
55. Dasilva C, Restrepo F, Peralda I, Vasquez Ma, Portura M, Arango Y. Extracción de aceite de Coco (Cocos nuciferas) como estrategias de aprovechamiento de los productos locales de Mitú. *Vaupés Innova*. 2017;83–90.
56. Asokan S, Kumar. Saravana, Emmadi P, Raghuraman R, Sivakumar N. Effect of oil pulling on halitosis and microorganisms causing halitosis : A randomized controlled pilot trial. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2011;29(2):90–4.
57. Wallace T. Health Effects of Coconut Oil — A Narrative Review of Current Evidence. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 2019;38(2):97–107. Available from: <https://doi.org/10.1080/07315724.2018.1497562>

58. Peedikayil FC, Sreenivasan P, Narayanan A. Effect of coconut oil in plaque related gingivitis - A preliminary report . Nigerian Medical Journal. 2015;56(2):143-147.
59. Real A. Beneficios de la utilización del oil pulling (aceite de coco) para la reducción de placa bacteriana en los niños de sexto año de la Unidad Educativa Rosa Zárate de la comunicad de San José Puñachizac Cantón Quero. Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2017.
60. Nagilla J, Kulkarni S, Reddy P, Doshi D, Reddy S, Srilatha A. Comparative Evaluation of Antiplaque Efficacy of Coconut Oil Pulling and a Placebo , Among Dental College Students : A Randomized Controlled Trial . J Clin Diagn Res. 2017;11(9):ZC08-ZC11.
61. Silalahi J, Permata Y, Putra E. Antibacterial activity of hidrolyzed virgin coconut oil. Revista asiática de investigación farmacéutica y clínica . 2014;7(2):90–4.
62. Freires I, Silva I, Alves L, Bezerra L, Castro R. Clinical applicability of natural product (s) -containing mouthwashes as adjunctive treatment of biofilm-induced gingivitis : a systematic review. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais [Internet]. 2012 [cited 2023 Oct 19];700–11. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400019>
63. Peedikayil FC, Remy V, John S, Chandru TP, Sreenivasan P, Bijapur GA. Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on *Streptococcus mutans*: An *in vivo* study. J Int Soc Prev Community Dent. 2016 Sep-Oct;6(5):447-452. doi: 10.4103/2231-0762.192934.
64. Kaushik M, Reddy P, Sharma R, Udameshi P, Mehra N, Marwaha A. The Effect of Coconut Oil pulling on Streptococcus mutans Count in Saliva in Comparison with Chlorhexidine Mouthwash. J Contemp Dent Pract. 2016;38–41.
65. Baqer L. Antibacterial Activity Of Sesame Oil and Coconut oil against the Streptococcus Mutand and Lactobacillus species - An in vitro Study. Biochem Cell Arch. 2020;20(1):1961–4.
66. Chamorro M. Efectividad antibacteriana del extracto etanólico de Eucalyptus Globulus (eucalipto) sobre Streptococcus mutans ATCC25175. Un Estudio in vitro. [Perú]: Universidad Nacional Fedérico Villareal; 2023.
67. Ugaz A. Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto etanólico de la Passiflora Edulis sobre la cepa de Streptococcus mutans [Internet]. 2022. Available from: <https://orcid.org/0000-0003-0219-3582>

68. Gomero N. Efecto antibacteriano in vitro de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L) en aceite esencial e infusión sobre el *Streptococcus mutans*. [Perú]: Facultad de Ciencias de la Salud; 2022.
69. Vivar C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus Globulus* (Eucalipto) sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 15175, Chimbote. [Perú]: Universidad Católica Los Angeles Chimbote; 2021.
70. Marinque C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019. [Perú]: Universidad Católica de Los Ángeles Chimbote; 2022.
71. Obando R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepa de *Streptococcus mutans* sp. [Perú]: Universidad Católica de los Ángeles de Chimbote; 2018.
72. Loja M. Efecto antibacteriano in vitro de un colutorio elaborado con extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) sobre *Streptococcus mutans* Y *Enterococcus faecalis*. Universidad de Señor Sipán; 2017.
73. Aranda L. Efecto inhibitorio in vitro del aceite de “Cocos Nucifera” (Coco) sobre *Streptococcus sanguinis*. Universidad Privada Antenor Orrego; 2020.
74. Gayatri A, Fauziah E, Suharsini M. Antibacterial effect of virgin coconut oil on the viability of chromogenic bacteria that causes dental black stain in children. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2017;9(Special Issue 2):83–6.
75. Molina E. Efecto del oil pulling (aceite de coco) sobre *Streptococcus mutans* cuantificado en saliva, en comparación con la clorhexidina, al 0.12%, evaluado en los estudiantes de segundo semestre de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. [Ecuador]: Universidad Central del Ecuador; 2019.
76. Suarez G, Rey L. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cocos nucifera* frente a *Streptococcus mutans*. [San José de Cucuta]: Universidad Antonio Nariño; 2023.
77. Cabanillas L. Efecto antibacteriano de los aceites de coco y *Copaifera officinalis* (COPAIBA) Frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Trujillo- Perú]: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2019.
78. Nagase S, Matsue M, Mori Y, Honda-ogawa M, Sugitani K, Sumitomo T et al. Comparison of the antimicrobial spectrum and mechanisms of organic virgin coconut oil and lauric acid against bacteria. *Journal of wellness and health care*. 2017;41(1):87–95.

79. Machado T, Reyes B. Streptococcus mutans, principal cariogénico de la cavidad bucal. Progaleno. 2021;4:209–21.
80. Keyes P. Recent advances in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. Int Dent J. 1962;443–64.
81. Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand K. Caries Management-Science and Clinical Practice. Thieme. 2013;1(3).
82. Pitts N, Ismail A, Martignon S, Ekstrand K, Douglas G, Longbottom C. Guía ICCMSTM para clínicos y educadores. ICCMS Caries Management [Internet]. 2014; Available from: www.kcl.ac.uk/sspp/kpi/projects/healthpolicy/global-caries-management.aspx.
83. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and Caries Dental. Adv Dent Res. 2000;14(1):40–7.
84. González M, González B, González E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. Nutr Hosp. 2013;28:64–71.
85. Barroso J, Guinot F, Bellet J, Barbero V. La importancia de la dieta en la prevención de la caries. Gaceta dental. 2007 May;181:116–32.
86. Hernández E, Reyes A, García M, González A, Sada L. Hábitos de higiene bucal y caries dental en escolares de primer año de tres escuelas públicas. Rev Enferm Inst Mex Seguro Soc. 2018;26(3):179–85.
87. García-Vega L. Relación entre consumo de alimentos cariogénicos e higiene bucal con caries dental en escolares. KIRU. 2012;9(1):34–8.
88. Pérez B, Enriquez D, Perdomo C, González W, Oliveros S. Morbilidad dental en ancianos con pérdida dental por caries. MEDISAN [Internet]. 2020;24(3):381–95. Available from: <https://orcid.org/0000-0002-7660-1975>
89. Revelo J. Prevalencia de caries dental, periodontopatías y desdentamiento en adultos mayores. Centro gerontológico Picaihua, Ecuador. [Ecuador]: Universidad Regional Autónoma de los Andes “Uniandes”; 2023.
90. Pavón A, Collantes J, Rockenbach M, Cariilo K. Importancia de la educación y la economía de los padres en la caries dental en niños. Sinergia Académica [Internet]. 2022; Available from: <https://orcid.org/0000-0001-9546-6329>
91. Morón M. Los biofilms orales y sus consecuencias en la caries dental y enfermedad periodontal. Cienc Innov Salud. 2021;134:269–77.

92. Hamada S, Slade H. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological reviews*. 1980;44(2):331–84.
93. Zhang Z, Yang Y, Sun Q, Zeng W, Li Y. Inhibition of Biofilm Formation and Virulence Factors of Cariogenic Oral Pathogen *Streptococcus mutans* by Shikimic Acid. *Microbiology Spectrum*. *Microbiol Spectr*. 2022;10(4):1–15.
94. Matsumoto-Nakano M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Microbiol Spectr*. 2018;10(4):22–9.
95. Baberia E. Caries dental. Cuadros clínicos en el niño. Ripano. España: Atlas de Odontología infantil para pediatras y odontólogos; 2005.
96. Henostroza G. Diagnóstico de caries dental. In: UPCH. 2nd ed. Lima; 2005.
97. Jardines M, Cuenca K, Soto A, Pérez V, Rivalta L. Diagnóstico terapéutico para la atención de pacientes con caries dental. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2019;48(2):259–72.
98. Nuñez D, García L. Bioquímica de la caries dental. *Habana Ciencias Médica*. 2010;3(2):54–67.
99. Hernández M. Aislamiento y cuantificación de *Streptococcus mutans* en saliva en niños de la escuela primaria “Ignacio Ramírez”. México: Universidad Veracruzana, Facultad de Odontología [México]: Universidad Veracruzana; 2011.
100. Sánchez L. Manual de prácticas de laboratorio. Pruebas de identificación de factores de riesgo a caries. Primera. Universidad Autónoma Metropolitana, editor. México: Casa abierta al tiempo; 2016.
101. Zuñiga P. Evaluación de la Técnica de Cubeta como un método para el aislamiento y recuento de *Streptococcus mutans* a partir de muestras de placa dental en restauraciones de Resina Compuesta y Amalgama [Tesis]. [Santiago]: Universidad de Chile; 2010.
102. Arévalo A, Gómez P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. *Crescendo Ciencias de la salud*. 2015;2(2).
103. Silva V, Oña C, Viteri J. Efecto in vitro del aceite esencial y extracto etanólico de mandarina *Citrus Reticulata* frente a *Streptococcus mutans* [Maestría]. [Perú]: UNIANDES; 2018.

104. Gómez-Matos M, González-Pérez M, García-Hernández Y, Vicente-Murillo R, González-Canavaciolo V, Rodríguez-Martínez C. Caracterización de aceite extraído del fruto de Cocos nucifera obtenido a escala de laboratorio. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 2018;49(1):1–13.
105. Rajan P, sumathi G, Nasimuddin S. A study on in-vitro antimicrobial activity of Coconut water and coconut oil on Candida Species. *World J Pharm Sci* . 2016;4(12):266–8.
106. Waizel J. Martínez, R. Plantas empleadas en odontologías. *Rev ADM*. 2007;64(5):173–86.
107. Asokan S, Rathinasamy T, Inbamani N, Menon T, Kumar S, Emmadi P et al. Mechanism of oil-pulling therapy -In vitro study. *Indian Journal of Dental Research* [Internet]. 2011 [cited 2024 Jul 14];22(1). Available from: <https://doi.org/10.4103/0970-9290.79971>
108. Padrón A. Obtención de ácidos grasos a partir de aceite de coco, soya y canola mediante hidrólisis ácida. [México]: Instituto Politécnico Nacional; 2015.
109. Gómez Á. Grado de información y formas de consumo del aceite de coco en un grupo de runner amateurs. Universidad Fasta; 2021.
110. Shanbhag VK. Oil pulling for maintaining oral hygiene - A review. *J Tradit Complement Med*. 2017;7(1):106–9.
111. Saher F, Hosein M, Ahmed J. Role of Coconut Oil Pulling On Oral Health – An Overview. *Journal Of The Pakistan Dental Association*. 2018;27(3):94–9.
112. Naseem M, Khiyani M, Nauman H, Zafar M, Shah A, Khalil H. Oil pulling and importance of traditional medicine in oral health maintenance. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017;11(4):65–70.
113. Viarden LAB. Usos del aceite de coco en la higiene bucal. <https://viardenlab.com/mx/usos-del-aceite-de-coco-en-la-higiene-bucal/.html>. 2018.
114. Medina C, Nina N. Efectividad de uso del aceite de coco (Cocos Nucífera) en el tratamiento de la Gingivitis, en personas de 10 a 20 años de la localidad de Milpo - Pasco - Enero – Julio del 2018. [Perú]: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrion; 2018.
115. Cárdenas A. Efecto del Oil Pulling con aceite de coco virgen prensado al frio y el colutorio de bicarbonato en el PH ácido de pacientes adultos. Consulta privada. [Perú]: Universidad Católica de Santa María; 2015.

116. Prabhu R, Prabhakar R, Saravanan R, Ghiaz K, Kumar RG, Muthiah S, et al. Influence of Cocos nucifera Oil Extract on the Caries Activity of Removable Partial Denture Wearers: Thirty-six Months Follow-up. *World Journal of Dentistry*. 2022 Sep 1;13(5):449–53.
117. Das N, Addanki P. A Comparative Evaluation of Flax Seed and Coconut Oil Pulling Therapy on Plaque-Induced Gingivitis: A Preliminary Report. *Journal of Advanced Zoology* [Internet]. 2023 Oct 9;44(3):196–201. Available from: <http://jazindia.com/index.php/jaz/article/view/580>
118. Woolley J, Gibbons T, Patel K, Sacco R. The effect of oil pulling with coconut oil to improve dental hygiene and oral health: A systematic review. *Heliyon*. 2020 Aug 1;6(8).
119. Catalán H. Efecto del uso de colutorios de aceite de coco virgen y clorhexidina al 0,12% en la severidad y en el recuento de levaduras del género candida en personas mayores portadoras de prótesis removible con estomatitis protésica. [Chile]: Universidad de Chile; 2023.
120. Calle M. Pasta dental a base de aceite de coco. <https://historico.muciza.com.mx/muciza-2015/project/pasta-dental-a-base-de-aceite-de-coco/>. 2015.
121. Firdaus N, Fauziah E, Sutadi H. Antibacterial effectiveness of Virgin Coconut Oil Mousse against *Streptococcus mutans* biofilm in early childhood caries. *J Int Dent Med Res*. 2019;12(2):429–33.
122. Ramírez L, Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia Et Technical*. 2009;15(42):263–8.
123. Bayot ML, Bragg BN. Antimicrobial Susceptibility Testing. [Internet]. Treasure Island (FL). 2024 [cited 2024 Aug 5]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>
124. Hacek M, Dressel L, Peterson R. Highly Reproducible Bactericidal Activity Test Results by Using a Modified National Committee for Clinical Laboratory Standards Broth Macrodilution Technique. *J Clin Microbiol*. 1999;1881–4.
125. Andrews J. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001;48(suppl_1):5–16.
126. O'Neill A, Chopra I. Preclinical evaluation of novel antibacterial agents by microbiological and molecular techniques. *Expert Opin Investig Drugs*. 2004;13(8):1045–63.

127. Madigan M, Clark D, Stahl D, Martinko J. Brock Biology of Microorganisms. 13th ed. Pearson. Benjamin Cummings; 2010.
128. Janda J, Abbott S. 6S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol.* 2007;45(9):2761–4.
129. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ta ed. Hill MG, editor. 2014. 613 p.
130. Falcón D. Evaluación de los factores de riesgo cariogénico en niños, en diferentes etapas de la rehabilitación oral. RIUNNE. [Argentina]: Universidad Nacional del Nordeste. Secretaría General de Ciencia y Técnica; 2023.
131. Rodríguez R, Graterol Y, Zambrano Y. Prevalencia de manifestaciones bucales en niños con desnutrición internos en la Ciudad Hospitalaria “Dr. Enrique Tejera.” *ODOUS CIENTÍFICA.* 2023;24(1):15–24.
132. Cabrera D, López F, Ferrer O, Telleria A, Calá T. Factores de riesgo de caries dental en niños de la infancia temprana. Paulo VI. Venezuela 2012. *Revista Médica Electrónica.* 2018;40(4):958–67.
133. Rojas L, Berrios M, Ramírez L. Prevalencia de caries dental, frecuencia del consumo de alimentos cariogénicos y cepillado dental en niños preescolares “Centro de Educación Integral Simón Rodríguez”, El Moralito, estado Zulia. *Revista Odontológica de Los Andes.* 2020;15(2):24–35.
134. Hugues P, Kealey C, Rowan N, Brady D. Evaluation of vegetable oils and their respective fatty acids on the viability of streptococcus mutans, a persistent oral pathogen oral pathogen. *J Asian Scient Res.* 2013;3(6):670–6.
135. Owittayakul D, Khongkhunthian S, Wanachantararak P, Palee K. Effect of coconut oil on salivary total bacterial and Streptococcus mutans counts. *CM Dent J.* 2018;39(1):75–83.
136. Jauhari D, Srivastava N, Rana V, Chandna P. Comparative evaluation of the effects of fluoride mouthrinse, herbal mouthrinse and oil pulling on the caries activity and Streptococcus mutans count using Oratest and Dentocult SM Strip Mutans Kit. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2015;8(2):114–8.

APÉNDICE

Instrumento empleado para la recolección de los datos

Apéndice A: Pruebas para detectar *Streptococcus mutans*

CÓDIGO	GRAM	MORFOLOGÍA	DISPOSICIÓN	CATALASA	SUBCULTIVO

www.bdigital.ula.ve

Apéndice B: Evaluación preliminar de los aceites de coco

AISLADO	10%		25%		50%		75%	
	Placa	Placa 2	Placa	Placa 2	Placa	Placa	Placa	Placa
	1		1		1	2	1	2

www.bdigital.ula.ve

Apéndice C: Concentración Mínima Inhibitoria

Fecha del análisis: Medio de cultivo			Cepa de Estudio: Lote:				
Repetición	Aceite de coco 1		Aceite de coco 2		Aceite de coco 3		Control: Clorhexidina 0.12%
	Halo de inhibición escala de Duraffourd (mm)		Halo de inhibición escala de Duraffourd (mm)		Halo de inhibición escala de Duraffourd (mm)		Halo de inhibición escala de Duraffourd (mm)
1	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 1	Prueba 2	
2							
3							
4							
5							
6							
7							

Apéndice C: Consentimiento Informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La Cátedra de Microbiología, adscrita al Departamento de Biopatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela, está realizando una investigación titulada Actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados de escolares de 6 años, con el objeto de Evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados en escolares de 6 años. En consecuencia, se redacta el presente consentimiento informado, el cual será del conocimiento de los padres de los escolares que permitan que sus representados se sometan a la referida investigación, texto que contiene el consentimiento, el cual le será leído pormenorizadamente y, libre de coacción y

apremio, será firmado por el representante que consienta a su representado a someterse a la investigación.

Yo, _____ titular de la Cédula de Identidad: _____ de Nacionalidad **Venezolana**, mayor de edad, Estado Civil _____ y Domiciliada en: _____ y jurídicamente hábil, en USO pleno de mis facultades mentales, sin que medie coacción ni violencia alguna, y en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que más abajo se indica, mediante la presente declaro:

1.- Haber sido informada de manera objetiva, clara y sencilla, por parte del grupo de Investigadores de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología adscrita al Departamento de Biopatología de la Facultad de Odontología de la Universidad de los Andes, coordinados por la Profesora Elaysa J. Salas Osorio, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de Investigación intitulado Actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados de escolares de 6 años

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es: Evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* del aceite de coco sobre *Streptococcus mutans* aislados en escolares de 6 años.

3.- Haber sido informada de que la participación de mi representado en el proyecto consiste en permitir que el niño deposite muestra de su saliva sobre un envase estéril.

4.- Que el equipo de investigadores me ha garantizado confidencialidad relacionada con mi identidad, así como respecto de cualquier información relativa a mi y a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el estudio antes mencionado.

6.- Que estoy de acuerdo con el USO, para fines académicos, de los resultados e imágenes fotográficas obtenidos en el presente estudio, con garantía de resguardo de la identidad personal.

7.-. Que la participación de mi representado en dicho estudio no implica riesgo, ni inconveniente alguno para mi salud.

8.- Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte de los integrantes del equipo de investigadores antes mencionado, con quienes me puedo comunicar a través del teléfono 04123950379, con el investigador Kessly Delgado

9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir, algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

Representante participante	Paciente	Investigador
Nombres:		Nombres: Kessly Delgado
C.I:		C.I: V-20627110
Firma		Firma

Testigo
Nombres: Elaysa Salas Osorio
C.I: V-
Firma



DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR:

Luego de haber explicado detalladamente al paciente la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que, el sujeto que firma como paciente participante este formulario de **Consentimiento Informado** comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

La Cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología ULA

Lugar y Fecha: Mérida a los 25 días de mes de junio del 2024

www.bdigital.ula.ve