UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS APLICADAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE ODONTOLOGÍA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TRES IONÓMEROS DE VIDRIO ION
Z[®], KETAC MOLAR EASYMIX[®] Y FUJI IX GP[®] SOBRE CULTIVOS DE
Streptococcus mutans (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366)**

TESIS

Para optar el título profesional de: Cirujano Dentista

AUTOR

Gil Barreda Arlet Angelita (0000-0003-3322-2673)

García Calero Olga Beatriz (0000-0002-5446-0657)

ASESORES DE TESIS:

Del Valle Mendoza Juana Mercedes (0000-0002-6011-5040)

Flores Barrantes Lorena (0000-0001-5780-9941)

Lima, 4 de diciembre de 2018

DEDICATORIA

A nuestros padres por las oportunidades, los consejos y las palabras de motivación a lo largo de nuestra carrera.

AGRADECIMIENTOS

A nuestras asesoras Dra. Juana del Valle y Dra. Lorena Flores por su tiempo, dedicación y motivación para lograr terminar exitosamente este proyecto de investigación.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio (CIVc) Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

Materiales y métodos: El presente estudio fue experimental *in vitro*. Se realizó mediante el método de contacto directo y densidad óptica con una microplaca, donde se utilizó seis pocillos por cada ionómero de vidrio. Posteriormente, se adicionaron 150 ul de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* de manera independiente en agar BHI. Las muestras fueron incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis controlada. En el caso de la viabilidad bacteriana se utilizó el ensayo de MTT.

Resultados: Se encontró que el efecto antibacteriano de Ketac Molar Easymix[®] frente a la cepa de *S. mutans* tuvo 0.06 ± 0.01 , mientras que Ion Z[®] 0.16 ± 0.03 ante la cepa de *L. acidophilus*, presentando diferencias estadísticamente significativas. Con respecto a la viabilidad bacteriana de *S. mutans* frente al Ketac Molar Easymix[®] obtuvo 0.92 ± 0.02 , lo que corresponde a 29 % de bacterias viables, mientras que, *L. acidophilus* frente al Ion Z[®] tuvo 0.31 ± 0.16 , que representa 19% de bacterias viables.

Conclusiones: Los tres CIVs mostraron actividad antibacteriana, en el caso de Ketac Molar Easymix[®] demostró mayor efecto antibacteriano ante *S. mutans*, por otro lado, se evidenció que Ion Z[®] fue más eficaz frente *L. acidophilus*.

Palabras claves: Cemento ionómero de vidrio, viabilidad bacteriana, MTT formazán, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*.

Antibacterial activity of three glass ionomer cements Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] against *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) and *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366)

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial activity of three glass ionomers cements (Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] and Fuji IX GP[®]) on *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) and *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

Materials and methods: The present study was experimental in vitro. It was made out using the direct contact method and optical density with a microplate, using six wells for each glass ionomer cement. Later, 150 ul of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* were independently added on BHI agar. The samples were incubated at 37 °C under conditions of controlled anaerobiosis. In the case of bacterial viability, the MTT assay was used.

Results: It was found that the antibacterial effect of Ketac Molar Easymix[®] against the strain of *Streptococcus mutans* had 0.06 ± 0.01 , while in Z[®] it was 0.16 ± 0.03 before the strain of *Lactobacillus acidophilus*, presenting statistically significant differences. Regarding the bacterial viability of *Streptococcus mutans* against Ketac Molar Easymix[®] obtained 0.92 ± 0.02 , what corresponds to 29% of viable bacteria, whereas *Lactobacillus acidophilus* against Ion Z[®] had 0.31 ± 16 , which represents 19% of viable bacteria.

Conclusions: The three glass ionomers cements showed antibacterial activity. Ketac Molar Easymix[®] demonstrated greater antibacterial effect against *Streptococcus mutans*; on the other hand, it was evidenced that Ion Z[®] was more effective against *Lactobacillus acidophilus*.

Keywords: Glass ionomer cements, bacterial viability, MTT formazan, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
2.1. Justificación	4
CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS.....	6
4.1 Objetivo general.....	6
4.2 Objetivos específicos	6
CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
5.1 Diseño del estudio.....	7
5.2 Grupo experimental	7
5.3 Operacionalización de variables	9
5.4 Técnicas y procedimientos.....	10
5.5 Plan de análisis.....	12
5.6 Consideraciones éticas	12
CAPÍTULO 6. RESULTADOS	13
CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN.....	17
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES.....	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	
ANEXOS.....	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Determinación y comparación del efecto antibacteriano de tres ionómeros de vidrio Ion Z [®] , Ketac Molar Easymix [®] y Fuji IX GP [®] sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35668) y <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4366)	14
Tabla 2 Determinación y comparación de la viabilidad bacteriana de cepas <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35668) y <i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4366) frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z [®] , Ketac Molar Easymix [®] y Fuji IX GP [®]	155

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Determinación y comparación de viabilidad bacteriana de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35668) y <i>Lactobacillus acidophilus</i> frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z [®] , Ketac Molar Easymix [®] y Fuji IX GP [®]	166
---	-----

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En la cavidad oral habitan millones de microorganismos, entre ellos algunos que son responsables del desarrollo de caries dental. Se sabe que uno de los primeros en colonizar la boca de un recién nacido es el *Streptococcus salivarius* y el primero en adherirse a la superficie dental es el *Streptococcus viridans*; mientras que cuando empieza la erupción de las primeras molares permanentes el *Lactobacillus spp.* es el primero en comenzar a adherirse. ⁽¹⁾

Costalonga en un estudio realizado en el 2014, demostró que la caries dental es más compleja y ambigua de lo que se creía, ya que al comparar los resultados de niños con lesiones cariosas activas con los del grupo de niños libres de caries, estos mostraron que los niños con lesiones cariosas activas tenían mayor presencia de *Streptococcus mutans*, seguido de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mitis*.⁽²⁾ Estos hallazgos muestran que el *Streptococcus mutans* no es el único patógeno responsable de esta enfermedad, sino que esta patología se debe a la interacción colectiva en un microbioma.^(1,2) Por otro lado, tenemos a un grupo muy importante de bacterias como los *Lactobacillus*, que son agentes cariogénicos. De estos el más representativo es el *Lactobacillus acidophilus*, que habita en las lesiones cariosas profundas y a su vez es el responsable de la caries secundaria.^(1,3) Cabe mencionar que la progresión de caries secundaria suele ser rápida si hay factores favorables para la proliferación de microorganismos. ⁽⁴⁾

La odontología moderna está enfocada en la prevención y rehabilitación de la cavidad oral, y en odontopediatría el material de primera elección son los cementos ionómeros de vidrio. Estos materiales se destacan por sus diversas propiedades, como biocompatibilidad, el coeficiente de expansión térmica, la acción bacteriostática y bactericida, la adherencia al esmalte y dentina, y la poca solubilidad ante la saliva.^(3,5)

Los cementos ionómero de vidrio (CIVc) se usan en la odontología preventiva y restauradora. Estos se clasifican de acuerdo a la indicación clínica: los tipo I son cementos

de fijación, los tipo II se usan para restauraciones estéticas, los tipo III, son cementos y selladores de fisuras de revestimiento y los de tipo IV, indicados para reconstrucción de muñones.⁽⁶⁾ Los cementos tipo II se dividen en dos tipos: los tipo II-1 se encuentran disponibles tanto en su forma convencional como modificados con resina, y los tipo II-2 son reforzados y más resistentes al desgaste.⁽⁷⁾ Otra clasificación es de acuerdo al mecanismo de polimerización, que puede ser autocurado o fotocurado.⁽⁶⁾ Respecto de la composición química, contiene una parte de polvo compuesto por vidrio de aluminio y sílice, y la porción líquida es una solución acuosa de ácido poliacrílico, ácido carboxílico, ácido acrílico, ácido itacónico, ácido tartárico y agua; siendo el ácido tartárico responsable de prolongar el tiempo de trabajo.^(7,8,9,10,11,12)

El estudio busca investigar los ionómeros de vidrio convencionales, dentro de ellos tenemos a Ion Z[®] que es un material ionomérico con adición de zinc (FGM Productos Odontológicos). Según su ficha técnica, las propiedades más resaltantes son la elevada capacidad bactericida, una alta lisura superficial y un buen sellado marginal. Además está indicado para la Técnica Restaurativa Atraumática (TRA), en restauraciones de dientes deciduos, en lesiones cervicales, como restauración provisional en todas las clases, y como base en la técnica “*sandwich*”.⁽¹⁰⁾ El Ketac Molar Easymix[®] asimismo, está indicado para restauraciones de dientes temporales, también usado en TRA. Según su ficha técnica es de fácil mezclado por su humectación mejorada y el polvo granular que fluye para obtener proporciones más precisas, lo que deriva en una fácil manipulación.⁽¹¹⁾ Por último, el cemento ionómero de vidrio Fuji IX GP[®] es un material de la casa dental GC EUROPE (GC); cuenta con características similares a los dos ionómeros previamente descritos, destacando que tiene propiedades antibacterianas.⁽¹²⁾ Cabe resaltar, que el efecto antibacteriano de una sustancia o producto hace referencia a la inhibición del crecimiento de un microorganismo específico; esto se entiende como efecto bacteriostático. Sin embargo, si el producto produce la muerte de la bacteria, se demuestra que tiene un efecto bactericida.⁽¹³⁾

Por lo cual, se usan pruebas como el ensayo de MTT, un método colorimétrico que se realiza para determinar la viabilidad bacteriana mediante la reducción de sales de tetrazolio para establecer su función, observando un cambio de color y obteniendo

formazan, donde la célula procariota queda atrapada, disminuyendo la velocidad de reacción.^(14,15,16)

Se han realizado estudios para comprobar la actividad antibacteriana de los distintos ionómeros de vidrio frente a diversos microorganismos.^(17,18,19) Además, existen estudios sobre la influencia y capacidad antibacteriana de las restauraciones ionoméricas sobre el *Streptococcus mutans*.^(4,20,22,23,24,26,33) En la actualidad contamos con diferentes ionómeros de vidrio, en el caso de Ion Z[®] los estudios son limitados, por ser un producto con poco tiempo en el mercado odontológico, su particularidad de agregados de nanopartículas de zinc en su composición potenciarían el efecto antibacteriano, por lo expuesto nace la idea del presente estudio. Por consiguiente, el objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio: Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Justificación

Los ionómeros de vidrio son los cementos de primera elección en odontopediatría por las siguientes propiedades: biocompatibilidad, el coeficiente de expansión térmica, acción bacteriostática y bactericida, adherencia al esmalte y dentina, y la poca solubilidad ante la saliva. El propósito del presente estudio es evaluar la actividad antibacteriana de los ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®], lo cual generará un nuevo conocimiento en el ámbito odontológico. El CIVc Ion Z[®] es nuevo en la industria y su ficha técnica indica que tienen un compuesto adicional que potencia la actividad antibacteriana.

Las investigaciones del zinc en cementos de ionómeros de vidrio son escasos, pero se sabe que este elemento tiene la propiedad de ser biocompatible y no tóxico en cantidades mínimas. Se ha observado que proporciones de nanopartículas que oscilan entre 0.02 % y 10% potencian la actividad antibacteriana sin alterar las propiedades físicas y mecánicas de los materiales de restauración.^(20,21) Con respecto al Ion Z[®], es un cemento de ionómero de vidrio con partículas de zinc en su composición; tiene dos años en el mercado odontológico y su ingreso parece ser prometedor, ya que aumentaría la capacidad antibacteriana, disminuyendo la persistencia de caries secundaria.

CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS

El ionómero de restauración Ion Z[®] tiene mayor actividad antibacteriana en comparación que el Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®].

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio (Ion Z[®], Ketac Molar[®] y Fuji IX GP[®]) sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar el efecto antibacteriano de tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366)
2. Comparar el efecto antibacteriano de tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] contra las cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
3. Determinar la viabilidad bacteriana de la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y de los *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®].
4. Comparar la viabilidad bacteriana de cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®].

CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño del estudio

El estudio es experimental *in vitro*.

5.2 Grupo experimental

La unidad de análisis estuvo constituida por un pocillo en microplacas con cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366), y tres ionómeros de vidrio: Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®]. El efecto antibacteriano se midió mediante la técnica de contacto directo y densidad óptica, y la viabilidad bacteriana mediante el ensayo de MTT. El tamaño muestral se determinó mediante la fórmula de comparación de medias con un nivel de confianza al 95% y potencia al 80%. Se emplearon los datos de una prueba piloto teniendo como promedio y desviación estándar de los resultados de los ionómeros Ion Z[®] (0.16 ± 0.03) y Fuji IX GP[®] (0.48 ± 0.08). Los análisis estadísticos fueron realizados en el software estadístico Epidat 4.2 (Anexo 1). La distribución de los grupos se realizó de esta forma:

- 6 pocillos con el ionómero de restauración Ion Z[®] sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).
- 6 pocillos con el ionómero de restauración Ion Z[®] sobre *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
- 6 pocillos con el ionómero de restauración Ketac Molar Easymix[®] sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).
- 6 pocillos con el ionómero de restauración Ketac Molar Easymix[®] sobre *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
- 6 pocillos con el ionómero de restauración Fuji IX GP[®] sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).
- 6 pocillos con el ionómero de restauración Fuji IX GP[®] sobre *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

- 6 pocillos de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) más el medio de cultivo como grupo positivo.
- 6 pocillos de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) más el medio de cultivo como grupo positivo.

Criterios de inclusión

- Pocillos que contengan el ionómero de restauración Ion Z[®].
- Pocillos que contengan el ionómero de restauración Ketac Molar Easymix[®].
- Pocillos que contengan el ionómero de restauración Fuji IX GP[®].
- Agar BHI que contengan el *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).
- Agar BHI que contengan el *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

5.3 Operacionalización de variables

VARIABLES		DEFINICIÓN OPERATIVA	INDICADORES	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN	VALORES
Ionómeros de vidrio		Material restaurador compuesto de una reacción de endurecimiento entre un polvo de vidrio y un ácido	Marca comercial	Cualitativo	Nominal	a) Ion Z® b) Ketac Molar Easymix® c) Fuji IX GP®
Actividad Antibacteriana	Efecto Antibacteriano	Capacidad de un producto de inhibir el crecimiento de un microorganismo (Bacteriostático)	Método de contacto directo	Cuantitativo	De razón	Densidad bacteriana (D.O.)
	Viabilidad Bacteriana	Analiza la actividad metabólica celular. Capaz de producir la muerte de la bacteria. (Bactericida)	Reducción metabólica de MTT	Cuantitativo	De razón	Porcentaje de bacterias viables (D.O.)

5.4 Técnicas y procedimientos

Lugar de estudio

Las pruebas microbiológicas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bioquímica, Biología Molecular y Microbiología del Instituto de Investigación de Nutricional (IIN) - Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC).

Cultivos de las cepas bacterianas

Se adquirieron las cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) del laboratorio comercial Gen Lab del Perú S.A.C. Las cepas se cultivaron según las indicaciones del fabricante.

Una vez que se observó crecimiento bacteriano en las placas de Brain Heart Infusion (BHI) se procedió a realizar el cultivo en medio líquido, para lo cual dos colonias del cultivo previo fueron sumergidas en 3 ml de BHI líquido; las muestras fueron agitadas con ayuda de un vórtex durante un minuto y posteriormente incubadas a 37 °C con anaerobiosis controlada durante siete días para el caso de *Streptococcus mutans* y durante 48 horas para el caso de *Lactobacillus acidophilus*.

Preparación de ionómeros

Los ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] se prepararon bajo las instrucciones de la ficha técnica del fabricante.

La proporción determinada es de uno de polvo y uno de líquido. Se dispensan dos porciones del ionómero y dos gotas de líquido sobre el bloque de mezcla (incluidos en el kit). El proceso se realizó con ayuda de una espátula GC, hasta obtener una masa homogénea sin presencia de grumos y burbujas; el tiempo de mezcla promedio fue de 25 segundos. Posteriormente, se procedió a cargar la jeringa Centrix[®] con el preparado de ionómero y se adicionó la mezcla a los pocillos de la microplaca hasta que permitiera cubrir la base de los pocillos. Se prepararon seis pocillos de cada ionómero para *Streptococcus mutans* y seis pocillos para *Lactobacillus acidophilus*.

El tiempo de solidificación de cada ionómero fue de cinco minutos y posterior a esto se realizó el ensayo de actividad antibacteriana.

Evaluación del efecto antibacteriano

Los casos de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) se evaluaron mediante el método de contacto directo, para lo cual se utilizó una microplaca de 96 pocillos y a cada pocillo se le adicionó un preparado de Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX[®]; se realizaron seis repeticiones en cada caso. Cabe mencionar, que el control positivo estuvo compuesto por los microorganismos diluídos en agar BHI. Posteriormente se adicionaron 150 ul de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* de manera independiente en una escala de McFarland de 0.5. Para el caso de *Streptococcus mutans* las muestras fueron incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis controlada durante cinco días, en tanto que en el caso de *Lactobacillus acidophilus* las muestras fueron incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis controlada durante 48 horas. Transcurrido ese tiempo se colectó el sobrenadante y se transfirió a una placa de 96 pocillos; con ayuda de un lector de Elisa se procedió a leer la densidad óptica a 570 nm, resultado que nos permite determinar el efecto antibacteriano.

Viabilidad bacteriana mediante técnica MTT

Se evaluó la viabilidad bacteriana de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) mediante método colorimétrico 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 -diphenyl tetrazolium bromide (MTT), el cual consiste en la reducción del MTT ⁽²²⁾, donde se utilizó una microplaca de 96 pocillos y a cada pocillo se le adicionó un preparado de Ion Z[®] Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®]. Se realizaron seis repeticiones en cada caso. Posteriormente, se adicionaron 150 ul del cultivo líquido de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* de manera independiente en una escala de McFarland de 0.5. Para el caso de *Streptococcus mutans* las muestras fueron incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis controlada durante cinco días, y en el caso de *Lactobacillus acidophilus* las muestras fueron incubadas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis controlada durante 48 horas. Transcurrido el tiempo se colectó el sobrenadante que contenía a las bacterias a una microplaca de 96 pocillos y se le adicionó 20 ul de solución MTT (3 mg/ml).

Las muestras fueron incubadas durante dos horas hasta observar viraje de color, posteriormente se adicionaron 50 ul de DMSO para solubilizar los cristales de formazan.

Con un lector de Elisa se procedió a leer la densidad óptica a 570 nm, este resultado nos permitió determinar la viabilidad bacteriana.

5.5 Plan de análisis

Para el análisis univariado se procedió a obtener la estadística descriptiva de las variables de estudio, las medidas de tendencia central como promedio y mediana; la desviación estándar, mínimo y máximo como medida de dispersión. Para el análisis de los datos se realizó la prueba Kruskal Wallis para el efecto antibacteriano y viabilidad bacteriana de los tres ionómeros ante las bacterias anteriormente mencionadas; se consideró una prueba post-hoc para determinar si hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los tres ionómeros de vidrio.

La base de datos se elaboró en el programa Microsoft Excel y los resultados fueron analizados con el software estadístico STATA versión 15.0.

5.6 Consideraciones éticas

El presente estudio buscó comparar la actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio (Ion Z[®], Ketac Molar[®] y Fuji IX GP[®]) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366). No se trabajó con muestras de seres humanos, el estudio fue realizado bajo condiciones de laboratorio por lo que no presentó riesgo alguno.

Asimismo, tanto los autores como los asesores declaramos no tener ningún vínculo con las marcas comerciales presentadas en el proyecto. Se elevó una solicitud al Comité de Ética de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas para la autorización de la ejecución del proyecto CEI/176-20-18 (Anexo 2).

CAPÍTULO 6. RESULTADOS

La tabla 1 muestra los resultados del efecto antibacteriano de tres ionómeros de vidrio evaluados sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus*. En el caso de *S. mutans*, el grupo Ion Z[®] presentó una media de 0.09 ± 0.01 , el ionómero de vidrio Ketac Molar Easymix[®] de 0.06 ± 0.01 y el grupo de Fuji IX GP[®] de 0.08 ± 0.03 . Asimismo, se muestran los resultados del efecto antibacteriano frente a la cepa de *L. acidophilus* (ATCC 4366), observándose que el Ion Z, Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] muestran una media de 0.16 ± 0.03 , 0.48 ± 0.12 y 0.45 ± 0.08 respectivamente. Al comparar el efecto antibacteriano de los diferentes grupos para ambas cepas se observan diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p < 0.001$.

Asimismo, se muestran los resultados de la viabilidad bacteriana de las cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366). En el caso de *S. mutans*, el grupo Ketac Molar Easymix[®] presentó una media de 0.09 ± 0.02 , lo que representa un 29% de viabilidad bacteriana con respecto al grupo control (0.31 ± 0.18). En el caso del Ion Z[®] y Fuji IX GP[®] tenemos una media de 0.13 y 0.14 ± 0.05 , lo que representa una viabilidad bacteriana de 42% y 46% respectivamente al grupo de control. Finalmente, al comparar la viabilidad bacteriana de los tres ionómeros de vidrio se encontraron diferencias estadísticamente significativas, obteniendo un valor $p < 0.01$.
(Tabla 2) (Gráfico 1)

En cuanto a la viabilidad bacteriana de la cepa *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366), se observó que el Ion Z[®] muestra una media de 0.31 ± 0.16 , que corresponde al 19% de viabilidad bacteriana con respecto al grupo de control (1.63 ± 0.07). En tanto, Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] obtuvieron una media de 1.62 ± 0.15 y 1.60 ± 0.09 , lo que representa una viabilidad bacteriana de 99.98% y 98.15% con respecto al grupo de control. Al realizar la comparación de la viabilidad de todos los grupos frente a este microorganismo se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.003$).
(Tabla 2) (Gráfico 1)

Tabla 1

Determinación y comparación del efecto antibacteriano de tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®] sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 35668) y Lactobacillus acidophilus (ATCC 4366)

Bacterias	Grupo/D.O.	Media	Mediana	D.E	Mínimo	Máximo	p*
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35668)	Ion Z[®]	0.09 ^a	0.09	0.01	0.08	0.11	<0.001
	Ketac						
	Molar	0.06 ^b	0.06	0.01	0.06	0.08	
	Easymix[®]						
	Fuji IX GP[®]	0.08 ^{ab}	0.09	0.03	0.04	0.12	
	Control positivo	0.22 ^c	0.22	0.06	0.16	0.27	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4366)	Ion Z[®]	0.16 ^a	0.15	0.03	0.13	0.21	<0.001
	Ketac						
	Molar	0.48 ^b	0.51	0.12	0.25	0.59	
	Easymix[®]						
	Fuji IX GP[®]	0.45 ^{cb}	0.45	0.08	0.32	0.55	
	Control positivo	0.81 ^d	0.83	0.05	0.74	0.85	

*Prueba de Kruskal Wallis

^{a,b,c,d} Las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones por cada microorganismo.

**Los valores han sido determinados mediante densidad óptica (D.O)

Tabla 2

Determinación y comparación de la viabilidad bacteriana de cepas Streptococcus mutans (ATCC 35668) y Lactobacillus acidophilus (ATCC 4366) frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z[®], Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®]

Bacteria	Grupo/D.O.	Media	Mediana	D.E	Mínimo	Máximo	p*
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35668)	Ion Z[®]	0.13 ^a	0.11	0.05	0.08	0.22	<0.001
	Ketac Molar	0.09 ^{ab}	0.08	0.02	0.02	0.12	
	Easymix[®]						
	Fuji IX GP[®]	0.14 ^a	0.15	0.05	0.04	0.19	
	Control positivo	0.31 ^{ca}	0.31	0.18	0.15	0.48	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4366)	Ion Z[®]	0.31 ^a	0.26	0.16	0.17	0.62	<0.003
	Ketac Molar	1.62 ^b	1.67	0.15	1.31	1.72	
	Easymix[®]						
	Fuji IX GP[®]	1.60 ^{cb}	1.62	0.09	1.42	1.68	
	Control positivo	1.63 ^{db}	1.65	0.07	1.55	1.69	

*Prueba de Kruskal Wallis

^{a,b,c,d} Las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones por cada microorganismo.

**Los valores han sido determinados mediante densidad óptica (D.O)

FIGURA 1. Determinación y comparación de viabilidad bacteriana de la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* frente a tres ionómeros de vidrio Ion Z®, Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP®

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN

El propósito del estudio fue evaluar el ionómero de vidrio Ion Z[®], por su actividad antibacteriana, debido a la incorporación de nanopartículas de zinc, produciendo mayor actividad antibacteriana en comparación a sus similares, como Ketac Molar Easymix[®] y Fuji IX GP[®], frente a cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).

Se entiende que existe una amplia variedad de microorganismos en la cavidad oral, por lo cual se decidió estudiar la actividad antibacteriana de los más relacionados a la formación de la caries dental. En el estudio de Kanasi et al., sobre el marcador de riesgo microbiano de caries infantil se concluye en que *S. mutans* y especies de *Lactobacillus* están presentes en caries de aparición temprana (CAT).⁽²³⁾ Investigaciones previas han realizado pruebas microbiológicas para determinar el efecto antibacteriano de los CIVc frente a diversos microorganismos usando métodos como difusión en agar, contacto directo y densidad óptica, y en algunos casos por microscopio electrónico de barrido (MEB). En el estudio de Vamsi et al. se evaluó la actividad antibacteriana de un CIVc mediante la prueba de difusión agar frente a *L. casei* y *Actinomyces viscosus*.⁽²⁴⁾ Asimismo, Naik et al. demostraron el efecto antimicrobiano de tres ionómeros de vidrio (Fuji IX, Ketac Molar y d-tech) por medio de difusión de agar frente a cepas *S. mutans* y *L. acidophilus*.⁽⁴⁾ Por otra parte, Luczaj et al. determinaron la actividad en cuatro IV (Fuji triage, Fuji IX, Ketac Molar y Ketac Silver) frente a cepas de *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *L. casei* mediante difusión en agar.⁽²⁵⁾ Mientras que, Feroz et al. evaluó y comparó la actividad antibacteriana de seis tipos de cementos contra *S. mutans* y *L. acidophilus* utilizando el método de difusión de agar, contacto directo y densidad óptica.⁽²⁶⁾ Luego, García et al. evidenciaron la actividad antibacteriana Fuji II y Fuji LC de *S. mutans* mediante el método de MEB.⁽²⁰⁾ En la presente investigación se realizó por medio de densidad óptica y fue medido por un lector de microplacas Elisa. Se optó por este método dado que en pruebas preliminares se pudo disminuir el riesgo de contaminación de la muestra; a su vez disminuyó el margen de error e incluso se logró mayor tiempo de trabajo y ahorro de material. Concordando con el estudio de Feroz que hace referencia que el método de difusión de agar puede verse afectada por la magnitud

del área de contacto entre el agar y el material, la tasa de difusión y el poder antibacteriano heredado.⁽²⁶⁾

En cuanto al efecto antibacteriano, Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP® demostraron ser eficaces frente al *S. mutans*; estos resultados coinciden con el estudio realizado por León, ya que el Ketac Molar® fue el que tuvo mayor efecto antibacteriano frente a la cepa *S. mutans*.⁽²⁷⁾ Por otro lado, estos resultados difieren del estudio de Naik, ya que el Ketac Molar® tuvo un poder antibacteriano relativamente bajo, con un menor halo de inhibición frente a las cepas *S. mutans* y *L. acidophilus*⁽⁴⁾. Cabe resaltar que los estudios fueron realizados con diferentes metodologías.

El efecto antibacteriano del Ion Z® inhibió el crecimiento de ambos microorganismos, con mayor efecto en el *L. acidophilus*. Según el estudio de Aydin, en el 2010, menciona que las nanopartículas más pequeñas de óxido de zinc serían más eficaces que las grandes, teniendo mayor efecto antibacteriano frente a bacterias gram positivas y gram negativas, también agrega que las nanopartículas de óxido de zinc al 10% disminuye la formación de biofilm.⁽²¹⁾ Además, en el estudio de Izaguirre refiere que el zinc participa en la inhibición del crecimiento y glucólisis de *S. mutans*.⁽³⁴⁾ Se han reportado estudios previos como el de García et al. Donde se evaluó la actividad antibacteriana del *S. mutans* contra dos ionómeros de vidrio (Fuji II® y Fuji II LC®) modificados con la incorporación nanopartículas de óxido de zinc en concentraciones de 1% y 2%, sin encontrar efecto antibacteriano. Sin embargo, Kasraei et al. refieren que el aumento de nanopartículas de óxido zinc en los cementos ionómeros de vidrio podría proporcionar mayor efecto antibacteriano.⁽²⁸⁾ En concentraciones de 0.02% a 5% el efecto bacteriostático aumentaría sin modificar las propiedades mecánicas y físicas de los materiales de restauración.⁽²⁹⁾ De este modo, el efecto bacteriostático del Ion Z® se debe a su composición de polvo que contiene ingredientes inactivos que incluyen zinc, por lo tanto, se puede deducir que su concentración sería mayor a 2%, ya que este demostró ser más bacteriostático frente a la cepa de *L. acidophilus* a comparación con *S. mutans*.

En cuanto a la viabilidad bacteriana de *Streptococcus mutans*, el grupo del Ketac Molar Easymix® mostró una viabilidad de 29%, obteniendo una muerte bacteriana al 71%. Esto concuerda con el estudio de León, siendo el *Streptococcus mutans* viable frente al Ketac Molar®.⁽²⁷⁾ En cuanto al *Lactobacillus acidophilus*, el Ion Z® demostró una viabilidad

bacteriana de 19%, es decir que es altamente bactericida en un 81% . Esto concuerda con el estudio de Vimbela, reafirmando que los nanomateriales de zinc están siendo muy usados por sus excelentes cualidades antibacterianas.^(30,31)

Las limitaciones del estudio en cuanto a recolección bacterias pueden variar, debido a que fueron obtenidas por medio de líneas celulares, esto indica que cumplen con indicadores de calidad; mientras que, en un estudio *in vivo* no se puede controlar las condiciones y al obtener bacterias por toma de muestra los resultados probablemente serían diferentes.

Los estudios acerca del Ion Z[®] son escasos; en esta investigación se realizó con el microorganismo más frecuente en caries dental y el responsable de la caries secundaria, ambos jugando un papel fundamental en la aparición de CAT. Sería oportuno someterlo frente a otras cepas mediante diferentes métodos de evaluación antibacteriana, así como promover una línea de investigación enfocada en mejorar las propiedades antibacterianas de CIVc.

Dentro de la importancia clínica, el Ion Z[®] parece tomar un papel fundamental, por ser el único CIVc con agregados de zinc. Como se sabe, en la práctica diaria es frecuente el fracaso de las restauraciones por persistencia de caries secundaria después de un tiempo de realizado el tratamiento.⁽³²⁾ Se podría pensar que el usar este ionómero en el campo clínico las restauraciones tendrían mayor éxito, ya que tiene un efecto bacteriostático frente al precursor de este tipo de caries.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

1. Se determinó el efecto antibacteriano de los tres ionómeros de vidrio. Al compararlos el Ketac Molar Easymix® demostró ser más eficaz teniendo mayor efecto antibacteriano frente a la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 35668). En cuanto al Ion Z® demostró ser más eficaz teniendo mayor efecto antibacteriano frente a la cepa *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
2. Al comparar el efecto antibacteriano de los tres ionómeros de vidrio se evidenció que Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP® ser más bacteriostático frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 35668). Mientras que, Ion Z® fue más bacteriostático frente a *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366).
3. Se determinó la viabilidad bacteriana de dos cepas bacterianas. En cuanto al *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) demostró tener menor porcentaje de bacterias viables frente al Ketac Molar Easymix®, y en el caso de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) demostró tener menor porcentaje de bacterias viables frente el ionómero de vidrio Ion Z®.
4. Al comparar la viabilidad bacteriana de ambos microorganismos se evidenció que *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) fue viable en 29% frente a Ketac Molar Easymix®. Mientras que ante, *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4366) fue 19% frente a Ion Z®.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dimkov A, Gjorgievska E, Nicholson JW, Kaftandzieva A. Antibacterial effects of conventional glass ionomer cement. *Bratisl Lek Listy* ,2016;117 (1): 31-35.
2. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett* ,2014;162 (2): 22-38.
3. Mo S.S., Bao W., Lai G.Y., Wang J., Li M.Y. The microfloral analysis of secondary caries biofilm around Class I and Class II composite and amalgam fillings. *BMC Infect. Dis.* 2010(10):241.
4. Naik RG, Dodamani AS, Khairnar MR, Jadhav HC, Deshmukh MA. Comparative assessment of antibacterial activity of different glass ionomer cements on cariogenic bacteria. *Restor Dent Endod* ,2016; 41 (4): 278-282.
5. Almuhaiza M. Glass-ionomer cements in restorative dentistry: a critical appraisal. *J Contemp Dent Pract* 2016; 17 (4): 331-336.
6. Echeverri CA. Ionómeros de vidrio: Utilidad en Odontopediatría. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* , 2016; 6 (1).
7. Sharanbir S, Nicholson J.A Review of Glass-Ionomer Cements for Clinical Dentistry. *J. Funct. Biomater.* 2016;7(16):1-15.
8. Nicholson J. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials.* 1998;19(6), 485–494.
9. Sánchez E, Castillo S, García P. Actividad antimicrobiana. En Rivas C. Oranday M, Verde M. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica.* Barcelona, España: OmniaScience. ; 2016.p.77-100.
10. fgm.ind.br: Ion Z [Internet]. Joinville: FGM Productos Odontológicos;[citado el 9 de Noviembre del 2018]. Disponible en: <http://www.fgm.ind.br/site/produtos/estetica-es/ion-z/?lang=es>
11. 3m.com.pe: 3M™ Ketac™ Molar Easymix [Internet]. Lima: 3M Perú;[citado el 9 de Noviembre del 2018]. Disponible en: <http://multimedia.3m.com/mws/media/281923O/ketac-molar-info-tecnica.PDF>

12. gceurope.com: Fuji IX GP Restaurador de ionómero de vidrio condensable [Internet]. Leuven: GC EUROPE;[citado el 9 de Noviembre del 2018].Disponible n:http://www.gcamerica.com/products/operator/GC_Fuji_IX_GP/FujiIXGP_IF_U_MiniPak.pdf
13. Kabil NS, Badran AS, Wassel MO. Effect of the addition of chlorhexidine and miswak extract on the clinical performance and antibacterial properties of conventional glass ionomer: an in vivo study. *Int J Paediatr Dent* 2017; 27 (5): 380-387.
14. Medina-Flores D, Ulloa-Urizar G, Camere-Colarossi R, Caballero-Garcia S, Mayta-Tovalino F, del Valle-Mendoza J. Antibacterial activity of Bixa orellana L.(achiote) against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016;6(5):400-403.
15. Escobar L, Rivera, Aristizábal F.Estudio comparativo de los métodos de resazurina y MTT en estudios de citotoxicidad en líneas celulares tumorales humanas. *Vitae*. 2010; 17(1): 67-74.
16. Grela E, Kozłowski J, Grabowiecka A. Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. *Acta Histochem*. 2018;120(4):303-311.
17. Lacerda-Santos R, de Moraes Sampaio, Geisa Aiane, de Fátima Liberato de Moura, Mirella, de Carvalho FG, dos Santos A, Melo Pithon M, et al. Effect of Different Concentrations of Chlorhexidine in Glass-ionomer Cements on In Vivo Biocompatibility. *J Adhes Dent* 2016; 18 (4).
18. Fúcio S, De Paula A, Sardi J, Duque D. Correr L, Puppim-R. *Streptococcus Mutans* Biofilm Influences on the Antimicrobial Properties of Glass Ionomer Cements. *Braz Dent J* (2016) 27 (6): 681-687.
19. Pankey G, Sabath L. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*; 2004 Mar; 38(6), 864–870.
20. Garcia, Patrícia Petromilli Nordi Sasso, Cardia MFB, Francisconi RS, Dovigo LN, Spolidório DMP, de Souza Rastelli, Alessandra Nara, et al. Antibacterial

- activity of glass ionomer cement modified by zinc oxide nanoparticles. *Microsc Res Tech.* 2017; 80 (5): 456-461.
21. Aydin Sevinç B, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J. of Biomed Mater Res B: Appl Biomater.* 2010;94(1):22-31.
 22. Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. Document M07-A9 (9th ed.), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne (2012)
 23. Kanasi E, Johansson I, Lu SC, Kressin NR, Nunn ME, Kent Jr R, et al. Microbial risk markers for childhood caries in pediatricians' offices. *J Dent Res* 2010;89(4):378-383.
 24. Vamsi K, Siddiqui F. Antimicrobial Effect of an Experimental Glass Ionomer Cement against Pathogens associated with Deep Carious Lesions. *J Contemp Dent Pract* 2018 Jul 1;19(7):824-829.
 25. Łuczaj-Cepowicz E, Marczuk-Kolada G, Zalewska A, Pawińska M, Leszczyńska K. Antibacterial activity of selected glass ionomer cements. *Postepy Hig Med Dosw* 2014;68
 26. Feroz S, Bhoyar A, Khan S. Comparative Evaluation of Antibacterial Effect of Dental Luting Cements on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An In vitro Study. *J Contemp Dent Pract* 2016 Dec 1;17(12):973-977.
 27. Leon-Rios XA, Flores-Barrantes L, Yovera J. Comparación de la actividad antibacteriana de tres ionómeros de restauración. *RODYB* .Septiembre - Diciembre 2018;7(3):12-7.
 28. Kasraei S, Sami L, Hendi S, AliKhani M, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod* 2014;39(2):109-114.
 29. Beyth, N, Yudovin I, Perez M, Domb J, Weiss E .Poliethyleneimine nanoparticles incorporated into resin composite cause cell death and trigger biofilm stress in vivo. *Proceedings of Natural Academic Sciences USA.* 2010 ;107(51):22038-43.

30. Vimbela GV, Ngo SM, Frazee C, Yang L, Stout DA. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *Int J Nanomedicine* 2017 May 24;12:3941-3965.
31. Hu H, Zhang W, Qiao Y, Jiang X, Liu X, Ding C. Antibacterial activity and increased bone marrow stem cell functions of Zn-incorporated TiO₂ coatings on titanium. *Acta biomaterialia* 2012;8(2):904-915.
32. Restorations in primary teeth: a systematic review on survival and reasons for failures. *Int J Paediatr Dent* 2018; 28: 123-139
33. Paiva L, Fidalgo T, Da Costa L, Maia L, Balan L, Anselme K, Ploux L, Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *J. Dent.* 2018;69:102-9
34. Izaguirre E, Eisenberg A, Curzon M. Interactions of Zinc with Fluoride on Growth, Glycolysis and Survival of *Streptococcus mutans* GS-5. *Caries Res* 1989; 23:18–25.

ANEXOS

Anexo 1

Determinación del Tamaño de Muestra

Tamaños de muestra. Comparación de medias independientes:

Datos:

Varianzas:	Distintas
Diferencia de medias a detectar:	0,290
Desviación estándar esperada:	
Población 1:	0,030
Población 2:	0,080
Razón entre tamaños muestrales:	1,00
Nivel de confianza:	95,0%

Resultados:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra		
	Población 1	Población 2	Total
80,0	3	3	6

Anexo 2

Carta de aprobación del comité de ética

CEI/243-13-18

Chorrillos, 28 de Noviembre de 2018

Alumnos:

Olga García Calero

Arlet Gil Barreda

Alumnos de la Carrera de Odontología

Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas

Presente.-

UPC

Universidad Peruana de
Ciencias Aplicadas

Avenida Alameda
San Marcos cuadra 2
Chorrillos

Lima 9 – Perú
T 511 313 3333

www.upc.edu.pe

exigete, innova

Ref. PI009-18: Comparación in vitro: Actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio Ion Z®, Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP® sobre cultivos de Streptococcus mutans (####) y Lactobacillus acidophilus (####).

Estimados Investigadores:

Después de haber analizado las razones por las cuales decidieron cambiar el título de su proyecto de tesis, tengo a bien hacer de su conocimiento que el Comité de Ética e Investigación (CEI) ha determinado aprobar su solicitud, por lo tanto el nuevo título es:

Actividad antibacteriana de tres ionómeros de vidrio Ion Z®, Ketac Molar Easymix® y Fuji IX GP® sobre cultivos de Streptococcus Mutans (ATCC 35668) y Lactobacillus Acidophilus (ATCC 4366).

En tal sentido se considera al presente estudio, aprobado con fecha 26 de Noviembre de 2018, (18 meses) que deberá seguir el trámite regular según lo que indica el artículo 5.4 del Reglamento de Grados y Títulos para Ciencias de la Salud.

Sin otro particular quedo de ustedes

Atentamente

Dr. Rodrigo Rondón Herz.
Presidente del Comité de Ética
Facultad de Ciencias de la Salud