



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL EFECTO
INHIBITORIO DE DOS YOGURES PROBIÓTICOS
SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175,
TRUJILLO, 2019**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO
ACADÉMICO DE BACHILLER EN ESTOMATOLOGÍA

AUTORA:

SOTILLA MEDINA, MIRLA YDECO

ORCID: 0000-0002-8513-6438

ASESOR:

REYES VARGAS, AUGUSTO ENRIQUE

ORCID: 0000-0001-5360-4981

TRUJILLO – PERÚ

2021

1. Título de la tesis

**ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL EFECTO
INHIBITORIO DE DOS YOGURES PROBIÓTICOS
SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175,
TRUJILLO, 2019**

2. Equipo de trabajo

AUTOR

Sotilla Medina, Mirla Ydeco.

ORCID: 0000-0002-8513-6438

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Reyes Vargas, Augusto Enrique

ORCID: 0000-0001-5360-4981

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

JURADO

San Miguel Arce, Adolfo Rafael. (Presidente)

ORCID: 0000-0002-3451-4195

Canchis Manrique, Walter Enrique. (Miembro)

ORCID: 0000-0002-0140-8548

Zelada Silva, Wilson Nicolás. (Miembro)

ORCID: 0000-0002-6002-7796

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgtr. San Miguel Arce, Adolfo Rafael.

PRESIDENTE

Mgtr. Canchis Manrique, Walter Enrique.

MIEMBRO

Mgtr. Zelada Silva, Wilson Nicolás.

MIEMBRO

Mgtr. Reyes Vargas, Augusto Enrique.

ASESOR

4. Agradecimiento y dedicatoria

Agradecimiento

Primeramente, quiero agradecer a mi creador que es Dios, gracias por ser mi guía espiritual y encaminarme hacia esta gran meta que estoy cumpliendo, eres amor y divinidad padre hijo y espíritu santo todas mis plagarías.

Agradezco a mis familiares, especialmente a mi padre y madre, hermanos, tíos, primos que estuvieron ahí para darme sus consejos de aliento.

Agradezco a la Universidad, por brindarme todo lo aprendido hasta el momento, a todos los docentes de esta casa de estudios, que me enseñaron, gracias a todos.

Dedicatoria

Esta dedicatoria va dirigida a Dios por darme la vida que es un regalo divino y darme las fuerzas suficientes para seguir adelante en los momentos de adversidad que pude estar pasando, a lo largo de toda la carrera profesional.

A mis padres Medina Moreno Angelita y Sotilla Rodríguez Cecilio quienes, con sus consejos, paciencia y todo el amor me han brindado todo su apoyo de tal manera que con eso demostraron que para llegar a cumplir sueños es fruto del esfuerzo y dedicación. A mis hermanos Sotilla Medina David y Díaz Medina Sarita Elizabeth por confiar en mí.

La autora.

5. Resumen y abstract

Resumen

El **objetivo** de la investigación fue evaluar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019. **Metodología:** fue de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental, cuasi experimenta con post prueba y grupos intactos. Población y Muestra: se conformó por 18 repeticiones para cada uno de los cuatro grupos experimentales (1: yogurt Laive, 2: yogurt Laive probiótico, 3: yogurt Yoleit, 4: yogurt Yoleit probiótico). Instrumento: Se realizó la medición con un Vernier calibrado y la información se registró en una ficha de recolección de datos. **Resultados:** el mayor rango de actividad presenta el grupo Laive Probióticos con un halo promedio media de 9,55mm, seguido del grupo Yoleit Probióticos con una media de 8,64mm, muy similar con el grupo Laive que presentó una media de 8,64mm; mientras que sin algún efecto el grupo del yogurt Yoleit con una media 0,00mm. Al comparar los grupos se observa que existe diferencia entre los grupos estudiados siendo el grupo Laive Probióticos el de mayor efecto, seguido del grupo Laive Probióticos y Laive que fueron similares. **Conclusión:** Los dos yogures probióticos tienen efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019 ($p=0,000$).

Palabras clave: Efecto inhibitorio, *Streptococcus mutans*, Yogurt probiótico.

Abstract

The **objective** of the research was to evaluate the inhibitory effect of two probiotic yogurts on *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019. **Methodology:** it was quantitative, experimental, prospective, cross-sectional and analytical, explanatory level and experimental design, quasi-experiments with post test and groups intact. Population and Sample: it was made up of 18 repetitions for each of the four experimental groups (1: Laive yogurt, 2: probiotic Laive yogurt, 3: Yoleit yogurt, 4: yogurt probiotic Yoleit). Instrument: The measurement was carried out with a calibrated Vernier and the information was recorded in a data collection sheet. **Results:** the Laive Probiotics group had the greatest range of activity with an average halo of 9.55mm, followed by the Yoleit Probiotics group with an average of 8.64mm, very similar to the Laive group that presented an average of 8.64mm; while without any effect the Yoleit yogurt group with an average 0.00mm. When comparing the groups, it is observed that there is a difference between the groups studied, the Laive Probiotics group having the greatest effect, followed by the Laive Probiotics and Laive groups, which were similar. **Conclusion:** The two probiotic yogurts have an inhibitory effect on *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019 ($p = 0.000$).

Key words: *Inhibitory effect, Streptococcus mutans, Probiotic yogurt.*

6. Contenido

1. Título de la tesis	ii
2. Equipo de trabajo	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor	iv
4. Agradecimiento y dedicatoria	v
5. Resumen y abstract	vii
6. Contenido	ix
7. Índice de tablas y gráficos	xi
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Bases teóricas de la investigación	12
2.2.1. Caries dental.....	12
2.2.2. Streptococcus Mutans	12
2.2.3. Probiótico	13
2.2.4. Yogurt Probiótico.....	17
2.2.5. Yogurt Probiótico y Caries dental.....	21
III. Hipótesis	22
IV. Metodología	23
4.1 Diseño de la investigación.....	23
4.2 Población y muestra.....	25
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores	27
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	28
4.5 Plan de análisis	34
4.6 Matriz de consistencia	36
4.7 Principios éticos.....	37

V. Resultados	38
5.1. Resultados:.....	38
5.2. Análisis de resultados	43
VI. Conclusiones	47
Aspectos complementarios	48
Recomendaciones	48
Referencias bibliográficas:	49
ANEXOS	56

7. Índice de tablas y gráficos

Índice de tablas

Tabla 1.- Efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019	38
Tabla 2.- Efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019	40
Tabla 3.- Efecto inhibitorio del yogurt Yoleit sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019	41
Tabla 4.- Comparación del efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019	42

Índice de gráficos

Gráfico 1.- Efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans ATCC 25175</i> , Trujillo, 2019	38
Gráfico 2.- Efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el <i>Streptococcus Mutans ATCC 25175</i> , Trujillo, 2019	40
Gráfico 3.- Efecto inhibitorio del yogurt Yoleit sobre el <i>Streptococcus Mutans ATCC 25175</i> , Trujillo, 2019	41
Gráfico 4.- Comparación del efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans ATCC 25175</i> , Trujillo, 2019	42

I. Introducción

La caries dental es una enfermedad crónica multifactorial; siendo la más prevalente en el mundo, y afecta en un 60 a 90% de la población mundial, sobre todo a los niños de edad escolar. (1,2)

El grupo bacteriano *S. Mutans* pertenece al grupo viridans descrito por primera vez por el microbiólogo J. Kilian Clarke en 1924 (3); constituye uno de los agentes bacterianos más estudiados en odontología por su relación con caries dental. Se caracteriza por ser Cocos Gram+, facultativa, es decir puede sobrevivir con presencia o ausencia de oxígeno. El *S. Mutans* es una de las principales bacterias que generan el inicio de la caries dental, generalmente se encuentra en la placa bacteriana, por su acción acidogénica desmineraliza la capa externa del diente, el esmalte dentario. (4)

Los probióticos son microorganismos vivos que administrados en cantidades suficientes proveen efectos fisiológicos beneficiosos sobre el hospedero. El producto probiótico se define como una formulación dieto-terápica que contiene un número adecuado de microorganismos vivos con capacidad de modificar la flora bacteriana ejerciendo un efecto positivo y beneficioso para la salud. (5)

En la actualidad existen algunos estudios en donde se han encontrado diversidad de productos probióticos que podrían tener efecto beneficioso para disminuir este alto índice de caries dental, entre ellos el más común sería el yogur probiótico. Sin embargo, se necesitan más estudios sobre productos probióticos para poder demostrar los efectos beneficiosos reales en la cavidad oral. (6)

En estudios a nivel internacional, para Villacís A. (Ecuador, 2017) el Yogurt A-B presentó una media de 8,8mm, el Bioyogurt Lactobacillus GG 4,2mm, el Bioyogurt

Bifidobacterium lactis 2,6mm y el yogurt convencional 0,8mm. Concluyó que, los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococo Mutans ATCC25175* ($p=0,00$). (7)

A nivel nacional, para Ligue C., Quispe E. (Puno, 2017) los halos de inhibición del yogur probiótico (GE N°1) fue 15,39mm; y para el segundo yogur (GE N°2) fue 12,64mm. Concluyó que, los dos yogures con cepas probióticas si poseen efecto inhibitorio ante el *Streptococcus Mutans* ($p<0,05$). (8)

Ante lo descrito se formuló el enunciado del problema ¿Existe efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019? Y el objetivo general, Evaluar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019. Y los objetivos específicos fueron, determinar el efecto inhibitorio del yogurt Laive y del yogurt Yoleit sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019; así como, comparar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

La investigación se justifica convenientemente, porque sirvió para evaluar el efecto inhibitorio dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*; dado que hoy en día, encontramos diversos yogurts probióticos, que además de ayudar a la repoblación de la flora intestinal saprofítica; también podrían tener efectos benéficos en la salud oral. Este estudio sirve de respaldo científico, para que nuevos productos derivados lácteos puedan incorporar probiótico dentro de su formulación, promocionando su beneficio en la salud oral. Asimismo, posee relevancia social, dado que benefició a todos los profesionales

con actualización de información; a la vez, sirve como antecedentes para futuras investigaciones. Posee implicancias prácticas y relevancia metodológica, ya que permitió generalizar los resultados a nociones más profundas y adaptó un instrumento validado que ayudó en la recolección de datos.

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, se estableció un tipo de investigación cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental, cuasi experimenta con post prueba y grupos intactos, se evaluaron 18 muestras de *Streptococcus Mutans ATCC 25175* para cada uno de los 4 grupos: grupo 1: yogur Laive con cepas probióticas, grupo 2: yogur Yoliet con cepas probióticas, grupo 3: yogur Laive sin cepas probióticas, grupo 4: yogur Yoliet sin cepas probióticas; los datos se registraron en una ficha de recolección de datos. Concluyendo que, el mayor halo promedio estuvo en el grupo Laive/Probióticos (9,5 mm), el halo promedio obtenido en los grupos Laive y Yoleit/Probióticos son muy similares (8,63mm y 8,64mm). La prueba de comparaciones múltiples de Duncan muestra que hay diferencia entre los grupos.

La investigación consta de tres partes, el primero inicia con la introducción (problemática, enunciado del problema, objetivos, justificación); seguido por la revisión de la literatura (antecedentes, bases teóricas); la segunda parte es la metodología, donde detalla el tipo, nivel y diseño de investigación, población y muestra, operacionalización de variables; técnica e instrumento de recolección de datos, plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos. En el tercer apartado, los resultados, análisis de resultados, conclusiones y recomendaciones.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes

Internacional

Villacís A. (Ecuador, 2017) en su tesis titulada, Efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre *Streptococo Mutans*. estudio in vitro. **Objetivo:** Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre el crecimiento de *Streptococo Mutans* ATCC25175. **Tipo de estudio:** fue experimental in vitro. **Población/muestra:** estuvo conformada por 60 cultivos divididos en 4 grupos de estudio: G1 grupo control yogurt convencional, G2: Bioyogurt Lactobacillus GG, G3: Bioyogurt Bifidobacterium lactis y G4: Bioyogurt AB. **Material y método:** Se reactivó el *Streptococo mutans* ATCC 25175, se procedió a realizar diluciones de la cepa en el yogurt, las mismas que fueron incubadas a una temperatura de 37°C por 48 horas. Los datos se analizaron estadísticamente con la prueba ANOVA con una significancia del 5%. **Resultados:** El Yogurt A-B presentó una media de halo de 8,8mm, seguido del Bioyogurt Lactobacillus GG con una media de 4,2mm, seguido del Bioyogurt Bifidobacterium lactis 2,6mm y finalmente con menor efecto el yogurt convencional con una media de 0,8mm. El Yogurt A-B inhibe totalmente el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175 mientras que los 2 bioyogurts estudiados presentaron inhibición media y el yogurt convencional no logró algún efecto. **Conclusión:** los probióticos presentes en

bioyogurt y yogurt A-B tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC25175 ($p=0,00$). (7)

Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H. (China, 2017). En su estudio, Efecto de los lactobacilos probióticos sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *biofilms multiespecíficos* aislados de niños con caries activa. **Objetivo:** evaluar el efecto de los lactobacilos probióticos en *S. mutans* (SM) y biopelículas multiespecíficas aisladas de niños con caries severa. **Tipo de estudio:** fue experimental in vitro. **Población/muestra:** se evaluó a 20 niños con caries activas ($DMFS \geq 6$). **Material y método:** se aisló *Streptococcus mutans* (MS) de la saliva, luego se mezclaron con lactobacilos a 37°C. **Resultados:** el halo de inhibición en el Grupo 1 fue un diámetro promedio de 12,10 mm y una desviación estándar de 3,60mm, mientras que en el Grupo 2 una media y una desviación estándar de 15,60mm y el Grupo Control yogurt con valores de 1,30mm. Al comparar los grupos se observa una diferencia significativa entre los Grupos experimentales. **Conclusión:** los lactobacilos probióticos sobre tienen efecto el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *biofilms multiespecíficos* aislados de niños con caries activa. (9)

Schewendicke F., Korte F., Dörfer C., Kneist S. (Alemania, 2017) en su estudio, Inhibición del crecimiento de *Streptococcus Mutans* y formación de biopelículas por probióticos in vitro. **Objetivo:** evaluar la inhibición del crecimiento de *Streptococcus Mutans* y formación de biofilm por probióticos. **Tipo de estudio:** fue longitudinal, prospectivo y experimental. **Población/muestra:** se examinaron 8 probióticos en 2 cepas. **Material y método:** se evaluó cómo la inhibición del crecimiento de *S. Mutans* o de la

formación de biofilm afecta la cariogenicidad de los biofilms de especies mixtas probióticas de *S. Mutans* in vitro. **Resultados:** el primer grupo evidenció la pérdida de minerales de las biopelículas de SM monoespecies fue de 13,558mm significativamente menor que la de las biopelículas de especies mixtas SM 19.081mm. por lo tanto. *L. acidophilus* LA-5 inhibió significativamente más el crecimiento de cultivo *S. Mutans* que la mayoría de los otros probióticos. *L. casei* LC-11 inhibió la formación de biofilm *S. Mutans* de forma similar a otras alternativas, pero mostró la mayor retención de probióticos en los biofilms. **Conclusión:** los probióticos inhiben el crecimiento del cultivo *S. mutans* en la formación de biofilm pero no reducen necesariamente la cariogenicidad de las biopelículas ($p < 0,05$). (10)

Rebolledo M., Rojas E., Salgado F. (Chile, 2014) en su estudio, Efecto de dos probióticos que contienen cepas de *Lactobacillus casei* variedad *Rhamnosus* y *Lactobacillus johnsonii* sobre el crecimiento in vitro de *Streptococcus Mutans*. **Objetivo:** medir el efecto de las cepas probióticas *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR32) y *Lactobacillus johnsonii* (LA1) sobre el crecimiento in vitro de *Streptococcus Mutans*. **Tipo de estudio:** fue experimental in vitro. **Población/muestra:** se utilizaron 10 placa Petri. **Material y método:** Las placas fueron cultivadas por un periodo de 48 h en condiciones de microaerofilia en jarras de Gaspac y se llevaron a la estufa a 37,8°C. Entre las 24 y 48 h se midió con pie de metro el halo de inhibición para las cepas de *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR35) y *Lactobacillus johnsonii* (LA1). **Resultados:** el primer grupo presentó un halo de inhibición promedio de 17,2mm; y el segundo grupo presentó una

media de 15,2mm. Al comparar los grupos, se observó que se diferencian significativamente ($p=0,00$). **Conclusión:** Se observaron diferencias significativas, o lo que las cepas probióticas presentan efecto sobre el crecimiento del *Streptococcus Mutans* ($p<0,05$). (11)

Nacionales

Ligue C., Quispe E. (Puno, 2017) en su tesis, Estudio in vitro del efecto inhibitorio de dos yogures con cepas probióticas ante la proliferación del *Streptococcus Mutans* bucal- Puno 2017. **Objetivo:** evaluar la efectividad inhibitoria de dos diferentes yogures que contienen cepas probióticas ante la proliferación del *Streptococcus Mutans* bucal in vitro. **Tipo de estudio:** fue prospectivo, longitudinal, experimental in vitro. **Población/muestra:** se utilizó 60 repeticiones para cada uno de los tres grupos experimentales: (GE N°1) ensayo sometido con (yogur N°1), (GE N°2) ensayo sometido con (yogur N°2) y (GE N°3) grupo control donde se empleó un yogur de consumo común. **Material y método:** se inoculó en 10 Placas Petri para cada ensayo, con cultivo del aislado de *Streptococcus Mutans* Bucal (cepas nativas); total de placas sometidas a incubación de 37°C para su posterior evaluación. **Resultados:** los promedios de halos de inhibición: (GE N°1) = 15,39mm correspondiente a (Yogur N°1), (GE N°2) = 12,64mm correspondiente a (Yogur N°2), teniendo una diferencia de 2.75 mm en favor del Yogur N°1. (GE N° 3) = 0mm correspondiente al grupo control. La prueba de tukey arrojó un resultado significativo (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,41874) para el Yogur N° 1 y (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,41103) para el Yogur N° 2. A manera comparativa entre ambas existe una diferencia significativa a favor del (Yogur

Nº1) (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,41351). **Conclusión:** Los dos yogures enriquecidas con cepas probióticas si poseen efecto inhibitorio de carácter significativo ante la proliferación del *Streptococcus Mutans* bucal in vitro ($p < 0,05$). (8)

Velásquez C. (Trujillo, 2015) en su tesis, Efectividad de dos bioyogures con bacterias probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 in vitro. **Objetivo:** Comparar el efecto del bioyogurt con *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 y *Streptococcus salivarius* ATCC 13419 con el bioyogurt con *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175. **Tipo de estudio:** fue experimental in vitro, prospectivo. **Población/muestra:** se utilizaron 12 repeticiones para cada grupo de estudio. **Material y método:** se dividió en 3 grupos experimentales, se implementaron los sistemas de ensayo siguiendo las técnicas microbiológicas correspondientes. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba F. **Resultados:** el bioyogurt con *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 y *Streptococcus salivarius* ATCC 13419 presentó una media de 8,477, seguido del bioyogurt con *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 con una media de 7,5 y el control, un yogurt sin bacterias probióticas presentó una media de 4,6. Al comparar los grupos se demuestra que existen diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,00$). **Conclusión:** el bioyogurt con las bacterias probióticas *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 y *Streptococcus salivarius* ATCC 13419, presentó mayor efecto inhibitorio in vitro sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 ($p < 0,00$). (12)

Lozano L. (Trujillo, 2015) en su tesis, Efectividad de un yogur comercial con y sin cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* en saliva de niños de 3 a 5 años con caries, en la I.E. 81015 Carlos E. Uceda Meza, Trujillo 2014. **Objetivo:** comparar la efectividad de un yogur comercial con y sin cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* en saliva. **Tipo de estudio:** fue ensayo clínico controlado cruzado. **Población/muestra:** se utilizó la saliva de 19 niños de 3 a 5 años con un nivel de caries moderada, quienes se consideraron grupo experimental y control a la vez. **Material y método:** se evaluaron muestras salivales antes y después de la ingesta diaria de 25ml de yogur con y sin probióticos, teniendo 2 semanas como periodo de blanqueo. **Resultados:** yogur comercial con probióticos presenta una media de 8,86mm mientras que el yogur sin probióticos presenta una media de 3,85mm. Al comparar los grupos se demostró que existe diferencia entre los grupos experimentales $p < 0,00$; siendo que el yogur comercial con probióticos produce mayor inhibición sobre el *Streptococcus Mutans* que el yogur sin probióticos. **Conclusión:** el yogur comercial con y sin cepas probióticas tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* en saliva ($p < 0,00$). (3)

Geldres G. (Trujillo, 2014) en su tesis, Efecto de un bioyogurt comercial con probióticos sobre el crecimiento de S. Mutans en saliva de niños de 3 y 4 años de un Centro de Educación Inicial de Trujillo, 2014. **Objetivo:** determinar y comparar el efecto de la ingesta de un yogurt comercial sin probióticos y otro con probióticos frente al crecimiento de S. Mutans en saliva. **Tipo de estudio:** fue ensayo clínico controlado. **Población/muestra:** se evaluó la saliva de 27

niños de 3 y 4 años, sin caries dental, quienes constituyeron como grupo experimental y control a la vez. **Material y método:** se evaluaron muestras salivales antes y después de la ingesta diaria de 25ml de cada tipo de yogur y muestras control luego de la ingesta por 4 semanas. **Resultados:** El yogurt con probióticos produjo una media de 14,9mm; mientras que el yogurt sin probióticos presento una media de 6,6mm. Al comparar los grupos se logró determinar que el yogurt con probióticos produjo mayor efecto que el yogurt sin probióticos. **Conclusión:** la ingesta de un yogurt comercial sin probióticos y otro con probióticos tienen efecto frente al crecimiento de *S. Mutans* en saliva ($p < 0,05$). (2)

De Lama M. (Lima, 2015) en su tesis, Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) y *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863) contra *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus Sanguinis* (ATCC 10556). **Objetivo:** Evaluar la capacidad antimicrobiana del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y del *Bifidobacterium bifidum* frente a la bacteria cariogénica *Streptococcus mutans* y su antagonista *Streptococcus sanguinis*. **Tipo de estudio:** fue experimental in vitro. **Población/muestra:** se utilizaron cepas de *S. mutans* (ATCC 27175), *S. sanguinis* (ATCC10556), LGG (ATCC 53103) y *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863). **Material y método:** fueron incubadas a 37°C, durante 72 horas. Se prepararon 4 grupos de estudio: prueba de inhibición de *S. mutans* por LGG y *B. bifidum* (grupo 1); de *S. sanguinis* por LGG y *B. bifidum* (grupo 2); de LGG por *S. mutans* y *S. sanguinis* (grupo 3) y de *B. bifidum* por *S. mutans* y *S. sanguinis* (grupo 4). **Resultados:** El

grupo 1 presentó un halo promedio de 32,8mm; el grupo 2 presentó una media de 27,8mm; el grupo 3 una media de 29mm y el grupo 4 una media de 29,6mm.

Conclusión: El *LGG* y el *B. bifidum* demostraron no tener un efecto antibacteriano frente al *S. mutans* y *S. sanguinis* ($p>0,05$). (13)

Quispe G., Ríos T (Lima, 2014) en su tesis, Efecto inhibitorio in vitro de un bioyogurt con cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans ATCC 2517*. **Objetivo:** determinar el efecto inhibitorio in vitro de un bioyogurt utilizando cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans ATCC 25175*. **Tipo de estudio:** fue longitudinal, prospectivo y experimental, **Población/muestra:** se utilizaron 12 repeticiones para cada grupo de estudio. **Material y método:** utilizó 1 sistema control, constituido por bioyogurt sin cepas probióticas y 1 sistema problema, constituido por un bioyogurt con cepas probióticas, entre ellas *Lactobacillus paracasei subsp. Casei* *Lactobacillus acidophilus*, y *Bifidobacteriumcuyos*. **Resultados:** El yogurt con cepas probióticas presentó una media de 12,5mm y el yogurt sin cepas probióticas una meda de 5,8mm. Comparando el efecto inhibitorio de ambos yogures se encontró que el yogur con cepas probióticas, produjo una inhibición del crecimiento de *Streptococcus Mutans*. **Conclusión:** El yogur comercial con cepas probióticas, logro inhibir el crecimiento de *S. Mutans ATCC 25175*, mostrando una alta significancia de ($p<0.001$). (14)

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Caries dental

La caries dental es una enfermedad infectocontagiosa regida por un proceso dinámico de desmineralización y remineralización que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos que, debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, trae como resultado una pérdida del mineral de la superficie dental, cuyo signo clínico es la destrucción localizada de tejidos duros. (15)

En su etiopatogenia esta enfermedad se relaciona con la interacción del huésped, la presencia de bacterias y el sustrato. La combinación de todos estos factores y su frecuencia en el tiempo son los que determinan conjuntamente la sensibilidad a la caries dental y la evolución de esta. (16)

2.2.2. Streptococcus Mutans

El *Streptococcus Mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor de ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico, tienen la capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente 24 horas, cuando metaboliza carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa, lactosa. Estos ácidos circulan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, generando calcio y fosfato, los cuales, a su vez, difunden fuera del esmalte. Este proceso se conoce como desmineralización. (4)

El *Streptococcus Mutans* se ha sub-clasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus Mutans* son *c*, *e*, *f* y *k*. El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *S. Mutans* y otras especies orales de *estreptococos*. (4)

El hábitat natural de *S. Mutans* es la boca humana, es por eso que estas especies se han caracterizado como colonizadores secundarios del biofilm que rodea a los dientes y su patogenicidad se ha demostrado en relación a la producción de caries del esmalte. (4)

2.2.3. Probiótico

El término probiótico, que significa -para la vida- se deriva de la lengua griega. Probióticos fue utilizado por primera vez por Lilly y Stillwell en 1965. (17)

Los probióticos son microorganismos vivos, principalmente bacterias, no patógenas, utilizados en forma de suplemento alimenticio, que, tras ser ingeridos en cantidades suficientes, mejoran el equilibrio microbiano intestinal y provocan efectos benéficos sobre la salud de quienes los ingieren (18,19). Tienen efectos fisiopatológicos positivos.

Las recientes investigaciones sugieren que los probióticos ejercen efectos positivos en el huésped, debido a que contribuyen en la regularización de la microbiota intestinal y potencia el sistema inmune, logrando tener variedad de efectos antimicrobianos sobre las bacterias patógenas, resisten altos rangos de pH y temperatura, además se considera que

ayudaría a mejorar el sistema digestivo y la tolerancia a la lactosa. (20,21)

Existen cuatro formas de suministrar los probióticos: 1) cultivo cuyas concentraciones están agregadas a una bebida; 2) cuando hay inoculación dentro de fibras prebióticas; 3) cuando se introduce dentro de alimentos lácteos y 4) y por último los suplementos dietéticos como forma de células secas. (22)

El proceso de selección de un probiótico debe constar de los siguientes indicadores: Identificación de la cepa, Caracterización biológica, Eficacia, seguridad, Especificaciones (concentración de microorganismos, condición de almacenamiento y beneficios específicos). (23)

Estos criterios son de extrema importancia para la interpretación del probiótico y sus indicaciones médicas. (23)

A. Características de las cepas probióticas

- Origen humano.
- Persistencia en el tracto intestinal humano.
- Adherencia al epitelio intestinal.
- Seguridad en alimentos y uso clínico.
- Producción de sustancias antimicrobianas.
- Ser antagonico contra bacterias patógenas y carcinógenas.
- Concentración ideal probióticos $> 10^7$ /ml.
- Fácil reproducibilidad y genéticamente estable.

- Ser capaces de fijarse para poder colonizar el hábitat en donde están activos. (24)

B. Microorganismos considerados probióticos

Los primeros microorganismos considerados probióticos fueron: el *Lactobacillus* y los *bifidobacterium spp.* (25)

▪ **Genero *Bifidobacterium***

Bifidobacterium se logran caracterizar por ser bacterias Gram positivas, tienen una morfología bífida y su forma es parecida a un bastón, no tienen movilidad ni la capacidad de formar esporas, son anaerobias, y presentan negatividad para la catalasa. no tienen la capacidad de ser productores de gas. (26)

Bifidobacterium sp. es uno de los microorganismos generalmente reconocido como seguro. Es decir, no tienen ningún efecto negativo para la salud y presenta características favorables para la salud humana debido a esto este microorganismo es considerado como probiótico. (26)

▪ **Genero *Lactobacillus***

Lactobacillus (lactis-leche; bacillus-pequeños bacilos) se llegan a caracterizar por ser bacterias Gram positivas, presentan una forma de largos bacilos.

Sus medios de crecimiento son ligeramente ácidos, cuentan con

un pH inicial de 6,4 - 4,5 y su pH óptimo es de 5,5 y 6,2. Tienen la capacidad de lograr una disminución en el pH del sustrato cuyo valor se encuentra por debajo de 4,0, cuando se forma el ácido láctico. Debido a esto disminuye el crecimiento de la gran mayoría de microorganismos competidores, a excepción de levaduras y bacterias lácticas. (14)

Lactobacilos se pueden dividir en dos principales grupos: a) Especies homofermentativas, que llegan a producir ácido láctico (>65%) comenzando a partir de la fermentación de la glucosa entre ellos tenemos: *L. acidophilus*, *L. salivarius* y *L. casei*. b) Especies heterofermentativas, que pueden producir ácido láctico, así también producen cantidades de acetato, etanol y Co₂ (*L. fermentum*), *Lactobacillus delbrueckii (bulgaricus, lactis y delbrueckii)*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*. (14)

C. Probióticos y su mecanismo de acción

Los probióticos pueden llegar a favorecer la salud humana debido a que altera el balance ecológico produciéndose así la exclusión competitiva de bacterias patógenas. Debido a los estudios realizados con la cepa de *Lactobacillus*, se ha logrado demostrar, que existe un mecanismo llamado inhibición competitiva. (6)

La acción que ejercen los probióticos a través de sus diferentes mecanismos son los siguientes: a) promueve la fagocitosis; b) inhibe el crecimiento bacteriano; c) modula la respuesta inmune; e d)

inhibe de forma competitiva. (6)

Cabe resaltar que los mecanismos de acción antes especificados surgen de diversos estudios que se realizaron a nivel de la zona gastrointestinal. Para poder lograr su aplicación en la salud oral se necesita de futuras investigaciones. Sin embargo, si consideramos que la cavidad oral representa la primera parte del tracto digestivo, podemos llegar a considerar que por lo menos unos de estos mecanismos pueden llegar a acontecer en esta parte del sistema. (6)

2.2.4. Yogurt Probiótico

El yogur es uno de los alimentos lácteos fermentados que contienen probióticos, los cuales, consumidos en cantidades suficientes, ejercen efectos benéficos en la población microbiana del tracto gastrointestinal. Las bacterias que se encuentran en este producto son principalmente miembros del género *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterias* este grupo de bacterias son los más utilizados como probióticos en la elaboración de bebidas lácteas fermentadas como el yogur. (24)

Los alimentos con probióticos que contienen bacterias vivas deben estar presentes a través de la vida útil del producto, manteniéndose estable y viable para permitir que el microorganismo pueda sobrevivir a las barreras defensivas naturales y al ecosistema del hospedador. Al respecto, el mínimo terapéutico de bacterias probióticas en leches fermentadas recomendadas podría estar en un rango de 10⁵-10⁶ UFC/mL, de igual manera mencionan que el consumo podría ser de más de 100 g por día de

yogur que contenga más de 10⁶ UFC/mL-1. Por lo anterior y por otras razones, bebidas como el yogur son uno de los alimentos más populares en el mundo y alcanzan una imagen saludable positiva debido a la acción benéfica de estas bacterias. (24)

A. Simbiosis de las bacterias del yogur

Cuando las bacterias del yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) se desarrollan conjuntamente en la leche, la producción de ácido láctico es mucho más rápida, ello es debido a que entre ellas se establece un fenómeno de mutua estimulación de crecimiento. (27)

Las bacterias *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, las cuales deben encontrarse en relación 1:1 para una acción simbiótica efectiva, pero esto puede llegar a variar y esto se debe que los *Streptococcus* se reproducen con mayor rapidez y los *lactobacillus* sintetizan factores de crecimiento, esto se da principalmente en la etapa de fermentación. Luego su crecimiento se hace más lento debido al ácido producido. (27)

Al producirse un desarrollo bacteriológico lento, los *lactobacillus*, estimulados por los factores de crecimiento *Streptococcus* comienzan a desarrollarse de manera rápida, dando como resultado la proporción inicial. (27)

Los cultivos o bacterias son capaces de crecer a una temperatura de 42°C a 45°C, lo mínimo en la que se puede reproducir una bacteria es

de 10°C y lo máximo 50 °C. (27)

B. Proceso para la elaboración del yogur

La elaboración del yogurt es un proceso que requiere de diferentes ingredientes como; productos lácticos, sus fermentos y la leche, siendo el principal componente del yogurt, la leche es sometida a un proceso de pasteurización para que pueda poseer óptimas condiciones sanitarias, además no deberá poseer antibióticos, de esta manera se puede producir la fermentación láctica, y de esta manera se obtiene un producto alimenticio con características fisicoquímicas y microbiológicas aceptables. (28)

- **Selección de la materia prima:** el yogurt está compuesto por leche, pasa por el proceso de fermentación con *S thermophilus* y *L bulgaricus* bajo diferentes condiciones sobre el tiempo y las temperaturas adecuadas. (27)
- **Leche:** El componente básico del yogurt es la leche, pasteurizada o no pasteurizada.
- **Cultivos:** Entre los Cultivos lácticos tenemos: a) cepas de *Lactobacillus delbrueckii subsp, bulgaricus* y *Streptococcus salivarius, subsp thermophilus*, y b) cepas probióticas: cepas de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus acidophilus, e inulina (Raftiline® HP) marca ORAFTI*. (25)
- **Estandarización:** Es un proceso de diseño de mezclas; para poder

evitar la formación de grumos al adicionar el azúcar a la leche.

(26)

- **Homogenización:** Para una completa homogenización de todos los ingredientes la leche se somete a una T de 60°C.
- **Pasteurización:** En esta etapa se eleva la temperatura de la leche, cuya finalidad es eliminar los microorganismos presentes.
- **Enfriamiento pos pasteurización:** Para que el crecimiento de los microorganismos sea optimo, la leche deberá ser enfriada a T 40°C.
- **Inoculación:** Proceso en el que se adiciona el cultivo comercial bacterias *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*.
- **Fermentación:** Este proceso comprende aproximadamente 5 horas, a una T° de 40±2°C en una incubadora hasta que llegue alcanzar un pH de 4,5.
- **Enfriamiento pos fermentación:** Llega alcanzar un pH de 4.5, se detendrá el proceso de fermentación disminuyendo rápidamente la temperatura hasta 10±2°C; en consideración a que los microorganismos involucrados no son capaces de crecer a esta temperatura.
- **Envasado:** Para este proceso se debe cumplir principios de salubridad e higiene sin que afecte la composición del yogurt.

- **Almacenado:** El producto será refrigerado a una temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. (29)

2.2.5. Yogurt Probiótico y Caries dental

Según algunos autores demostraron que luego de ingerir el bioyogurt con cepas probióticas se obtuvo una mayor disminución en el recuento de *Streptococcus Mutans* en saliva. (13)

Es por eso que basándose en las investigaciones realizadas algunos autores sugieren que un bioyogurt con probióticos podría alcanzar a tener algún efecto beneficioso sobre la cavidad oral, ya que esta representa la puerta de entrada al tubo digestivo, Asimismo, también insinúan que la microflora proveniente de la cavidad oral podría contener microorganismos residentes que poseerían capacidad probiótica, cohabitando en la placa dental y contribuyendo en la formación y desarrollo de los diferentes biofilms orales. (13)

Para que una bacteria probiótica ejerza un efecto anticariogénico debe, progresivamente, ser capaz de adherirse a la superficie del diente, adaptarse al biofilm y competir con los microorganismos productores de la caries dental, de esta manera podrían reducir su colonización y posiblemente reducir la caries dental. (13)

III. Hipótesis

Hipótesis de Investigación:

- ✓ **H_i:** Existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

Hipótesis estadísticas:

Hipótesis Nula:

- ✓ **H₀:** No existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

Hipótesis alterna:

- ✓ **H₁:** Existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

Tipo de investigación

Según el enfoque es cuantitativo

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Utiliza la recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías. (30)

Según la intervención del investigador es experimental.

- Supo J. (2014) Analiza el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientes. (31)

Según la planificación de la toma de datos es prospectivo.

- Supo J. (2014) Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición. (31)

Según el número de ocasiones en que mide la variable es transversal.

- Supo J. (2014) Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes. (31)

Según el número de variables de interés es analítico.

- Supo J. (2014) El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores. (31)

Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel explicativo.

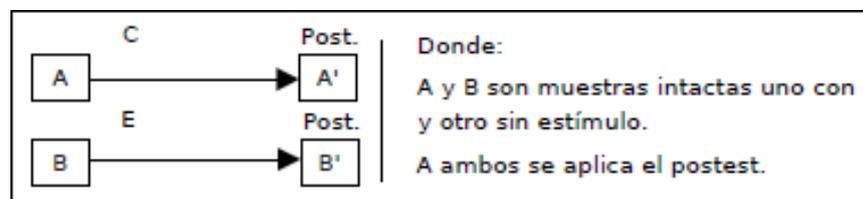
- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente. (30)

Diseño de investigación

La investigación es de diseño: experimental, cuasi experimenta con post prueba y grupos intactos.

- Hernández R. Fernández C. Baptista M. (2014) Utiliza dos grupos, uno recibe el tratamiento experimental, el otro no. Los grupos son comparados en la post-prueba para analizar si el tratamiento experimental tuvo un efecto sobre la variable dependiente. (30)

- Esquema de investigación:



4.2 Población y muestra

Población

Estuvo conformada por cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, que a su vez cumplieron con los criterios de selección.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Streptococcus Mutans* conservadas y en buen estado.
- Placa Petri con siembra adecuada.
- Placa Petri que después del proceso de incubación presenten halos de inhibición.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus Mutans* sin refrigeración, en mal estado.
- Medios de cultivos sin algún crecimiento bacteriano.

Muestra

La muestra estuvo conformada por 18 unidades experimentales seleccionadas aleatoriamente para cada uno de los cuatro grupos experimentales, siendo 18 para yogurt Laive, 18 para yogurt Laive Probiótico, 18 para yogurt Yoleit; y 18 para yogurt Yoleit Probiótico.

Por ser un estudio in-vitro la población se considera infinita, por lo el tamaño de la muestra se determinó por la siguiente fórmula:

Formula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; que es un coeficiente de la distribución normal para una confianza del 95%.

$Z_{\beta} = 0.84$; que es un coeficiente en la distribución normal para una potencia de prueba del 80%.

$\sigma_{\delta}^2 = 1.06 \delta^2$ valor asumido por no haber información previa completa sobre las características que son materia de la presente investigación

Luego reemplazando:

$$n = 17.62 \sim 18$$

Muestreo

No probabilístico por conveniencia: las placas de estudio son seleccionados dada la conveniencia, accesibilidad y proximidad con el investigador. (30)

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN		VALOR
			TIPO	ESCALA	
<p>Variable independiente</p> <p>Yogurt probiótico</p>	<p>Yogurt con cultivo vivos y activos, posee ciertas bacterias probióticas que incrementan el valor terapéutico del mismo, aportando beneficios adicionales a la salud. (32)</p>	<p>Yogurt probiótico</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal</p>	<p>1: Yogurt Laive</p> <p>2: Yogurt Laive</p> <p>3: Yogurt Probiótico</p> <p>4: Yogurt Yoleit</p> <p>Yoleit Probiótico</p>
<p>Variable dependiente</p> <p><i>Efecto inhibitorio sobre el Streptococcus Mutans</i></p>	<p>Capacidad de una sustancia química natural o sintetizada que es capaz de inhibir la proliferación del <i>Streptococcus mutans</i>. (8)</p>	<p>Medida de Halo de inhibición</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Razón</p>	<p>Milímetro (mm).</p>

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica

Experimental: esta técnica permitió analizar los resultados obtenidos en la difusión en discos, aplicando método de Kirby Bauer. Se realizó con la ayuda de elementos como instrumentos de recolección de datos.

Instrumento

Ficha de recolección de datos: permitió registrar la información obtenida mediante la medición de los halos de inhibición, ayudados de un Vernier, el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Numero de Modelo 500-151-30. (Anexo 2)

Se tomó como referencia el instrumento validado en la Universidad Nacional de Trujillo, por el estudio de Velásquez C. (Trujillo, 2015), Efectividad de dos bioyogures con bacterias probióticas sobre el crecimiento *de Streptococcus Mutans ATCC 25175* in vitro. (12)

Procedimiento

Del permiso para la ejecución del estudio

Se envió una solicitud al responsable del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, con el propósito de obtener una autorización para desarrollar la parte experimental del estudio. (Anexo 1)

Se solicitó el apoyo de Edgar David Zavaleta Valverde, docente encargado de dicho laboratorio hasta la ejecución final de este estudio, al finalizar se obtuvo constancia de la elaboración y ejecución del estudio (Anexo 6)

De la recolección de la muestra

- Cepa bacteriana:

Cepa de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, obtenida a través de la compra en Microbiologics* S.A.C. (Anexo 9)

Obtención de yogurts con cepas probióticas

- Se seleccionaron dos yogurts de las marcas comerciales Laive y Yoleit con cepas probióticas respectivamente, que fueron obtenidos mediante la compra en Hipermercados Tottus S.A, pertenecientes al grupo Falabella. Teniendo en cuenta siempre la misma fecha de producción para todos los yogurts y cerciorándose de la fecha de caducidad.

Obtención yogurt sin cepas probióticas

- Se seleccionaron dos yogurts Laive y Yoleit, sin cepas probióticas respectivamente, que fueron obtenidos mediante la compra en Hipermercados Tottus S.A, pertenecientes al grupo Falabella. Teniendo en cuenta siempre la misma fecha de producción para todos los yogures y cerciorándose de la fecha de caducidad.

Obtención y reactivación de la cepa de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175

- Para este estudio se utilizó un cultivo liofilizado de la cepa de

Streptococcus Mutans ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión y en placa con medio Agar Soya Tripticasa (TSA), luego se incubó a 37°C, de 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. (33)

Evaluación de la pureza

- La evaluación de la pureza para el medio BHI se realizó mediante siembra por estría en tres placas con medio Agar Soya Tripticasa (TSA), posteriormente se incubó a 37°C por 24-48 horas en condiciones de microaerofilia. (34)
- Posteriormente cuando se observe crecimiento de las colonias en medio TSA, se eligió una colonia compatible con la morfología macroscópica de *Streptococcus Mutans* para realizar la coloración Gram. (35)
- A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.

De la evaluación del efecto inhibitorio mediante el método de Kirby Bauer

- La evaluación del efecto inhibitorio, de los yogures probióticos Laive y Yoleit sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.

Estandarización del inóculo de *S. Mutans ATCC 25175*.

- La cepa de *Streptococcus Mutans ATCC 25175* mantenida en Caldo BHI

se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microaerofilia a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus Mutans ATCC 25175* se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL). (36)

Inoculación de las placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido. (36)

Diseño de los grupos de experimentación

Grupos Experimentales

- Grupo N°1: Yogur Laive con cepas probióticas, halo de inhibición en mm.
- Grupo N°2: Yogur Yoleit con cepas probióticas, halo de inhibición en mm.

Grupos control

- Grupo N°3: Yogur Laive sin cepas probióticos, halo de inhibición en mm.
- Grupo N°4: Yogur Yoleit sin cepas probióticos, halo de inhibición en mm.

Fase experimental

Inoculación del yogur con cepas probióticas

- Para el grupo experimental N° 1 se tomó 6 placas Petri en los cuales se realizó 3 repeticiones por placa, llegando a un total de 18 repeticiones, para luego introducir en cada una de ellas un disco de antibiograma estéril, consiguientemente se aplicó con una pipeta automática el tratamiento con cepas probióticas contenidas en el yogur N° 1 sobre los discos de antibiograma, todo ello bajo las estrictas medidas de seguridad y esterilidad a fin de evitar cualquier contaminación cruzada durante el procedimiento, luego se llevó a incubar la totalidad las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a una temperatura de 37°C por 24 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

- Para el grupo experimental N° 2 se tomó 6 placas Petri en los cuales se realizó 3 repeticiones por placa, llegando a un total de 18 repeticiones, para luego introducir en cada una de ellas un disco de antibiograma estéril, consiguientemente se aplicó con una pipeta automática el tratamiento con cepas probióticas contenidas en el yogur N° 2 sobre los discos de antibiograma, todo ello bajo las estrictas medidas de seguridad y esterilidad a fin de evitar cualquier contaminación cruzada durante el procedimiento, luego se llevó a incubar la totalidad las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a una temperatura de 37°C por 24 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Inoculación del yogur sin cepas probióticas del grupo control

- Para el grupo control 1; se tomó las 6 placas Petri restantes se realizó 3 repeticiones por placa, llegando a un total de 18 repeticiones para luego introducir en cada una de ellas un disco de antibiograma estéril, consiguientemente se aplicó con una pipeta automática el tratamiento con cepas probióticas contenidas del yogur Laive sin cepas probióticas, sobre los discos de antibiograma, todo ello bajo las estrictas medidas de seguridad y esterilidad a fin de evitar cualquier contaminación cruzada durante el procedimiento, luego se llevó a incubar la totalidad las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a una temperatura de 37°C por 24 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.
- Para el grupo control 2; se tomó las 6 placas Petri restantes se realizó 3 repeticiones por placa, llegando a un total de 18 repeticiones para luego introducir en cada una de ellas un disco de antibiograma estéril, consiguientemente se aplicó con una pipeta automática el tratamiento con cepas probióticas contenidas del yogur Yoleit sin cepas probióticas, sobre los discos de antibiograma, todo ello bajo las estrictas medidas de seguridad y esterilidad a fin de evitar cualquier contaminación cruzada durante el procedimiento, luego se llevó a incubar la totalidad las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a una temperatura de 37°C por 24 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Lectura e interpretación de los resultados.

- Después del tiempo de incubación de 24 horas se examinó cada placa, y se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco según los grupos de estudio. Para lo cual se utilizó una regla milimetrada y vernier digital, para una mejor precisión abarcando el diámetro del halo.
- Luego los sumamos el número las medidas del halo de inhibición de los discos por placa para sacar los promedios respectivos.
- Las mediciones de los halos de cada placa fueron registradas en la ficha de recolección de datos. Se realizó 18 repeticiones de cada ensayo.

4.5 Plan de análisis

La información registrada en el instrumento de recolección de datos fue digitada en una base de datos en MS Excel 2016, donde se ordenó y se organizó. Luego se exportó al software estadístico IBM SPSS v.24 para realizar el tratamiento estadístico univariado y bivariado.

Se verificó que los datos cuentan con distribución normal, mediante la prueba de Shapiro-Wilk, por ser una muestra pequeña de 18 repeticiones por grupo.

Análisis univariado: se utilizó la estadística descriptiva para presentar las medidas de tendencia central (media,) y las medidas de dispersión (desviación estándar); en base a ello se elaboraron las tablas y gráficos de cajas.

Análisis bivariado: se utilizó la estadística inferencial, para el análisis entre las variables se utilizó la prueba paramétrica ANOVA, con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5% (0,05); para la comparación múltiple se utilizó la prueba post hoc de Duncan.

El análisis de resultados se realizó conforme a los objetivos, por medio de la contrastación con los antecedentes; luego se elaboraron las conclusiones y recomendaciones.

4.6 Matriz de consistencia

TITULO: ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL EFECTO INHIBITORIO DE DOS YOGURES PROBIÓTICOS SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO, 2019

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLE	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p>¿Existe efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019?</p>	<p>Objetivo General: Evaluar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Determinar el efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019. Determinar el efecto inhibitorio del yogurt Yoleit sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019. Comparar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019. 	<p>Efecto inhibitorio Yogurts probióticos</p> <p>Laive Laive probiótico Yoleit Yoleit probiótico</p> <p><i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Hipótesis Nula: H₀: No existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019.</p> <p>Hipótesis alterna: H₁: Existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175, Trujillo, 2019.</p>	<p>Tipo y nivel de Investigación. El tipo de la investigación es cuantitativa, experimental, prospectivo, transversal y analítico. De nivel explicativo.</p> <p>Diseño de investigación Experimental cuasi-experimenta (con post prueba y grupos intactos).</p> <p>Población y muestra La población y la muestra estuvo conformada por 18 repeticiones para cada uno de los cuatro grupos experimentales sobre <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175. Muestreo no probabilístico por conveniencia</p>

4.7 Principios éticos.

La investigación tomó en cuenta todos los principios y valores éticos establecidos por la ULADECH Católica para este tipo de estudios.

- **Justicia.** El investigador ejerce un juicio razonable, ponderable y toma las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. (37)
- **Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad.** La investigación involucra el medio ambiente, plantas y animales, toma medidas para evitar daños. Asimismo, respeta la dignidad de los animales y el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios. (37)
- **Integridad científica.** La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, se mantiene la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieron afectar el curso de la investigación. (37)

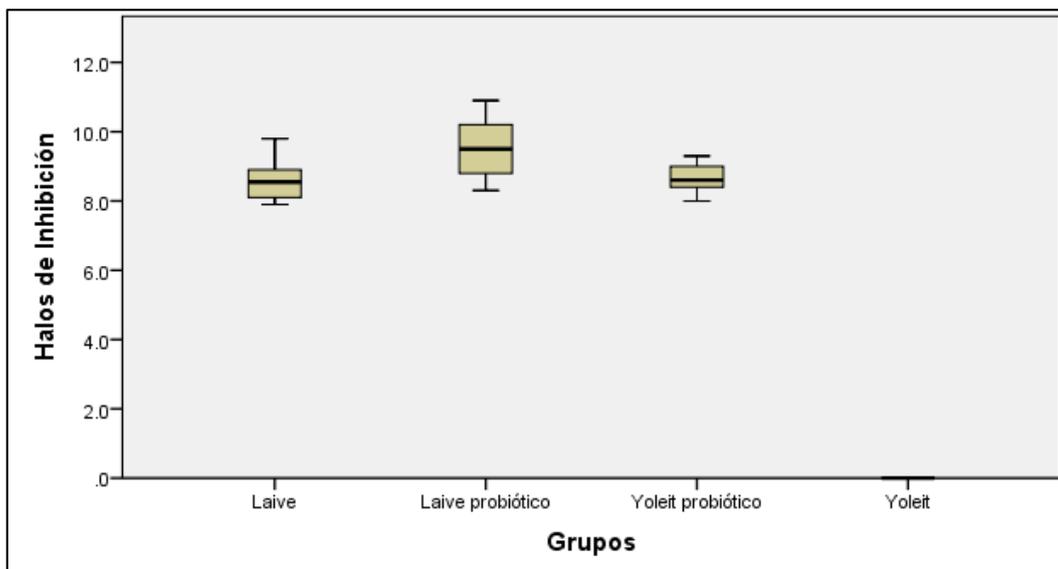
V. Resultados

5.1. Resultados:

Tabla 1.- Efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019

Grupo de tratamiento	n	Media	Desviación estándar	F	p
Laive	18	8,63	0,597	1193,49	0,000
Laive Probióticos	18	9,53	0,846		
Yoleit Probióticos	18	8,64	0,376		
Yoleit	18	0	0		

Fuente: Datos propios obtenidos de medición. Prueba estadística ANOVA



Fuente: Datos de la tabla 01.

Gráfico 1.- Efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019

Interpretación:

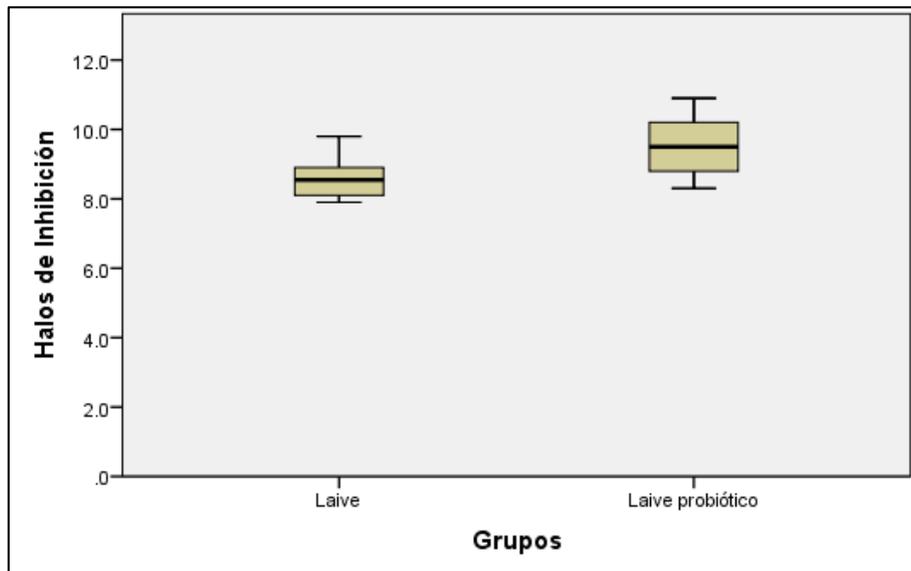
Se observa que el halo promedio del yogurt Laive fue 8,63mm; del yogurt Laive probióticos fue 9,53mm; del yogurt Yoleit probióticos fue 8,64mm; mientras que del yogurt Yoleit fue 0,00.

Luego de aplicar la prueba de Normalidad mediante Shapiro-Wilk se demostró que la muestra proviene de una distribución normal por lo que se aplicó la prueba Paramétrica ANOVA, que muestra una significancia estadística $p=0,000 < 0,05$; como el valor p es menor que 0,05 demuestra que existe diferencia estadística entre los grupos, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación; explicando que con un nivel de significancia del 5%, los dos yogures probióticos tienen efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

Tabla 2.- Efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175, Trujillo, 2019

Halos de Inhibición	N	Media	SD	SE	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Laive	18	8,63	0,597	0,141	8,33	8,92	7,9	9,8
Laive probiótico	18	9,53	0,846	0,199	9,11	9,95	8,3	10,9

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 02.

Gráfico 2.- Efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175, Trujillo, 2019

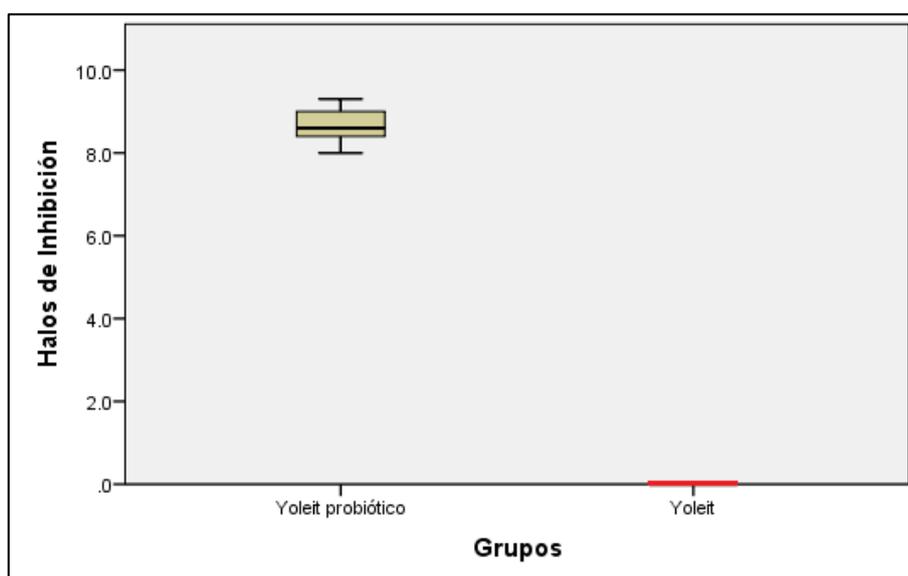
Interpretación:

Se observa el efecto inhibitorio del Laive sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175, presenta una media de halo de inhibición de 8,63mm [IC: 8,33mm-8,92mm] con un límite inferior de 7,9mm y límite máximo de 9,8mm; mientras que el yogurt Laive probiótico presentó un halo de inhibición promedio de 9,53mm [IC: 9,11mm-9,95mm] con un límite inferior de 8,3mm y límite máximo de 10,9mm; evidenciando mayor efecto en este último.

Tabla 3.- Efecto inhibitorio del yogurt Yoleit sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175, Trujillo, 2019

Halos de Inhibición	N	Media	SD	SE	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Yoleit probiótico	18	8,64	0,376	0,089	8,45	8,83	8,0	9,3
Yoleit	18	0,00	0,000	0,000	0,00	0,00	0,0	0,0

Fuente: Ficha de recolección de datos.



Fuente: Datos de la tabla 03.

Gráfico 3.- Efecto inhibitorio del yogurt Yoleit sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175, Trujillo, 2019

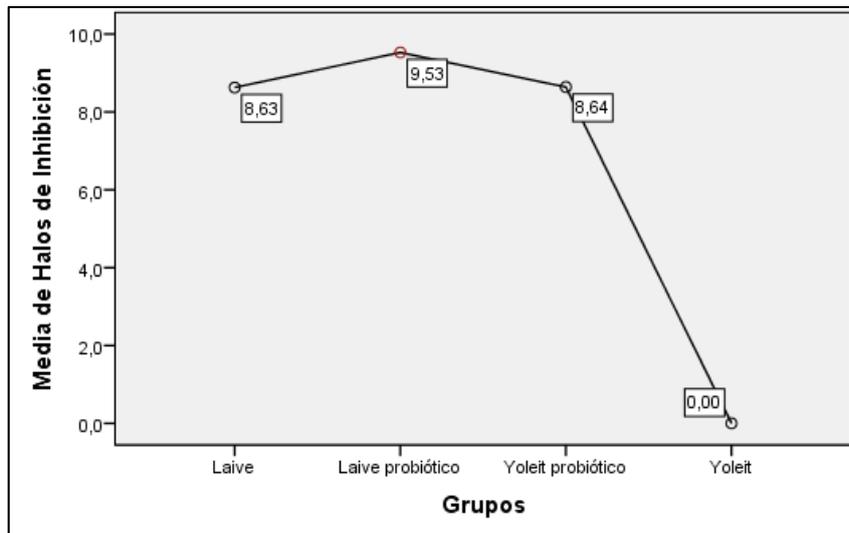
Interpretación:

Se observa que el efecto inhibitorio del Yoleit probiótico sobre el *Streptococcus Mutans ATCC* 25175 presenta un halo de inhibición promedio de 8,64mm [IC: 8,45mm-8,83mm] con un límite inferior de 8,0mm y máximo de 9,3mm; mientras que el yogurt Yoliet normal no presentó algún efecto alguno.

Tabla 4.- Comparación del efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
Yoleit	18	0,00		
Laive	18		8,63	
Yoleit probiótico	18		8,64	
Laive probiótico	18			9,53

Fuente: Prueba Post Hoc Duncan.



Fuente: Datos de la tabla 04.

Gráfico 4.- Comparación del efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019

Interpretación:

La prueba estadística Post Hoc Duncan permitió comparar el efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*; demostrando que existen diferencias entre los grupos; siendo el yogurt Laive probiótico quien presentó mayor efecto con una media de 9,53mm; mientras que en el segundo grupo el yogurt Laive y Yoleit probiótico son similares, con una media de 8,63mm y 8,64mm respectivamente; finalmente el yogurt Yoleit no presentó algún efecto alguno 0,00mm.

5.2. Análisis de resultados

Luego de obtener los resultados acordes a los objetivos planteados, se contrastó con los antecedentes.

1. Los resultados de la investigación lograron determinar que los dos yogures probióticos tienen efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019. (p=0,000). Datos similares halló Villacís A.⁷ (Ecuador, 2017) los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Estreptococo Mutans* ATCC 25175 (p=0,00). Del mismo modo, para Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H.⁹ (China, 2017) (p<0,05). Para Rebolledo M., Rojas E., Salgado F.¹¹ (Chile, 2014) (p<0,05). Asimismo, para Ligue C., Quispe E.⁸ (Puno, 2017) (p<0,05). Velásquez C.¹² (Trujillo, 2015) (p<0,00). Lozano L.³ Trujillo, 2015) (p<0,00). De modo similar, para Geldres G.² (Trujillo, 2014) (p<0,05). Para Quispe G., Ríos T.¹⁴ (Lima, 2014) (p<0,001). Mientras que, datos diferentes halló De Lama M.¹³ (Lima, 2015) (p>0,05). Nuestros resultados se asemejan con los hallados en los antecedentes, lo que indica que el yogurt enriquecido con cepas probióticas podría ser una alternativa de prevención para contrarrestar el crecimiento y proliferación del *Streptococcus Mutans* bucal principal agente cariogénico. Asimismo, la efectividad inhibitoria de los probióticos sobre cepas de *Streptococcus Mutans* se debe a que debilita la expresión de sus genes de virulencia. (Tabla 1)

2. Del mismo modo, se observó el efecto inhibitorio del yogurt Laive sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175* con una media 8,63mm [IC: 8,33mm-8,92mm]; mientras que el yogurt Laive probiótico presentó mayor efecto con una media 9,53mm [IC: 9,11mm-9,95mm]. Mientras que, para Villacís A.⁷ (Ecuador, 2017) El Yogurt con probiótico A-B presentó una media de halo de 8,8mm y con menor efecto el yogurt convencional con una media de 0,8mm. Por su parte, para Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H.⁹ (China, 2017) el halo de inhibición en el Grupo 1 fue un diámetro promedio de 12,10 mm y una desviación estándar de 3,60mm. Para Rebolledo M., Rojas E., Salgado F.¹¹ (Chile, 2014) el primer grupo presentó un halo de inhibición promedio de 17,2mm. Ligue C., Quispe E.⁸ (Puno, 2017) los promedios de halos de inhibición del Yogur N°1 (GE N°1) fue de 15,39mm. Mientras que, Velásquez C.¹² (Trujillo, 2015) el bioyogur con *Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469* y *Streptococcus salivarius ATCC 13419* presentó una media de 8,477. Lozano L.³ (Trujillo, 2015) yogur comercial con probióticos presenta una media de 8,86mm y el yogur sin probióticos presenta una media de 3,85mm. Quispe G., Ríos T.¹⁴ (Lima, 2014) El yogurt con cepas probióticas presentó una media de 12,5mm y el yogurt sin cepas probióticas una meda de 5,8mm. De Lama M.¹³ (Lima, 2015) El grupo 1 presentó un halo promedio de 32,8mm; el grupo 2 presentó una media de 27,8mm. Nuestros resultados nos indican que los probióticos pueden ser un valioso complemento preventivo por tener un efecto en el cambio de la microbiota oral, reduciendo el recuento de patógenos; y por lo mismo que

presenta un alto potencial inhibitorio de los probióticos. (Tabla 2)

3. Asimismo, se observó el efecto inhibitorio del yogurt Yoleit probiótico sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175* con una media 8,64mm [IC: 8,45mm-8,83mm] y el yogurt Yoliet normal no presentó algún efecto alguno 0mm. Mientras que, para Villacís A.⁷ (Ecuador, 2017) el Bioyogurt *Lactobacillus GG* tuvo una media de 4,2mm y el Bioyogurt *Bifidobacterium lactis* 2,6mm. Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H.⁹ (China, 2017) el Grupo 2 presentó una media 15,60mm y el Grupo Control yogurt 1,30mm. Por su parte, Rebolledo M., Rojas E., Salgado F.¹¹ (Chile, 2014) el segundo grupo presentó una media de 15,2mm. Ligue C., Quispe E.⁸ (Puno, 2017) el Yogur N°2 (GE N°2) presento una media 12,64mm y el grupo de control yogurt (GE N° 3) 0mm. Para Velásquez C.¹² (Trujillo, 2015) el bioyogur con *Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469* con una media 7,5 y el control, un yogurt sin bacterias probióticas presentó una media de 4,6. Para Geldres G.² (Trujillo, 2014) El yogurt con probióticos produjo una media 14,9mm y el yogurt sin probióticos 6,6mm. Por otro lado, De Lama M.¹³ (Lima, 2015) para el grupo 3 la media fue 29mm y grupo 4 29,6mm. Lo hallado en los estudios analizados indican que los probióticos tienen efectos múltiples que inhiben la adhesión de los *Streptococcus Mutans*, produciendo efectos de inmunomodulación, que compiten con las toxinas por los receptores de éstas, y por supuesto, por los nutrientes. (Tabla 3)
4. Paralelamente, se comparó los grupos mediante la prueba Post Hoc Duncan; demostrando que existen diferencias entre los grupos; siendo el

yogurt Laive probiótico quien presentó mayor efecto (9,53mm); mientras que el segundo grupo del yogur Laive (8,63mm) y Yoleit probiótico (8,64mm) son similares; sin embargo, el yogurt Yoleit no presentó efecto (0,00mm). Mientras que para Villacís A.⁷ (Ecuador, 2017) El yogurt A-B inhibe totalmente el crecimiento de *Streptococo mutans ATCC 25175* mientras que los 2 bioyogurts estudiados presentaron inhibición media y el yogurt convencional no logró algún efecto. Por su parte, para Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H.⁹ (China, 2017) observa que existe diferencia significativa entre los Grupos experimentales. Para Rebolledo M., Rojas E., Salgado F.¹¹ (Chile, 2014) los grupos se diferencian significativamente ($p=0,00$). Por su parte, para Ligue C., Quispe E.⁸ (Puno, 2017) existe una diferencia significativa a favor del (Yogur N°1). Para Velásquez C.¹² (Trujillo, 2015) existen diferencias significativas entre los grupos ($p<0,00$). Lozano L.³ (Trujillo, 2015) existe diferencia entre los grupos experimentales $p<0,00$; siendo que el yogurt comercial con probióticos produce mayor inhibición sobre el *Streptococcus Mutans* que el yogurt sin probióticos. De modo similar, para Geldres G.² (Trujillo, 2014) el yogurt con probióticos produjo mayor efecto que el yogurt sin probióticos. Mientras que, para Quispe G., Ríos T.¹⁴ (Lima, 2014) el yogurt con cepas probióticas produjo inhibición en el crecimiento de *Streptococcus Mutans*. Lo hallado y contrastado indica que el yogurt con probióticos podría utilizarse como un método preventivo para la disminución del riesgo cariogénico. (Tabla 4)

VI. Conclusiones

1. Se determinó que existe efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019 ($p=0,000$).
2. El yogurt Laive probiótico (9,53mm) presentó mayor efecto inhibitorio que el yogurt Laive (8,63mm) sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.
3. El yogurt Yoleit probiótico (8,64mm) presentó efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.
4. Al comparar el efecto inhibitorio de los yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019; se tiene que el yogurt Laive probiótico (9,53mm) presentó mayor efecto entre todos los grupos; seguido de Yoleit probiótico (8,64mm) y el Laive (8,63mm); mientras que el yogur Yoleit no presentó efecto alguno.

Aspectos complementarios

Recomendaciones

- ✓ Al coordinador de la clínica, sugerir a los alumnos de las clínicas integrales, que propongan el consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos como método preventivo, evitando así el desarrollo de caries dental en edades tempranas.
- ✓ A futuros investigadores, realizar estudios que comparen los yogures probióticos en otras marcas comerciales; asimismo que comparen entre ambos con la finalidad de identificar el mejor; del mismo modo evaluar el efecto más detallado de otros probióticos.
- ✓ Realizar investigaciones de tipo ensayo clínico controlado, utilizando cepas probióticas, con la finalidad de determinar el tiempo que prevalecen en la cavidad oral y su efectividad en el crecimiento del *Streptococcus Mutans*.

Referencias bibliográficas:

1. Nozari A, Motamedifar M, Seifi N, Hatamizargaran Z, Ali R M. The Effect of Iranian Customary Used Probiotic Yogurt on the Children's Salivary Cariogenic Microflora. J Dent (Shiraz) [Internet]. 2015 [citado 6 junio 2017];16(2):81-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445856/>
2. Geldres G. (Trujillo, 2014) en su tesis, Efecto de un bioyogurt comercial con probióticos sobre el crecimiento de *S. Mutans* en saliva de niños de 3 y 4 años de un Centro de Educación Inicial de Trujillo, 2014. [Tesis para optar el Grado de Bachiller en Estomatología]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2014. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/589/>
3. Lozano L. Efectividad de un yogur comercial con y sin cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* en saliva de niños de 3 a 5 años con caries, en la I.E. 81015 Carlos E. Uceda Meza, Trujillo 2014. [Tesis para optar el Grado de Bachiller en Estomatología]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/605/>
4. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus Mutans and dental caries. Rev CES [Internet]. 2014 [citado 11 julio 2017]; 26(1): 44-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005

5. Zalba J. Flichy A. Empleo de probióticos en odontología. Scielo.org.co. [Internet]. 2014 [citado 11 julio 2017]. 28(1): 49-50. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700012
6. Pérez A. Probióticos: ¿Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental? Rev Estomatol Herediana [Internet]. 2014 [citado 6 junio 2017]; 18(1): 65-68. Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/REH/article/viewFile/1856/1865>
7. Villacís A. Efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre *Streptococcus Mutans*. estudio in vitro. [Trabajo de Investigación para obtener el Título de Especialista en Odontopediatría]. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/12830/>
8. Ligue C., Quispe E. Estudio in vitro del efecto inhibitorio de dos yogures con cepas probióticas ante la proliferación del *Streptococcus Mutans* bucal- Puno 2017 [Tesis para optar el Título profesional de Cirujano dentista]. Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano; 2017. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5977/>
9. Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H. (China, 2017). Effect of Probiotic Lactobacilli on the Growth of *Streptococcus Mutans* and Multispecies Biofilms Isolated from Children with Active Caries. Med Sci Monit. 2017; 23: 4175-4181. doi: 10.12659/msm.902237.

10. Schewendicke F., Korte F., Dörfer C., Kneist S. Inhibition of *Streptococcus mutans* Growth and Biofilm Formation by Probiotics in vitro. *Caries Res.* Alemania, 2017; 51(2): 87-95. doi: 10.1159/000452960.
11. Rebolledo M., Rojas E., Salgado F. (Chile, 2014) en su estudio, Efecto de dos probióticos que contienen cepas de *Lactobacillus casei* variedad *Rhamnosus* y *Lactobacillus johnsonii* sobre el crecimiento in vitro de *Streptococcus Mutans*. *Int. J. Odontostomat.* 2014; 7(3): 415-419. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijodontos/v7n3/art13.pdf>
12. Velásquez C. Efectividad de dos bioyogures con bacterias probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans ATCC 25175* in vitro. [Tesis para optar el Grado de Maestría en Estomatología]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10345>
13. De Lama M. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) y *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863) contra *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus Sanguinis* (ATCC 10556) [Tesis para optar el Título profesional de Cirujano dentista]. Lima, Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2015. Disponible en: <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/handle/10757/582435/>
14. Quispe G., Ríos T. Efecto inhibitorio in vitro de un bioyogurt con cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans ATCC 2517*. *Rev. Estomat. Peruana online Visión Dental* [Internet]. 2014 [citado 5 junio 2017]; 16 (2): 3-6. Disponible en: http://www.visiondental.pe/_hemeroteca/rev58.pdf

15. González S, Pedroso L, Rivero M, Reyes V. Epidemiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años. Rev De Ciencias Médicas La Habana. [Internet]. 2014 [citado 17 julio 2017] 20(2). Disponible en: <http://revcmhabana.sld.cu/index.php/rcmh/article/view/382/632>
16. Catalá M., Cortés O. La caries dental: una enfermedad que se puede prevenir. An Pediatr Contin. [Internet]. 2014 [citado 17 julio 2017]; 12(3): 147-151. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-la-caries-dental-una-enfermedad-S1696281814701842>
17. Malathi, J., Vidya R. Los probióticos en odontología - una revisión, Biosci, Biotech. Res. Asia, [Internet]. 2014 [citado 6 junio 2017]; 11(1): 193-197. Disponible en: http://www.biotech-asia.org/absdoic.php?snoid=1253&fbclid=IwAR0r5nnboDN_0qUVs-XSrAZE5FgvPmoxTD0crh0R-HEPUTRbmKakOjRgv_k
18. Manzano C., Estupiñán D., Poveda E. Efectos clínicos de los probióticos: Qué dice la evidencia. Rev. Chil. Nutr. [Internet]. 2014 [citado 17 julio 2017]; 39(1): 98-110. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182012000100010
19. Glavina. D Gorseta K, Vranic DN, Mehulic K, Kozul K, Effect of LGG yogurt on streptococcusmutans and lactobacillus spp. Salivary counts in children. University of Zagreb. Croatia. Coll Antropol. [Internet] 2012. [citado 6 junio 2017]; 36(1):129-32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22816209>

20. Söderling M., Marttinen M., Haukioja L. Probiotic lactobacilli interfere with *Streptococcus mutans* biofilm formation in vitro. [Internet]. 2013 [citado 15 septiembre 2017]. 62(2): 618-622. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20835828>
21. Zapata C., Sepúlveda U., Rojano B. Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Probióticas y Antioxidantes de Yogurt Saborizado con Mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). Inf. tecnol. [Internet] 2015 [citado 17 julio 2017]; 26 (2): 17-28. Disponible en <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642015000200004>
22. Jiang Q, Stamatova I, Kainulainen V, Korpela R, Meurman J. Interactions between *Lactobacillus rhamnosus* GG and oral micro-organisms in an in vitro biofilm model. BMC Microbiology [Internet]. 2016 [citado 6 junio 2017]; 16(1):149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27405227>
23. Castañeda C. Probióticos, puesta al día, Rev Cub de Pediatr. [Internet]. 2018 [citado 6 marzo 2019]; 90(2): 286 – 298. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-7531201800020009
24. Parra R. Yogur en la salud humana. Rev. Lasallista Investig. [Internet] 2015 [citado 5 junio 2017]; 9 (2) 162-177. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492012000200017
25. Muñoz K, Alarcón M. Effect of Probiotics on Periodontal Conditions. Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral [Internet]. 2016

- [citado 5 junio 2017]; (3):136-139. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0718539110700562>
26. Vanegas C, González M, Arévalo E. Capacidad bactericida de *Bifidobacterium* sp. aislada de leche materna y de heces de neonatos, frente a los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, *Infectio*. [Internet]. 2015 [citado 5 junio 2017]; 14(4): 241-247. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14n4/v14n4a02.pdf>
27. Vera M. Elaboración y aplicación gastronómica del yogur [Tesis de licenciatura]. Argentina: Universidad de Cuenca; 2014.
28. Ruiz J. Ramírez M. Elaboración de yogurt con probióticos (*Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. *Rev. Fac. Agron.* [Internet] 2015 [citado 5 junio 2017]; 26: 223-242 Disponible en: http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/12/art06.pdf?fbclid=IwAR37g1IO6_-lYiOgjLgSxBtN838I87xp2b_JfqELYbyHHjjEpOUUzAg5qSE
29. Cardenas A, Alvites H, Valladares G, Obregón J, Vásquez V. Optimización mediante diseño de mezclas de sinéresis y textura sensorial de yogurt natural batido utilizando tres tipos de hidrocoloides. *Agroind Sci* 3 [Internet]. 2015 [citado 5 JUNIO 2017]; 3(1). Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/352/331>
30. Hernández R. Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6ª ed. México: Mc Graw Hill; 2014.
31. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015.

32. Ruíz J., Ramírez A. Elaboración de yogurt con probióticos (*Biodabacterium* spp. Y *Lactobacillus acidophilus*) e inulina. *Rev. Univ. Central de Venezuela*. 2009; 26: 223-242.
33. Shields C, O'Brien G, Maricic N. Genome-Wide Screens Reveal New Gene Products That Influence Genetic Competence in *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol*. 2017; 200(2): 508-517.
34. Miller H, Avilés A, Scott K. The collagen binding protein Cnm contributes to oral colonization and cariogenicity of *Streptococcus mutans* OMZ175. *Infect Immun*. 2015; 83(5): 2001–2010.
35. Bhadoria N, Gunwal MK, Suryawanshi H, Sonarkar SS. Antiadherence and antimicrobial property of herbal extracts (*Glycyrrhiza glabra* and *Terminalia chebula*) on *Streptococcus mutans*: An in vitro experimental study. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2019; 23(1): 73–77.
36. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. 2013; 33 (1).
37. Comité Institucional de Ética en Investigación. Código de ética para la investigación. 2ª ed. Chimbote: ULADECH Católica; 2019. pp. 2-3.

ANEXOS



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE

ANEXO 01: CARTA DE AUTORIZACIÓN



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 05 de noviembre del 2019

DR. EDGAR DAVID ZAVALETA VALVERDE
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Presente:

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de Coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Taller de Investigación III, nuestra alumna, SOLTILLA MEDINA, Mirla Ydeco; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de investigación titulado "COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO "IN VITRO" DE DOS YOGURES PROBIOTICOS SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175". Así mismo para realizar el presente trabajo se solicita el permiso respectivo para que nuestra alumna pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de investigación en las instalaciones del local que dignamente usted dirige.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES CHIMBOTE
CENTRO ULADECH CATOLICA TRUJILLO
[Firma]
Dr. José Pacheco Calderón
COORDINADOR DE LA CARRERA DE ODONTOLOGÍA

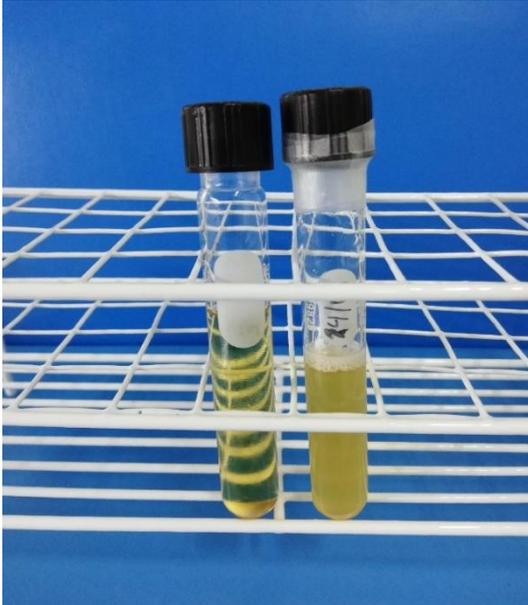
[Firma]
David Zavaleta Valverde
MCH B. C. 160
C.B. 241
Recibido 05/11/19

“ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL EFECTO INHIBITORIO DE DOS YOGURTS PROBIÓTICOS SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO, 2019”

Autor: Sotilla Medina, Mirla Ydeco.

Repeticiones	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)			
	TRATAMIENTOS			
	LAIVE	LAIVE PROBIÓTICOS	YOLEIT PROBIÓTICOS	YOLEIT
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				

Fuente: Velásquez C. (12) *Efectividad de dos bioyogures con bacterias probióticas sobre el crecimiento de Streptococcus Mutans ATCC 25175 in vitro. [Tesis para optar el Grado de Maestría en Estomatología]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015.*



Tubos con medio de cultivo BHI, conteniendo la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 reactivada (derecha), control (izquierda).



Colonia de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, después de su reactivación.



Tubo conteniendo *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 estandarizado a la concentración 1.5×10^8 UFC/ml

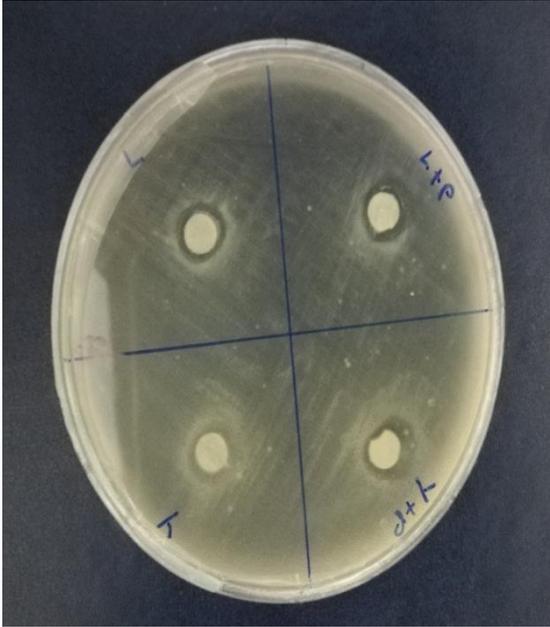




Con un hisopo estéril se sumerge en la suspensión, La suspensión bacteriana se distribuyó en tres direcciones, para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa.



Se tomó una placa Petri, y se introdujo un disco de antibiograma estéril, conteniendo el yogurt probiótico.



Se hizo la medición con un vernier digital, abarcando el diámetro del halo.



Resultados del yogurt Laive, Yoleit con probióticos y Laive y Yoleit sin probióticos.

CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS



Luego de realizar la Prueba de Normalidad y corroborar que los datos se distribuyen de manera normal o simétrica, se aplicó la prueba estadística Paramétrica ANOVA.

1. Planteamiento de hipótesis

- **H_i**: Existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.
- **H₀**: No existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

2. Nivel de confianza

Nivel de confianza = **0,95 (95%)**

Nivel de significancia: **$p = 0,05$ (5%)**

La significancia es el valor estándar y en base a ello se determinó si se acepta o se rechaza la hipótesis de investigación.

3. Establecimiento de los criterios de decisión

La prueba estadística se realiza en base a la hipótesis nula.

- Si el valor de significancia **$p > 0,05$** se acepta H_0 se rechaza H_i .
- Si el valor de significancia **$p < 0,05$** se rechaza H_0 ; se acepta H_i .

4. Cálculos

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

Tabla 5.- ANOVA: Efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Entre grupos	1086,515	3	362,172	1193,49	0,000
Dentro de grupos	20,635	68	0,303		
Total	1107,150	71			

Fuente: Análisis ANOVA- SPSS.

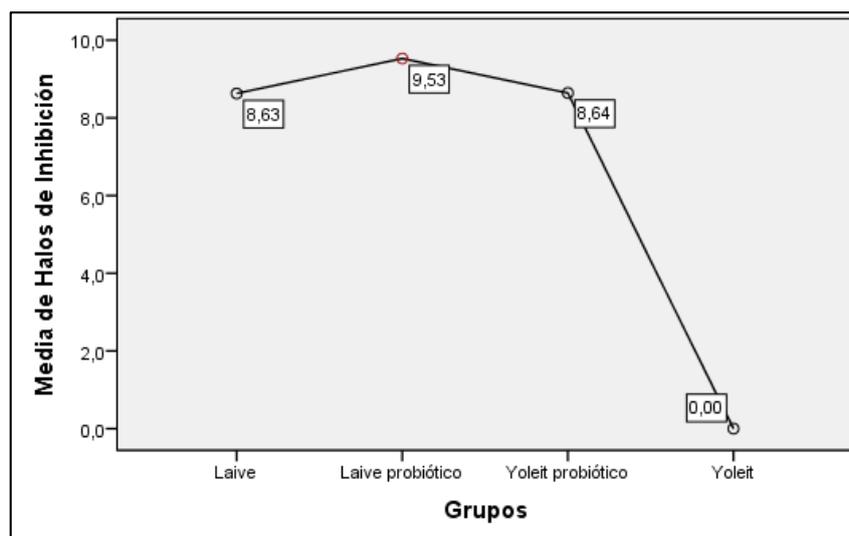
5. Decisión

La prueba ANOVA, arroja una significancia $p = 0,000 < 0,05$.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación.

✓ **H₀**: Existe diferencias entre el efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019.

Gráfico 5.- Efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019



Fuente: Análisis por SPSS.



Los datos fueron sometieron al tratamiento estadístico mediante el software IBM SPSS Statistics v.24, para verificar si las muestras provienen de una población con Distribución Normal o No Normal, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($n > 50$) o Shapiro-Wilk ($n \leq 50$) e indicar inicialmente:

➤ **Criterio para determinar Normalidad:**

- ✓ $p > 0,05$ Acepta H_0 = Los datos provienen de una Distribución Normal.
- ✓ $p < 0,05$ Acepta H_i = Los datos provienen de una Distribución No normal.

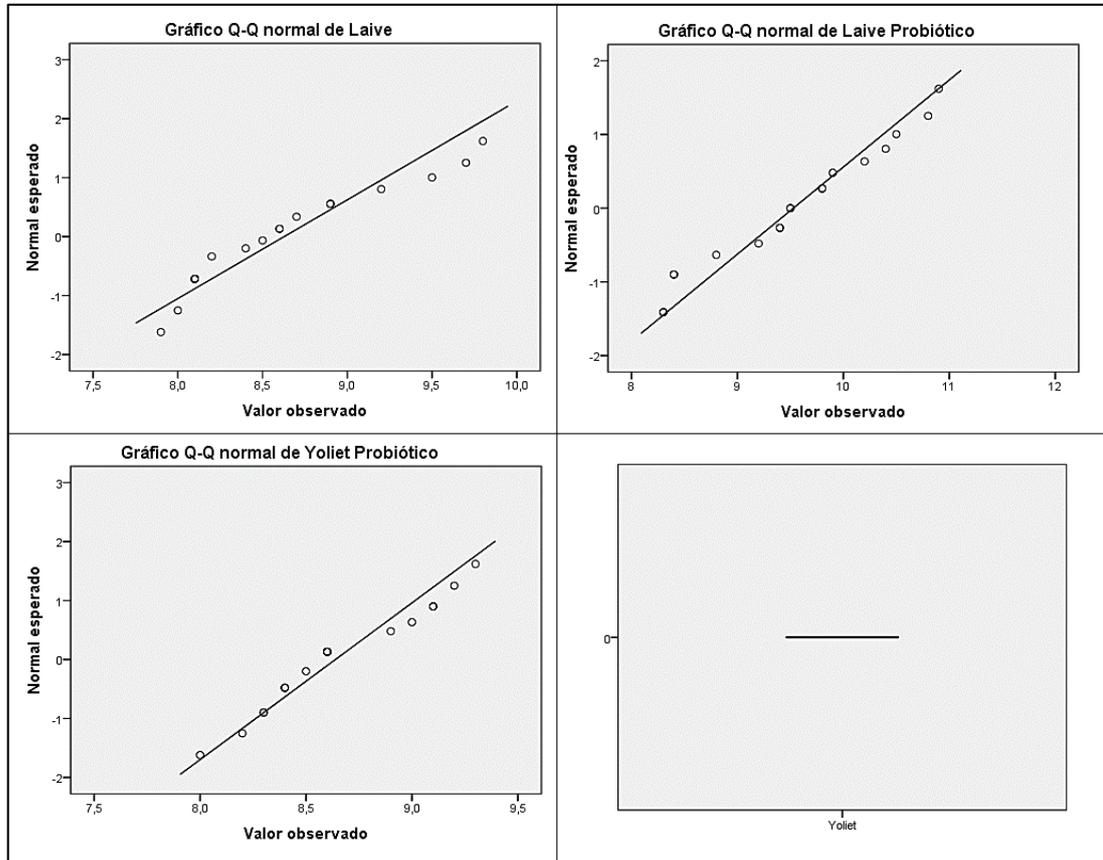
Tabla 6.- Prueba de normalidad para efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans ATCC 25175*, Trujillo, 2019

Grupos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Laive	0,902	18	0,063
Laive Probiótico	0,941	18	0,296
Yoliet Probiótico	0,941	18	0,300
Yoliet	*	18	*

Fuente: Análisis de SPSS. (*) Yoliet es constante. Se ha omitido o desestimado.

El resultado de la prueba de normalidad en base a Shapiro-Wilk ($n < 50$), muestra una significancia mayor al límite establecido ($p > 0,05$); lo que permite aceptar H_0 , demostrando que los datos provienen de una Distribución Normal; por ello se aplica la Prueba Paramétrica ANOVA; el cual es apto para estudios transversales de muestras independientes y más de dos grupos.

Gráfico 6.- Prueba de normalidad para efecto inhibitorio de dos yogurts probióticos sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo, 2019



Fuente: Análisis por SPSS.

Constancia de colaboración de **EDGAR DAVID ZAVALA VALVERDE**,
Microbiólogo en la ejecución del proyecto de investigación

CONSTANCIA

Yo, **EDGAR DAVID ZAVALA VALVERDE**, Microbiólogo- Docente de la Escuela de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro de C.B.P. 7941.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna **SOTILLA MEDINA MIRLA YDECO**, identificado con DNI 73252731, con domicilio legal en AV. LOS LAURELES MZ FLT 4, EL PORVENIR- TRUJILLO, estudiante de la Facultad de Ciencias de la salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada **COMPARACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE DOS YOGURES PROBIÓTICOS SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175**.

Trujillo, 13 de noviembre del 2019


Z. Zavaleta
MICROBIÓLOGO
C.B.P. 7941



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

ANEXO 7:

RESULTADOS



Estudio Comparativo In vitro del efecto inhibitorio de dos yogures probióticos sobre el *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, diámetros de los halos de inhibición del crecimiento (mm), método de Kirby Bauer

Autor: Sotilla Medina, Mirla Ydeco.

Repeticiones	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)			
	TRATAMIENTOS			
	LAIVE	LAIVE PROBIÓTICOS	YOLEIT PROBIÓTICOS	YOLEIT
1	8,7	8,8	8,6	0
2	9,5	10,9	8,5	0
3	9,7	10,8	9,3	0
4	9,8	10,5	9,1	0
5	9,2	10,2	8,6	0
6	7,9	9,4	9	0
7	8,5	9,8	8,4	0
8	8,6	9,2	9,1	0
9	8,1	10,4	9,2	0
10	8,2	8,3	8	0
11	8,1	8,4	8,3	0
12	8,9	9,4	8,6	0
13	8,4	9,5	8,4	0
14	8,9	9,9	8,3	0
15	8,6	9,8	8,2	0
16	8,1	8,3	8,6	0
17	8	8,4	8,9	0
18	8,1	9,5	8,4	0

ANEXO 8:

INSTRUMENTO DE MEDICIÓN: Vernier digital marca MITUYOYO

Numero de Modelo 500-151-30.



ANEXO 09:

CERTIFICACIÓN DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28** Reference Number: ATCC® 25175™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2018/10/24
--	--

Macroscopic Features: Two colony types: small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Performance Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
--	--

Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
---	---

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	---

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005