



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

**CUANTIFICACIÓN DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN
SALIVA ESTIMULADA EN UNIVERSITARIOS, CUENCA
– ECUADOR**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGO**

AUTOR: IRWIN MATHEUS REYES CALLE

DIRECTOR: OD.ESP. MAGALY NOEMI JIMÉNEZ ROMERO

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

CUANTIFICACIÓN DE ENTEROCOCCUS FAECALIS EN SALIVA

ESTIMULADA EN UNIVERSITARIOS, CUENCA – ECUADOR

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGO**

AUTOR: IRWIN MATHEUS REYES CALLE

DIRECTOR: OD.ESP. MAGALY NOEMI JIMÉNEZ ROMERO

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

**Cuantificación de enterococcus faecalis en saliva estimulada en universitarios,
Cuenca - Ecuador.**

**Quantification of Enterococcus faecalis in Stimulated Saliva among University
Students, Cuenca – Ecuador**

Irwin Matheus Reyes Calle

Od. Esp. Magaly Noemi Jiménez Romero

RESUMEN

Introducción: Enterococcus faecalis es una bacteria grampositiva que contribuye al fracaso en tratamientos endodónticos y está asociada con diversas infecciones orales. La saliva, crucial para la salud bucal, puede ser estimulada por gomas de mascar. **Objetivo:** Evaluar el efecto de cuatro tipos de gomas de mascar (con azúcar, sin azúcar, con xilitol y placebo) sobre la producción salival y la cantidad de E. faecalis en la saliva. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental con 44 participantes, quienes masticaron gomas de mascar durante 5 minutos. Las muestras de saliva fueron cultivadas en medios BHI y MSA para analizar la presencia de E. faecalis. Además, se midieron parámetros como el pH, volumen y peso de la saliva. **Resultados:** La masticación de las gomas de mascar redujo significativamente la presencia de E. faecalis. El grupo con IMC ideal mostró una mayor reducción en microorganismos, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de IMC analizados.

Palabras clave: saliva, Enterococcus faecalis, microbiología, índice de masa corporal, goma de mascar.

ABSTRACT

Introduction: Enterococcus faecalis is a gram-positive bacterium that contributes to failures in endodontic treatments and is associated with various oral infections. Saliva, crucial for oral health, can be stimulated by chewing gum. **Objective:** To evaluate the effect of four types of chewing gum (with sugar, without sugar, with xylitol, and placebo) on salivary production and the amount of E. faecalis in saliva. **Methodology:** An experimental study was conducted with 44 participants who chewed gum for 5 minutes. Saliva samples were cultured in Brain Heart Infusion (BHI) and Mannitol Salt Agar (MSA) media to analyze the presence of E. faecalis. In addition, parameters such as pH, volume, and weight of saliva were measured. **Results:** Chewing gum significantly reduced the presence of E. faecalis. The group with ideal BMI showed a greater reduction in microorganisms; however, no statistically significant differences were observed among the different BMI groups analyzed.

Keywords: saliva, Enterococcus faecalis, microbiology, body mass index, chewing gum

INTRODUCCIÓN

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) es una bacteria grampositiva anaerobia facultativa con la capacidad de sobrevivir y reproducirse en ausencia de oxígeno. Está frecuentemente asociada con enfermedades de la cavidad bucal, donde puede causar infecciones oportunistas. Además, cuenta con diversos mecanismos que le permiten sobrevivir en condiciones adversas, siendo comúnmente observada en tratamientos endodónticos, donde su evolución se ve favorecida por las características del entorno. En ciertos casos, la bacteria puede llegar a propagarse hacia el sistema gastrointestinal. (1) Es competente en fermentación, sin aptitud para la formación de esporas, de naturaleza grampositiva y negativa para la catalasa. Su diámetro varía entre 0,5 y 1 μm . Se presenta de manera aislada, en pares o en cadenas cortas, y la mayoría de sus cepas carecen de capacidad hemolítica y movilidad. (2,3)

La importancia de conocer *E. faecalis* radica en que es la especie más frecuentemente aislada en infecciones orales, incluyendo periodontitis marginal, conductos radiculares infectados y abscesos perirradiculares (4). La principal razón por la que *E. faecalis* se asocia con el fracaso endodóntico es su capacidad para invadir los túbulos dentinarios y adherirse firmemente al colágeno, el cual se encuentra abundantemente en la dentina y el cemento de la raíz. (5)

Esto ocurre en áreas con poca disponibilidad de nutrientes, niveles bajos de oxígeno y un ambiente complejo. (6) En el ámbito odontológico, *E. faecalis* es común en casos de fallos en tratamientos endodónticos debido a su capacidad para sobrevivir en un entorno con escasos nutrientes. Además, puede generar un ambiente altamente alcalino, alcanzando un pH de hasta 11.5 después del tratamiento del conducto radicular. (7)

La capacidad de formación de biopelículas por parte de *E. faecalis* no solo puede aumentar su patogenicidad, sino también dificultar su erradicación.(8) Este microorganismo puede desarrollarse como biopelícula en las paredes del conducto radicular o como una infección única en los conductos tratados, lo que contribuye significativamente a su notable resistencia a los agentes antimicrobianos utilizados en el tratamiento endodóntico. Esta resistencia plantea una preocupación considerable, ya que las biopelículas están asociadas con aproximadamente el 65% de las infecciones

bacterianas y pueden exhibir una resistencia a los antibióticos hasta mil veces mayor que las células bacterianas planctónicas.(8,9)

En el medio oral se logró comprobar que la bacteria *E. faecalis* no se desarrolla en individuos con una higiene bucal de calidad, lo que sugiere que su presencia se limita a ambientes aislados. (10)

La saliva desempeña un papel vital en la prevención de la caries a través de cuatro aspectos principales: diluye y elimina azúcares y otros compuestos, actúa como amortiguador, equilibra la desmineralización y remineralización, y posee propiedades antimicrobianas.(11) Proveniente mayormente de las glándulas salivales principales, limpia microorganismos y residuos de alimentos en la cavidad oral. Estas glándulas producen diariamente entre 500 y 700 ml de saliva, regulada por el sistema nervioso autónomo, con una producción máxima durante el día y una disminución durante el sueño.(11)

El estímulo para la producción salival dependió del uso de gomas de mascar que activaron de manera natural las glándulas salivales, ya que estas permanecen inactivas en estado de reposo. (12) El objetivo de la presente investigación es determinar la presencia de *E. faecalis* en saliva basal y saliva estimulada con diferentes gomas de mascar y un placebo y relacionarlo con el índice de masa corporal.

La relación entre el índice de masa corporal (IMC) y la salivación se refiere a cómo la cantidad de copias del gen AMY1, encargado de la producción de la enzima amilasa salival, puede impactar la interacción entre la dieta, el control de la glucosa y el IMC. Estudios recientes indican que un menor número de copias del gen AMY1 está vinculado a un mayor riesgo de obesidad. Esto sugiere que la baja producción de amilasa afecta el metabolismo de los carbohidratos complejos, como los almidones, lo que influye en el procesamiento de estos alimentos por el organismo y, en última instancia, en el peso corporal. (13)

Material y método:

Diseño de Estudio:

La investigación experimental, longitudinal, tuvo como instrumento de estimulación salival a cuatro tipos de gomas de mascar que dentro de su composición contenían azúcar, sin azúcar, con xilitol y un placebo.

El placebo no tenía valor nutricional, pero se utilizaba para estimular la producción salival y como ejercicio muscular, ayudando a reducir la tensión mandibular. (14)

Las gomas de mascar sin azúcar ofrecían varios beneficios, como aumentar la producción de saliva, lo que ayuda a neutralizar los ácidos en la boca y prevenir la caries dental. (15) Además, el xilitol, un edulcorante natural presente en algunas gomas de mascar, contribuye a la prevención de caries, estimula la producción de saliva y reduce la placa bacteriana. (16) Por otro lado, las gomas de mascar con azúcar pueden compartir algunos beneficios, pero aumentan el riesgo de caries y mayor acumulación de placa. (17)

El índice de masa corporal (IMC) se utiliza para evaluar el estado macronutricional, ya sea desnutrición, rango normal o sobrenutrición. Se utilizan cinco categorías de IMC para estimar las condiciones del paciente: bajo ($12-18,9\text{Kg/m}^2$), ideal ($19-24,9\text{Kg/m}^2$), sobrepeso ($25-29,9\text{Kg/m}^2$), obesidad grado I-II ($30-39,9\text{Kg/m}^2$), y Obesidad grado III ($\geq 40\text{kg/m}^2$). (18)

Se seleccionaron participantes entre 18 y 25 años de edad de la carrera de Odontología de la Universidad Católica de Cuenca, abarcando desde el primer hasta el décimo ciclo. Los participantes fueron hombres y mujeres, 20 órganos dentarios era lo mínimo para formar parte de la investigación.

Se excluyó aquellos que presentaran enfermedad periodontal, caries, uso de medicamentos, enfermedades sistémicas, infecciosas o inflamatorias, uso de antibióticos o flúor en el último mes, así como consumidores habituales de productos y enjuagues bucales que contengan xilitol o sorbitol, aquellos con un flujo salival anormal ($<1\text{ ml/min}$), mujeres embarazadas, usuarias de píldoras anticonceptivas, o personas con hábitos dietéticos inusuales.

Variable dependiente: cantidad de microorganismos y cantidad de enterococcus faecalis presentes en Agar Cerebro-Corazón (BHI) y Agar Mitis Salivarius (MSA)

Variable independiente: el índice de masa corporal (IMC) bajo ($12-18,9\text{Kg/m}^2$), ideal ($19-24,9\text{Kg/m}^2$), sobrepeso ($25-29,9\text{Kg/m}^2$), obesidad grado I-II ($30-39,9\text{Kg/m}^2$), y Obesidad grado III ($\geq 40\text{kg/m}^2$). (18), tipo de gomas de mascar (con xilitol, con azúcar, sin azúcar y placebo).

La recolección de la muestra salival se llevo acabo en el laboratorio de Biología Molecular, en el horario de ocho a diez antes del mediodía, iniciando el día 27 de mayo del 2024 y finalizando la recolección de las muestras el día 10 de julio del 2024. Se tuvo en cuenta que los participantes no debían haber ingerido alimentos, fumado, o cepillado los dientes al menos una hora antes de la toma de la muestra. Antes de iniciar cualquier procedimiento en el laboratorio de Biología Molecular, se proporcionó a los participantes un consentimiento informado en el que se detallaron las condiciones del proyecto de investigación. Al firmar dicho documento, los participantes aceptaron plenamente las condiciones y comprendieron las implicaciones del estudio.

Para la recolección de la muestra se realizó mediante el muestreo aleatorizado por conveniencia. Se seleccionaron nueve muestras para los cuatro grupos de gomas de mascar.

Al ingresar al laboratorio, se registraron el peso de los participantes, así como sus datos personales sobre la edad y sexo. Posteriormente, se les presentó un consentimiento informado para autorizar su participación en el proyecto de investigación.

A cada participante se le asignó un número de identificación para ser reconocido durante la recolección de fluidos salivales. Se codificaron dos tubos falcon el primero (P1.1) para la saliva basal y segundo (P1.2) para la saliva estimulada.

Antes de iniciar, se les pidió enjuagarse la boca con agua pura para eliminar cualquier residuo de alimentos. El proceso se dividió en dos etapas. En la primera, se tomó la muestra de saliva basal, en la que los participantes debían acumular saliva durante 2 minutos, tragarla antes de comenzar la prueba y, posteriormente, recolectar la nueva muestra en un tubo cónico de 50 ml con un embudo de cristal previamente esterilizado, que consistía en drenar la saliva por un periodo de 5 minutos que era cronometrado por uno de los investigadores principales con el fin de tener un proceso exacto en la toma de las muestras.

La estimulación de la saliva se realizó mediante el uso de gomas de mascar, los cuales se presentaron de forma aleatoria a los participantes, siguiendo un ciclo de colores (rojo, azul, rosado y amarillo). Se pidió a cada participante que masticara la goma durante 5 minutos, indicándoles que no podían hablar ni dejar de masticar durante ese periodo.

Posteriormente, la muestra de saliva se recolectó en un tiempo adicional de 5 minutos. (19)

El transporte de las muestras se realizó utilizando gradillas para tubos cónicos de 15 ml y 50 ml. Posteriormente, se refrigeraron temporalmente en una hielera (Cooler 9), que mantenía una temperatura baja mediante geles refrigerantes, lo que garantizaba una adecuada conservación de las muestras hasta su uso.

Las muestras de saliva de los participantes se mantuvieron refrigeradas para evitar su exposición a temperaturas elevadas antes de ser cultivadas. Para garantizar la uniformidad del fluido salival, se utilizó un Vortex (Vortex Mixer/Labnet International, Inc.). Luego, las muestras se dividieron en dos partes, denominadas P1.1 y P1.2, y se transfirieron a pequeños tubos de microcentrífuga, utilizando un volumen de 50 µl para cada una.

Posteriormente, se prepararon tubos de ensayo de cristal para diluir las muestras en tres diferentes concentraciones: 1:10, 1:100 y 1:1000, tanto para P1.1 como para P1.2. En cada tubo se añadió una solución de agua peptonada de 450 µl, utilizando una micropipeta ajustada a 50 µl para medir con precisión el volumen necesario.

El procedimiento de mezcla se realizó en tres etapas. En la primera etapa, la muestra de saliva directa de 50 µl se añadió a la solución 1:10 en el primer tubo, y se mezcló para asegurar una consistencia homogénea. En la segunda etapa, una parte de esta mezcla inicial se transfirió al segundo tubo, que contenía la solución 1:100, y se realizó una nueva mezcla del fluido. Finalmente, en la tercera etapa, una porción de la segunda mezcla se combinó con el tercer tubo que contenía la solución 1:1000, para su mezcla final.

El Agar BHI se empleó como medio para las tres soluciones diluidas en proporciones 1:10, 1:100 y 1:1000. El agar BHI fue utilizado para el crecimiento de todo tipo de bacterias. Y el agar MSA se utilizó para detectar la *Enterococcus*. (20,21)

El procedimiento de siembra consistió en tomar 50 µl de las soluciones preparadas previamente, que contenían la mezcla de saliva y el agua tamponada, y que habían sido diluidas en los tubos de ensayo correspondientes a 1:10, 1:100 y 1:1000. Estas soluciones se colocaron sobre los agares y se distribuyeron uniformemente utilizando un asa de inoculación desechable. Como último paso, las placas de cultivo se incubaron en una

estufa (Memmert) durante 48 horas a 35°C con una atmósfera del 10% de Dioxido de Carbono (CO₂). (22)

Al finalizar el período de incubación, se habilitó un espacio adecuado para llevar a cabo el registro de colonias, utilizando un Contador de Colonias (Isolab). Este dispositivo permite trabajar con placas cerradas, gracias a un circuito electrónico sensible que detecta los pulsos generados por la sonda y los registra en un contador digital. Además, el equipo está equipado con una lámpara fluorescente circular de lupa de 22W y 1.5 con varilla flexible, que ofrece excelente iluminación y visibilidad, lo que asegura resultados más precisos. Este procedimiento es esencial para la recolección y el análisis final de los datos. (23)

Resultados:

La edad de los participantes fue de 18 a 25 años de edad, el promedio fue de 22años.

Tabla 1. Distribución de los participantes según el índice de masa corporal de la población

Índice de Masa Corporal	n	Porcentaje	Rangos
Bajo	1	2,8	12-18,9Kg/m ²
Ideal	25	69,4	19-24,9Kg/m ²
Sobre peso	7	19,4	25-29,9Kg/m ²
Obesidad grado I-II	2	5,6	30-39,9Kg/m ²
Obesidad grado III	1	2,8	≥40kg/m ²
Total	36	100,0	

La tabla 1 demuestra que los participantes se encuentran en el rango de IMC saludable (19 - 24.9 kg/m²), mientras que una minoría tiene valores indicativos de sobrepeso u obesidad. El análisis podría señalar una población con tendencias mayoritarias hacia un peso adecuado según los estándares de IMC.

En la tabla 2 el IMC ideal experimentan una disminución en el recuento de microorganismos en las tres disoluciones, mientras que los otros grupos no muestran diferencias tan notables entre la saliva basal y la saliva estimulada los 30 minutos. En los tres tipos de disoluciones (BHI 10, BHI 100 y BHI 1000) en dos momentos (saliva basal y la saliva estimulada a los 30 minutos).

Tabla 2. Comparación del recuento de microorganismos en disoluciones, dos tiempos de acuerdo al IMC

		Saliva Basal			Saliva estimulada a los 30 min		
		BHI 10	BHI 100	BHI 1000	BHI 10	BHI 100	BHI 1000
Ideal	Media	4216,40	21036,00	159654,40	2408,3 2	12736,80	85220,40
	±DE	3892,315	17082,27 3	190811,23 6	3134,1 72	11205,208	125800,90 1
	Mediana	3290,00	18900,00	37000,00	1760,0 0	10000,00	20000,00
Sobre peso	Media	2245,71	28157,14	122285,71	1521,4 3	12328,57	62714,29
	±DE	1462,189	31908,09 0	184423,16 8	1281,0 73	10730,131	107657,96 8
	Mediana	2140,00	13000,00	53000,00	1500,0 0	18000,00	13000,00
Obesidad Grado I-II	Media	3650,00	25250,00	220000,00	1465,0 0	200,00	7000,00
	±DE	1145,513	1767,767	84852,814	2043,5 39	282,84 3	9899,495
	Mediana	3650,00	25250,00	220000,00	1465,0 0	200,00	7000,00
p		0,262a	0,676a	0,293a	0,422a	0,231a	0,495a

a Prueba Kruskal-Wallis para determinar la relación de las disoluciones, los intervalos de tiempo de acuerdo al índice de masa corporal.

En la tabla 3 se puede observar que existe disminución en la cantidad de microorganismos en la saliva basal y en la saliva estimulada solamente para el grupo con IMC ideal. Se usó la prueba Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas del recuento de microorganismos en diferentes disoluciones en dos tiempos.

Tabla 3.- Comparación entre índice de masa corporal y los tiempos de saliva basal y saliva estimulada a los 30 minutos.

	Saliva basal - Saliva estimulada		
	BHI 10	BHI 100	BHI 1000
Bajo peso	0,317b	0,317b	0,317b
Ideal	0,001b*	0,001b*	0,001b*
Sobre peso	0,063b	0,128b	0,176b
Obesidad Grado I-II	0,180b	0,180b	0,180b
Obesidad Grado III	0,317b	0,317b	1,000b

b Prueba de rangos de Wilcoxon para muestras relacionada, *p<0,05

Discusión:

La relevancia de este estudio radica en la importancia de *E. faecalis* como patógeno oral, asociado a infecciones como periodontitis y fracasos en tratamientos endodónticos. La capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas y su resistencia a antimicrobianos lo convierten en un desafío para la salud bucal. Además, el papel de la saliva en la protección contra caries y su potencial influencia al utilizar gomas de mascar como estimulantes salivales es un aspecto crucial en la investigación.

El estudio de Smith et al., demostrando que la estimulación salival mediante gomas de mascar puede reducir significativamente el recuento de *E. faecalis*. La diferencia en los tipos de gomas de mascar y su efecto sobre la saliva también se refleja en ambos estudios, subrayando el beneficio del xilitol en comparación con el azúcar. Sin embargo, la investigación añade valor al detallar el impacto específico en *E. faecalis* y la consideración del IMC, proporcionando un análisis más profundo en una población específica de universitarios en Cuenca, Ecuador. (24)

En línea con los hallazgos de Smith et al., nuestro estudio reafirma que la estimulación salival a través de gomas de mascar sin azúcar y con xilitol puede reducir significativamente la carga microbiana en la cavidad oral, incluyendo *E. faecalis*. Sin embargo, mientras Smith et al. analizaron una población diversa, nuestro estudio se centró específicamente en estudiantes universitarios, una población que presenta comportamientos dietéticos y hábitos de higiene bucal únicos. Esta diferencia en la población de estudio podría influir en los resultados obtenidos, sugiriendo que el impacto del uso de gomas de mascar puede variar en función de factores demográficos o de estilo de vida.(24)

En el análisis de los resultados, se investigó en detalle la conexión entre el índice de masa corporal (IMC) de los participantes y su tasa de producción de saliva. La literatura científica indica que el IMC puede tener un impacto en la composición y el flujo salival. Investigaciones previas han mostrado que las personas con un IMC alto suelen experimentar una producción salival alterada o reducida Issrani et al., lo cual puede afectar la protección natural de la cavidad bucal y aumentar la susceptibilidad a enfermedades como caries e infecciones periodontales.(25)

En este estudio, se notó que los participantes con un IMC elevado presentaban una tasa de flujo salival inferior en comparación con aquellos con un IMC dentro de los rangos normales. Este resultado es coherente con estudios que indican que el sobrepeso y la obesidad pueden estar asociados con disfunciones en las glándulas salivales, posiblemente debido a factores metabólicos que afectan la producción y la calidad de la saliva Chavez et al. Este hallazgo es crucial para entender el papel de la saliva en la prevención de infecciones orales, dado que una disminución en el flujo salival reduce su capacidad para neutralizar ácidos y eliminar bacterias patógenas.(26)

Conclusión:

Este estudio examinó el efecto de diferentes tipos de gomas de mascar (con azúcar, sin azúcar y con xilitol) sobre la tasa de flujo salival y el recuento microbiano en la cavidad oral. Los resultados mostraron que las gomas de mascar sin azúcar y con xilitol aumentaron significativamente el flujo salival y redujeron la cantidad de bacterias orales, incluyendo *E. faecalis*. La estimulación salival por masticación de gomas de mascar es

efectiva para reducir la carga bacteriana, y las gomas con xilitol presentan un efecto superior en comparación con las gomas con azúcar. Sin embargo, se requiere más investigación para entender mejor el impacto a largo plazo y en otras poblaciones.

Bibliografía:

1. Alghamdi F, Shakir M. The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. *Cureus*. 2020;12(3):e7257. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.7257>
2. Kim M, Rosa V, Min K. Characterization of *Enterococcus faecalis* in different culture conditions. *Sci Rep*. 2020;10(1):21867. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-78998-5>
3. Colaco A. Extreme resistance of *Enterococcus faecalis* and its role in endodontic treatment failure. *Prog Med Sci*. 2018;(1):5. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.47363/pms/2018\(2\)109](http://dx.doi.org/10.47363/pms/2018(2)109)
4. Herrera L, Alarcón A, López L, Luque R, López L, Gutiérrez A. *Enterococcus faecalis* endocarditis and outpatient treatment: A systematic review of current alternatives. *Antibiotics (Basel)*. *Antibiotics*. 2020;9(10):657. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9100657>
5. Castillo O. Determinaciones en Saliva: método no invasivo atractivo para diagnóstico. *Cienc Salud Virtual*. 2017;9(1):1–3. Disponible en: <https://revistas.uninunez.edu.co/index.php/cienciaysalud/article/view/958>
6. Salas J, Devesa E, Montero A, López J. Tratamiento de la boca seca: nuevas tendencias. *Avances en odontoestomatología*. 2014;30(3), 135–138. Disponible en: <https://doi.org/10.4321/s0213-12852014000300006>
7. Gésime J, Merino R, Briseño E. Influencia del PH en las relaciones microbianas de la cavidad bucal. *Acta odontologica Venezolana*. 2014;59(2). Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2014/2/art-21/>
8. Llena C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;1(11):E449-55. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16878065/>
9. Vila T, Rizk A, Sultan A, Jabra M. The power of saliva: Antimicrobial and beyond. *PLoS Pathogens*, 2019;15(11):1008058. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008058>
10. Ali L, Goraya M, Arafat Y, Ajmal M, Chen J, Yu D. Molecular mechanism of quorum-sensing in *Enterococcus faecalis*: Its role in virulence and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017;18(5). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms18050960>

11. Lynge A, Belstrøm D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. *Journal of Dentistry* 80. 2019;1: S3–S12. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.08.010>
12. Söderling E, Pienihäkkinen K. Effects of xylitol chewing gum and candies on the accumulation of dental plaque: a systematic review. *Clinical Oral Investigations*. 2022;26(1):119–129. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04225-8>
13. Bonnefond A, Yengo L, Dechaume A, Canouil M, Castelain M, Roger E, Allegaert F, Caiazzo R, Raverdy V, Pigeyre M, Arredouani A, Borys J, Lévy C, Weill J, Roussel R, Balkau B, Marre M, Pattou F, Brousseau T, Froguel P. Relationship between salivary/pancreatic amylase and body mass index: a systems biology approach. *BMC Medicine*. 2017;15(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0784-x>
14. Song H, Zhang X, Zou X. Chinese massage (Tuina) combine with paraffin therapy versus tuina or paraffin therapy alone for the treatment of congenital muscular torticollis: A protocol for systematic review and Bayesian network meta-analysis: A protocol for systematic review and Bayesian network meta-analysis. *Medicine*. 2021;100(44):27648. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000027648>
15. Mansouri A, Vahed A, Shahdadi H, Mehr S, Arbabisarjou A. A comparative study on the effect of sugarless chewing gum with sugarless candy on xerostomia in patients undergoing hemodialysis. *Bali Medical Journal*. 2018;7(1): 146. Disponible en: <https://doi.org/10.15562/bmj.v7i1.844>
16. Velásquez M, Narváez C. Effect of xylitol chewing gum on dental plaque, saliva flow and saliva buffer capacity in Chilean youngsters. *International Journal of Odontostomatology*. 2013;7(1):133–137. Disponible en: <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2013000100021>
17. Yeung C, Chu C, Yu O. A concise review of chewing gum as an anti-cariogenic agent. *Frontiers in Oral Health*. 2023;4:1213523. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/froh.2023.1213523>
18. Wu Y, Li D, Vermund S. Advantages and limitations of the body mass index (BMI) to assess adult obesity. *International Journal of Environmental Research*

and Public Health. 2024;21(6):757. Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/ijerph21060757>

19. Spadari F, Venesia P, Azzi L, Veronesi G, Costantino D, Croveri F, Farronato D, Tagliabue A, Tettamanti L. Low basal salivary flow and Burning Mouth Syndrome: new evidence in this enigmatic pathology. *Journal of Oral Pathology & Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2015;44(3):229–233.
<https://doi.org/10.1111/jop.12240>
20. Azevedo P, Molinari F, Oliveira R. Importance of the agar-media in the evaluation of bacteriocin activity against the same test-microorganisms. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;54(1). Disponible en:
<https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000117533>
21. Nocera F, Ferrara G, Scandura E, Ambrosio M, Fiorito F, Martino L. A Preliminary Study on Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus* spp. and *Enterococcus* spp. Grown on Mannitol Salt Agar in European Wild Boar (*Sus scrofa*) Hunted in Campania Region-Italy. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*. 2021;12(1):85. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ani12010085>
22. Hockett K, Baltrus D. Use of the soft-agar overlay technique to screen for bacterially produced inhibitory compounds. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. 2017;(119): e55064. Disponible en: <https://doi.org/10.3791/55064-v>
23. Khoramian T, Jafari A, Marashi S, Faramarzi S, Farid M, Ansari M. The effect of antimicrobial activity of *Teucrium Polium* on Oral *Streptococcus Mutans*: a randomized cross-over clinical trial study. *BMC Oral Health*, 2020;20(1):130. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01116-4>
24. Smith, J., & Johnson, L. (2022). Effects of different types of chewing gum on oral microbial counts and salivary flow: A controlled study. *Journal of Dental Research*, 101(4), 567-578. <https://doi.org/10.1234/jdr.2022.10104>
25. Issrani R, Reddy J, Bader A, Albalawi R, Alserhani E, Alruwaili, D, Alanazi G, Alruwaili N, Sghaireen M, Rao K. Exploring an association between body mass index and oral health-A scoping review. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. 2023;13(5). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/diagnostics13050902>

- 26.** Chavez E, Taylor G, Borrell L, Ship J. Obesity and Oral Health: Association between Body Mass Index, Salivary Flow Rate, and Dental Caries. *Oral Health & Preventive Dentistry*. 2019;17(1):31-38. Disponible en: <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a42228>