

Efecto de la *Stevia rebaudiana* en el crecimiento del *Streptococcus mutans*

Effect of *Stevia rebaudiana* on the growth of *Streptococcus mutans*

Tania Diaz Mendoza ^{1,a}, Roman Mendoza Lupuche ^{2,b}

RESUMEN

Objetivos: Comparar el efecto de la *Stevia rebaudiana* en concentraciones al 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*. **Materiales y Métodos:** La investigación fue experimental *in vitro*. Se emplearon los edulcorantes de *Stevia rebaudiana* de las marcas "Stevita" y "Stevia vía" sobre cepas de *S. mutans* ATCC 35668. Se sembraron las cepas en placas de Petri, conteniendo agar de Mueller Hinton, y el cultivo fue incubado, en una jarra de microaerofilia, en una atmósfera de CO₂, durante 24 y 48 horas a 35 °C. Ambos edulcorantes fueron diluidos en agua destilada, para destinar 100 ul de las disoluciones en pocillos de 6 mm. de diámetro. Finalmente, los halos de inhibición se midieron con un calibrador Vernier. **Resultados:** Para el análisis estadístico se utilizó la prueba t de Student, con un nivel de significancia (p<0.05). La concentración mínima inhibitoria (CMI) de la *Stevia rebaudiana* "Stevia vía" sobre el cultivo del *S. mutans* fue de 25 mcg. y 50 mcg. encontrándose un p=0.01. Con la aplicación de este edulcorante, se observaron halos de inhibición en las cepas de *S. mutans* de 11.6 mm y 12 mm. con las concentraciones de 25 mcg. y 50 mcg, respectivamente. Con el edulcorante de *Stevia rebaudiana* "Stevita", se observaron halos de inhibición de 6 mm. de diámetro en ambas concentraciones. **Conclusiones:** El uso del edulcorante *Stevia rebaudiana* "Stevia Vía" tuvo un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: Edulcorante natural; *Stevia rebaudiana*; Agente cariogénico; *Streptococcus mutans*. (Fuente: [DeCS BIREME](#))

ABSTRACT

Objective To compare the effect of *Stevia rebaudiana* in concentrations of 25 mcg. and 50 mcg. in the growth of *Streptococcus mutans*. **Materials and Methods:** The research was experimental *in vitro*. It was used *Stevia rebaudiana* sweeteners from the brands "Stevita" and "Stevia via" on *S. mutans* strains ATCC 35668. The strains were seeded in Petri dishes, containing Mueller Hinton agar, and the culture was incubated, in a microaerophilic jar, in a CO₂ atmosphere, for 24 and 48 hours at 35 ° C. Both of them sweeteners were diluted in distilled water, to allocate 100 ul of the solutions in 6 mm wells. of diameter. Finally, the inhibition halos were measured with a Vernier caliper. **Results:** For a statistical analysis a t student test was used, with a significance level (p <0.05). The minimum inhibitory concentration (MIC) of *Stevia rebaudiana* "Stevia Via" on the culture of *S. mutans* was 25 mcg. and 50 mcg. where it was found a p = 0.01. with the application of this sweetener, inhibition halos were observed in the strains of *S. mutans* of 11.6 mm and 12 mm. with concentrations of 25 mcg. and 50 mcg, respectively. With the sweetener from *Stevia rebaudiana* "Stevita", inhibition halos of 6 mm of diameter were observed in both concentrations. **Conclusions:** The use of the sweetener *Stevia rebaudiana*: *Stevia Vía* had an inhibitory effect on *Streptococcus mutans* strains.

Key words: Natural sweetener; *Stevia rebaudiana*; Cariogenic agent; *Streptococcus mutans*. (Source: [MeSH NLM](#))

Recibido: 11 de Mayo de 2021

Aprobado: 06 de Julio de 2021

En línea: 08 de Julio de 2021

¹ Clínica odontológica Care.

² Facultad de Odontología, Universidad Nacional Federico Villarreal. Lima, Perú.

^a Maestría en docencia e investigación en estomatología, Especialista en Cariología y Endodoncia.

^b Doctor en Odontología, Especialista en Periodoncia e implantes

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0)
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>

Correspondencia:

Tania Diaz Mendoza

Teléfono: +51 987 202 150

Correo electrónico: drataniadiaz@gmail.com



Citar como: Diaz Mendoza T, Mendoza Lupuche R. Efecto de la *Stevia rebaudiana* en el *Streptococcus mutans*. KIRU. 2021 Jul-Set; 18(3): 147- 152. <https://doi.org/10.24265/kiru.2021.v18n3.03>

INTRODUCCIÓN

Se viene adicionando el uso de los edulcorantes como un suplemento de la sacarosa en el régimen de la alimentación diaria en los últimos tiempos, debido a que muchos de los productos que consumimos contienen en su valor nutricional alto nivel de azúcar, lo cual conlleva a seguir incrementando la lesión cariosa. La Organización Mundial de salud (OMS), sugiere un equivalente a menos de un vaso de 250 mL de bebidas azucaradas al día, las necesidades energéticas totales deben ser menores al 10% de la ingesta de azúcares libres. La lesión cariosa es una enfermedad que está condicionada a los malos hábitos de la alimentación, por lo tanto, se requiere una adecuada asesoría dietética, para así mejorar la salud bucal de la población, se debería considerar dentro de sus hábitos alimenticios el uso de los edulcorantes a base de *Stevia rebaudiana*, en el mercado nacional es encontrado en presentaciones de polvo y líquido, comercialmente con el nombre de Stevia. Es importante incentivar su consumo debido a sus propiedades anticariogénicas del Esteviosídeo y rebaudiósido A. Estos son usados en diversos productos alimenticios que no generan la formación de lesión cariosa debido a que no es fermentativo y no es metabolizado por los microorganismos bucales, en su acción antimicrobiana tiene la habilidad para inhibir el incremento, reproducción de bacterias, además de no producir lesión cariosa ⁽¹⁾.

El origen de los edulcorantes de Stevita y Stevia vía es a partir de la *Stevia rebaudiana Bertoni* (glicósidos de steviol) que es un endulzante natural de tipo no calórico proveniente de una planta nativa de Sudamérica (zona tropical): Paraguay-Amambay, es conocida por sus nombres comunes ka'a he'ê, Stevia, caá-ehé, kaá-jeé, azúcar verde, yerba dulce. En las hojas los principales constituyentes fitoquímicos son los Esteviosídeos, Dulcosido A, Steviol, Rebaudiosidos A, B (dulcosido B, C, D, E, F), Steviolbiosida ⁽²⁾. Las hojas de Stevia procesadas en polvo de color blanco cristalino que lo denominaron Esteviosídeo que es un esteroide glucósido, un ácido diterpenoico esterificado a una unidad de glucosa y combinado en enlace glucosídico a otras dos unidades de glucosa ^(3,4), son considerados que puede prevenir las lesiones cariosas porque tiene la habilidad para inhibir el incremento y reproducción de las bacterias bucales y además no metabolizados por el *Streptococcus mutans* ^(5,6). Se debe impulsar el uso de los edulcorantes para incentivar la búsqueda de nuevas sustancias que

no produzcan subproductos como el ácido láctico por el *Streptococcus mutans*.

La lesión cariosa es una enfermedad dinámica y multifactorial causada por el *Streptococcus mutans*, que es una de las bacterias iniciadoras del proceso de cariogenicidad, por su capacidad de ser acidógena, acidúrica, acidófila debido a que emplea como fuente energética, a la sacarosa para la formación de polisacáridos extra e intracelulares para el desarrollo del factor de cariogenicidad, al desdoblarse la sacarosa en dos componentes monosacáridos (glucosa y fructosa). Por lo cual la fructosa utiliza estos sustratos para el crecimiento de los microorganismos y la glucosa se polimeriza formando una malla de glucano. En conjunto con otras bacterias y residuos orgánicos forma la placa dental y se adhiere a la superficie dentaria ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Existen diversos factores individuales que pueden afectar la variabilidad de la cavidad bucal entre ellos el tipo dieta y la frecuencia de alimentación. Por lo cual el factor alimentación tendrá gran impacto en la formación y la progresión de la lesión cariosa, por ello es importante considerar el equilibrio de la dieta cotidiana y además optar por sustitutos del azúcar o sacarosa que presenten menor efecto cariogénico como los edulcorantes ⁽¹¹⁾. En este contexto el propósito de la investigación fue comparar el efecto de las concentraciones al 25 mcg. y 50 mcg. de la *Stevia rebaudiana*: "Stevita" y "Stevia Vía" en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental *in vitro*, donde el tipo de la investigación tuvo un enfoque cuantitativo. Se compararon los edulcorantes "Stevita" y "Stevia vía" los cuales fueron las variables independientes. Con relación a la variable dependiente, se evaluó el halo de inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*, que es considerado como el iniciador y responsable de la progresión de la caries dental ⁽¹²⁾. Se utilizaron 12 muestras por cada grupo, "Stevita" y "Stevia vía", con una concentración de 25 mcg. y 50 mcg. que recibieron las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668, en el laboratorio de microbiología.

En el procedimiento se usó un medio de cultivo de Mueller Hinton con sangre de carnero al 5%, atmósfera con CO₂ en jarra de microaerofilia, se incubó a 35 °C por 24 y 48 horas. Se midieron

los halos de inhibición con el calibrador de Vernier en placas de Petri estériles. Se tomaron las medidas en suspensión de las cepas aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico (NaCl 0.15 M) hasta obtener una turbidez de 0.5 de McFarland. Se humedeció con un replicador de hisopo las cepas para sembrar en el agar por dispersión en 3 direcciones mediante el método de disseminación. Se confeccionaron los pocillos con sacabocados de 6 mm de diámetro en la placa de agar para la aplicación de los inóculos sobre la superficie del agar. Para el control se utilizó Clorhexidina 2%. Se prepararon las soluciones de los edulcorantes "Stevita" y "Stevia vía" de las concentraciones de 25 mcg. y 50 mcg. para lo cual se pesó 5 g. y 2.5 g. de cada producto y se añadió agua destilada estéril equivalente a 250 mg/ml y 500 mg/ml hasta completar 10 ml en tubos de centrifuga estéril, se logró preparar 100 µl de cada dilución, se realizó 12 repeticiones de cada dilución. Se inóculo las placas dentro de la jarra de 35 °C, se colocó en la estufa de cultivo por 24 y 48 horas para realizar mediciones de los halos de inhibición con el calibrador Vernier.

El instrumento de evaluación tuvo como finalidad facilitar el análisis de los datos que se recolectaron y registraron mediante la ficha de recolección de datos confeccionada de acuerdo con las necesidades de la investigación. La validez y confiabilidad de los resultados de la investigación se establecieron al realizar diversos protocolos y procedimientos técnicos que iban a garantizar los resultados recogidos para poder explicar y además lograr las interpretaciones que

se aproximaran a la realidad. En la validez interna se evaluaron los datos los cuales se extrajeron correctamente de cada una de las muestras, no solo en la fase de recolección, sino en el análisis e interpretación, la validez externa nos brindó el grado de los resultados que permitió aplicar a población peruana. Por lo que dichas validaciones se obtuvieron con la rigurosidad metodológica. Se analizaron las características para estimar la evaluación estadística con la prueba de t Student en (SPSS), lo cual permitió obtener la distribución de las medias.

RESULTADOS

En este estudio se evaluaron un total de 12 muestras, en la figura 1, se observan placas con cultivos de *S. mutans* inoculadas con el edulcorante Stevia Via 50 mcg. En la tabla 1, se presentan las medias de los halos de inhibición de *Stevia rebaudiana* "Stevita" a 25 mcg. y 50 mcg. donde se obtuvieron menores halos de inhibición en el crecimiento *Streptococcus mutans*. En la tabla 2, se muestran los valores del análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI), en la cual se observa un mayor crecimiento de *Streptococcus mutans* con el edulcorante de *Stevia rebaudiana* "Stevia Vía" 25 mcg. y 50 mcg. con una media de 11.6 mm y 12 mm respectivamente. Para el análisis estadístico se aplicó la Prueba t de Student, con un nivel de significancia de $p < 0.05$, encontrando un valor de $p = 0.01$.

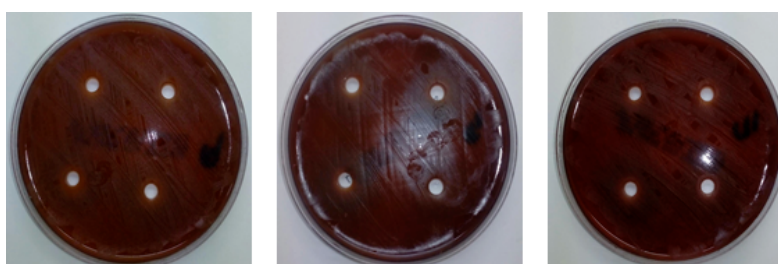


Figura 1. Placas con *Streptococcus mutans* y edulcorante "Stevia Via" 50 mcg, se observa mayor halo de inhibición

Tabla 1. Comparación *in Vitro* la concentración inhibitoria mínima de la *Stevia rebaudiana* Stevita a 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*

Stevita Dosis	Media	Desv. Desviación
25 mcg	6.0	,00000 ^a
50 mcg	6.0	,00000 ^a

No aplicable la prueba t student

Tabla 2. Comparación *in vitro* la concentración mínima inhibitoria de la Stevia rebaudiana Stevia Vía 25 mcg. y 50 mcg. en el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

Stevia Vía Dosis	Media	Desv. Desviación
25 mcg	11.6	0.5
50 mcg	12.0	0.0

t=-2.803

p=0.01

DISCUSIÓN

En esta investigación encontramos diversos hallazgos, donde se comprobó que la CMI en el crecimiento del *Streptococcus mutans* en un medio donde se le adicionó el edulcorante Stevia rebaudiana Stevia Vía a 25 mcg. y 50 mcg. se reduce, lo cual indica que es un agente no cariogénico frente al *Streptococcus mutans*, encontrándose una coincidencia que la relación con Stevia se puede valorar como agente no cariogénico y además como agente antibacteriano con relación al *Streptococcus mutans* ⁽¹³⁾.

Además, reportan que la Stevia en diversas concentraciones aumenta el pH y disminuye la producción del ácido en el *Streptococcus mutans* ⁽¹⁴⁾. Como también la reducción del recuento salival del *Streptococcus mutans*, y además aumenta el flujo lo cual evitara que se adhiera la bacteria y el aumento del pH salival para así lograr un efecto anticariogénico ^(5-7,15). Por consiguiente, coincide con nuestra investigación que disminuye el factor de riesgo cariogénico del *Streptococcus mutans* ⁽¹⁶⁾. Se concluyó que para evitar el desarrollo de la caries dental se debería usar diariamente el extracto de Stevia rebaudiana, el cual reveló tener un efecto bacteriostático ⁽¹⁷⁾.

Se menciona que después del consumo de Stevia el *Streptococcus mutans*, presenta poca producción de subproductos fermentables que afectarían a la superficie del esmalte y así favorecen a prevenir la lesión cariosa ⁽¹⁸⁾. Los enjuagatorios con esencia de extractos de Stevia rebaudiana influyen en el pH salival conservando un pH neutro esto sería importante porque brinda un beneficio de tampón buffer ⁽¹⁹⁾, en lo cual encontramos una probabilidad p=0.01 donde reduce el riesgo cariogénico del crecimiento del *Streptococcus mutans*.

Con relación al efecto inhibitorio del *S. mutans* y el potencial acidogénico del extracto etanólico de Stevia rebaudiana, evita el desarrollo de los polisacáridos extracelulares insolubles del *S. mutans* ⁽²⁰⁾. Esto indica que debería impulsar el uso de Stevia vía dado que el análisis estadístico de t=-2.803 presenta un mayor halo de inhibición del *S. mutans*. Por otra parte, la esencia de Stevia al 25% y 50% en los diferentes resultados no tiene valores inhibitorios sobre el *S. mutans*, se sugiere no usar como agente antimicrobiano, a diferencia del 75% que sí presenta un halo de inhibición de 6,47 mm y al 100%, de 9,33 mm ⁽²¹⁾ encontrado una discrepancia con los resultados, donde el uso del edulcorante Stevia rebaudiana Stevia Vía presenta un aumento del halo de inhibición a 25 mcg. y 50 mcg (con una media respectiva de 11.6 mm y 12 mm). A diferencia de la concentración inhibitoria mínima con esencia de Stevia etnólica contra el *S. mutans* fue del 25% y 12.5%. La zona media de inhibición de los extractos de Stevia etnólica frente al *S. mutans* fue de 26.7 mm ⁽²²⁾. El cual concluye que los valores inhibitorios mostrados fueron superiores con respecto a la investigación.

Los resultados de la investigación llevan a concluir que en sus diversos niveles de CMI el edulcorante Stevia rebaudiana "Stevia Vía" al 25 mcg y 50 mcg muestra un efecto inhibitorio frente al crecimiento del *Streptococcus mutans*, de modo que podría ser considerado como un agente no cariogénico y que disminuye el factor de riesgo cariogénico de esta bacteria en la superficie dental. A diferencia de los niveles de concentración inhibitoria de "Stevita" al 25 mcg y al 50 mcg que presentan un menor halo de inhibición y no reduce el factor de riesgo cariogénico de esta bacteria. Por lo cual el consumo del edulcorante Stevia Vía reduce el riesgo de la caries dental ya que afecta en la

CMI del crecimiento del *Streptococcus mutans* principal microorganismo causal del inicio de lesión cariosa.

Agradecimientos: Dra. María del Carmen Pareja Vásquez, Dr. Mauro Rivera Ramírez y Mg. Doris Medina Escobar por impulsarme en el desarrollo de la investigación.

Contribuciones de autoría: TDM, participó en el diseño del estudio, en la recolección de datos, análisis de resultados, redacta el artículo, revisión crítica del artículo, RML participó como asesor en la revisión literatura.

Fuente de financiamiento: El estudio fue financiado por los autores.

Conflictos de interés: Los autores declararon no tener conflictos de interés en la publicación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Das, S., Das, A., K., Murphy, R., A., Punwani, I., C., Nasution, M., P., & Kinghorn, A., D. Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Caries dental Res.* 1992; 26(5):363-366. <http://doi:10.1159/000261469>.
2. Geuns, J., M., C. Molecules of Interest Stevioside. *Phytochemistry.* 2003; 64(5):913-921. [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00426-6](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00426-6).
3. Elton Jhonson DR Stevioside Naturally A Special, Tuscon , AZ.; Calorie Control Council. 5pp.
4. Bridel, M., & Lavielle R. Sur le principe sucre des feuilles de kaa-he-e (*Stevia rebaudiana* B). *Academie des Sciences Paris Comptes Rendus, Paris.* 1931; 192: 1123-1125. [Citado: 26 de octubre de 2020] Disponible en: <https://www.bionity.com/en/encyclopedia/Stevia.html>.
5. Shinde, M., R., & Winnier, J. Comparative evaluation of Stevia and Xylitol chewing gum on salivary *Streptococcus mutans* count-A pilot study. *J Clin Exp Dent.* 2020;12(6):568-573. <https://doi.org/10.4317/jced.55720>.
6. Shinde, M., R., & Winnier, J. Health Benefits Application of *Stevia rebaudiana Bertoni* in Dentistry. *J Drug Deliv Ther* 2020;10(4):271-274. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i4-s.4285>.
7. Shinde, M., R., & Winnier, J. Effects of Stevia and xylitol chewing gums on salivary flow rate, pH, and taste acceptance. *J Dent Res Rew.* 2020;7(2):50-55.
8. Pérez, Guevara S P. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis de pregrado] Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Repositorio Institucional.<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/59>.
9. Newbrun, E. *Cariologia.* México: Limusa S.A; 1991.
10. Liébana, U., J. *Microbiología Oral.* 2° Ed. España: Mc Graw-Hill Interamericana; 2002.
11. Barrancos, M., J. *Operatoria dental.* 3° Ed. Buenos Aires: Medica panamericana; 1999.
12. Pérez, L.A.G. *Caries dental en diente deciduos.* Lima: Diseño total S.R.L ; 2004.
13. Brambilla, E., Cagetti, M., G., Ionescu, A., Campus, G., & Lingström, P. An in vitro and in vivo Comparison of the Effect of *Stevia rebaudiana* Extracts on Different Caries-Related Variables: A Randomized Controlled Trial Pilot Study. *Caries Res.* 2014;48(1):19-23. <http://doi:10.1159/000351650>.
14. Abdel, Tawab H A, Niazzy M, A, & El Elshaharkawy E. Antibacterial Effect of Ginger, Green Tea and Pomegranate versus Chlorhexidine using Stevia and Sucrose sugar. *ADJ-for girls.* 2020;7(3):329-336. <http://doi:10.21608/adjg.2020.7838.1105>.
15. Escobar, E., Piedrahita, M., & Gregory, R., L. Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana Bertoni*. *Clin Oral Investig.* 2020; 24:3237-3242. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03197-5>.
16. Roncalla F, C, E. Efecto de los endulzantes Stevia y Splenda sobre el pH salival en estudiantes de octavo semestre de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas. Arequipa-2017 [Tesis de pregrado] Arequipa: Universidad Alas Peruanas; 2017. Repositorio Institucional. <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/5224>.
17. Juca pasmiño Ae. Evaluacion del efecto antimicrobiano del extracto de stevia rebaudiana [Tesis de pregrado]. Quito: Universidad de las Americas; 2016. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/6044>.
18. Siraj, E., S., Pushpanjali, k., & Manoranjitha, B., S. Efficacy of stevioside sweetener on pH of plaque among young adults. *Dent Res J.* 2019;16(2):104-109.
19. Gómez, H., R. Influencia del colutorio de *Stevia Rebaudiana* y xilitol sobre el pH salival después de la ingesta de alimentos, en niños de 6-12 años de la I.E. Integrada el Carmelo-Molinopata- Abancay 2017 [Tesis de pregrado] Abancay: Universidad Tecnológica de los Andes; 2017. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/52>.
20. Pairazaman-García, G, Ríos Caro T. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre los factores de virulencia cariogénicos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Agroin Sci [Internet]* 2020 [Citado: 06 de octubre de 2020];10(1):95-102. <http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.01.13>.

21. Muñoz, Mora J E. y Guevara Frías E L. Análisis del efecto inhibitorio de stevia en diferentes concentraciones sobre *streptococcus mutans*, estudio in vitro. [Tesis de pregrado] Quito: Universidad Central de Ecuador; 2017. Repositorio Institucional. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9380>.
22. Jagannavar, S, L., Shamarao, S, Battur, H, Tikare, S, Al-Kheraif, A, A, & Al Sayed, M., S. Effect of aqueous and alcoholic Stevia (*Stevia rebaudiana*) extracts against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2014; 4 (2):116-121. <http://doi:10.4103/2231-0762.146215>.

Tania Diaz Mendoza

ORCID  <https://orcid.org/0000-0001-6193-8068>
tania_diaz1@usmp.pe

Roman Mendoza Lupuche

rmendoza@unfv.edu.pe
ORCID  <http://orcid.org/0000-0003-2089-8965>

Copyright © La revista. La revista Kiru es publicada por la Facultad de Odontología de la [Universidad de San Martín de Porres](#), en Lima, Perú.