

**CARACTERIZACIÓN DEL AMBIENTE BUCAL DE PERSONAS VEGANAS Y EFECTO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DENTALES VEGANAS SOBRE LA FLORA BACTERIANA PRESENTE ESTOS SUJETOS, CONCEPCIÓN 2018.**

**POR: DANIELA CORNEJO VARGAS, CAMILA FERNÁNDEZ FAÚNDEZ,  
CAMILA GARCÍA NOVA.**

**Tesis presentada a la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Desarrollo para optar al grado académico de Licenciado en Odontología.**

**PROFESOR GUÍA.**

**BIOQUÍMICO, DIPLOMADO EN PEDAGOGÍA UNIVERSITARIA, MAGÍSTER EN EDUCACIÓN SUPERIOR MENCIÓN PEDAGOGÍA UNIVERSITARIA, DOCTORADO EN GESTIÓN DE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA. DIRECTORA CIENCIAS BÁSICAS, METODOLOGÍA E INVESTIGACIÓN, FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, UNIVERSIDAD DEL DESARROLLO, CONCEPCIÓN. CARMEN GLORIA NARVÁEZ.**

**Diciembre 2018  
CONCEPCIÓN**

Dedicado a todas las personas que formaron parte de este trabajo y que han sido fundamentales para forjar nuestro camino hacia la vida profesional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por su incondicional ayuda y fortaleza ante las dificultades presentadas.

A nuestras familias, especialmente a nuestros padres Ramón Cornejo y Ximena Vargas, Nestor Fernández y Cecilia Faúndez, Elvis García y Rosa Nova; y Maximiliano Gómez, esposo de Camila Fernández, quienes fueron nuestro fundamental apoyo en todo momento, siendo los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas y alentarnos con su gran amor a finalizar este desafío.

A nuestros hermanos por su cariño y apoyo durante este proceso.

Agradecer a la docente encargada de la asignatura de Investigación en Odontología II, la profesora Constanza Neira Urrutia, por su constante ayuda y guía prestada en este largo proceso.

A nuestra tutora de tesis, Dra. Carmen Gloria Narváez, por haber compartido sus conocimientos, los cuales fueron fundamentales para la realización de esta investigación.

A todos los funcionarios de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Desarrollo que fueron parte de esta investigación participando en el proceso pre experimental de laboratorio.

Un especial agradecimiento a los voluntarios veganos que participaron en nuestra investigación, por prestarnos su valioso tiempo con buena disposición.

Finalmente agradecer a nuestros amigos que entregaron ánimo y buenos deseos en el momento previo a la defensa de tesis.

## TABLA DE CONTENIDOS

	<b>Página</b>
DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	6
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	9
MARCO TEÓRICO	10
SUPUESTOS DE INVESTIGACIÓN	17
OBJETIVOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
RESULTADOS	22
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
ANEXOS	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1: Recuento general de bacterias en UFC/mL basal y post pasta dental.	23
TABLA 2: Recuento de <i>Streptococcus Mutans</i> en UFC/mL basal y post pasta dental.	23
TABLA 3: Valores de pH salival alcanzado basal y post pasta dental.	24
TABLA 4: Recuento de <i>Lactobacillus spp.</i> post pasta dental.	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Porcentaje de participación por género.	22
FIGURA 2: Frecuencia de edad.	22
FIGURA 3: Frecuencia de Gram basal.	23

## RESUMEN

Introducción: El veganismo es un estilo de vida en el que se excluye el consumo o uso de cualquier producto de origen animal, el cual los últimos años ha ido en aumento a nivel nacional y mundial. Objetivo: Caracterizar el ambiente bucal de personas veganas desde el punto de vista de la acidez y microbiología en sujetos veganos de la provincia de Concepción año 2018. Material y métodos: Se realizó un estudio pre-experimental en sujetos de la provincia de Concepción año 2018 (n=9), a los cuales se les aplicó un cuestionario de selección sobre hábitos veganos y factores sistémicos. Se recolectó una muestra salival estimulada. Se determinó pH de cada muestra y se realizaron cultivos en placas agar Trypticase (recuento general de bacterias) y agar Mitis (*Streptococcus*) a 37°C en aerobiosis durante 24 horas, para posteriormente realizar recuento bacteriano y tinción Gram. Luego se entregó la pasta dental vegana a los sujetos, la cual utilizaron durante 7 días. Cumplida la semana se recolectó una nueva muestra salival y se repitió el procedimiento anterior para recuento bacteriano y pH. Se agregó el cultivo en placas agar Rogosa (recuento de *Lactobacillus spp.*). Resultados: Dentro del recuento general de bacterias se obtuvo un promedio de  $4,3 \times 10^4 \pm 2,5 \times 10^4$  UFC/mL basal y  $5,8 \times 10^4 \pm 6 \times 10^4$  UFC/mL post pasta dental. Recuento de *Streptococcus* un promedio de  $5,7 \times 10^4 \pm 4,1 \times 10^4$  UFC/mL basal y  $5,9 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^4$  UFC/mL post pasta dental. El pH promedio basal fue de  $6,9 \pm 0,43$  y  $6,7 \pm 0,33$  post pasta. Recuento de *Lactobacillus spp.* post pasta fue de  $5,5 \times 10^4 \pm 3,3 \times 10^4$  UFC/mL. Tinción Gram se observó prevalencia de

bacterias Gram +. Conclusión: Sujetos que llevan una dieta vegana poseen similares características generales que una dieta omnívora. Sin embargo, el recuento de *Streptococcus* y *Lactobacillus spp.* es menor en veganos y poseen un pH neutro. Con respecto a la pasta dental vegana, se demostró que su efecto antimicrobiano es menor al de una pasta tradicional en estos sujetos.



## **INTRODUCCIÓN:**

En las últimas décadas ha aumentado el número de personas que se alimentan a base de vegetales en el mundo. En 2013 el primer censo vegetariano-vegano en Chile registró, de forma voluntaria, a más de 13 mil vegetarianos en el país. Ayala, (2009) creador de Homovegetus, creó en 2009 la Guía de Servicios, Tiendas y Restaurantes Vegetales. Durante el mismo año aparecen 24 tiendas y 28 restaurantes. Durante el año 2011 aumentan en un 225% y 2014 continúan aumentando hasta un 118% las tiendas y 104% los restaurantes. Pese a no conocer la cantidad exacta de vegetarianos y veganos en Chile, se puede constatar el incremento de esta, ya sea por el ofrecimiento de productos en el mercado o por el grueso respaldo con el que cuentan las organizaciones por los derechos animales luego de sus intervenciones. (Epa News, 2015).

El gran aumento de veganos, las características únicas de su dieta y la escasa información oficial acerca de los efectos de la dieta vegana y los dentífricos naturales en la cavidad bucal, hacen de éste un tema de interés para nuestra investigación.

De allí el objetivo del presente estudio fue caracterizar el ambiente bucal de personas veganas desde el punto de vista de la acidez y microbiología en sujetos veganos de la provincia de Concepción año 2018. Así como también determinar la eficacia del efecto antimicrobiano de una pasta dental vegana sobre la flora presente en estos sujetos.

## MARCO TEÓRICO

En 1988, la Revista *Vegan Society* definió el veganismo como: ‘‘una filosofía y un modo de vida que busca excluir, en cuanto sea posible, todas las formas de explotación y crueldad de los animales para la alimentación, la vestimenta o cualquier otro propósito [...] En términos dietéticos denota la práctica de dispensar con todos los productos derivados total o parcialmente de animales’’.

En la actualidad se define al veganismo, en términos dietéticos como: ‘‘Aquel que excluye de su alimentación, carnes, productos lácteos, huevo y todo producto que contenga algún ingrediente de origen animal’’ (Rojas, Figueroa, Duran, 2017).

Los tipos de dieta se clasifican principalmente en dos; dieta omnívora y dieta vegetariana.

La dieta Omnívora consiste en la alimentación con productos de origen animal y vegetal, mientras que la dieta vegetariana es una tendencia alimentaria que excluye los alimentos de origen animal o parte de ellos.

La dieta vegana se concentra dentro de los tipos de dietas vegetarianas, entre las cuales se encuentran: dieta semi vegetariana, que consiste en el consumo de alimentos vegetales además de lácteos, pollo, huevo y pescado. También encontramos la dieta Pescovegetariana que principalmente se compone de vegetales, lácteos, pescado y huevos. La dieta Lacto-Ovo Vegetariana solo se compone de vegetales y lácteos y huevos. Y la dieta Vegana es la más estricta ya que consiste exclusivamente en alimentos de origen vegetal, sin incluir lácteos, huevos ni ningún tipo de carne (Pérez, 2012).

La base de la pirámide alimenticia vegana son frutas y verduras, siguiendo con los granos enteros, frijoles, semillas y sustitutos lácteos fortificados, finalmente en su punta encontramos grasas y azúcares que se utilizan esporádicamente (Nutrición vegana, 2016).

El veganismo, es una tendencia que ha ido en aumento los últimos años demostrándose un auge del comercio enfocado a este público (Brignardello, Heredia, Ocharán y Durán, 2013).

Según Brignardello y cols. (2013), las personas refieren en su mayoría motivos morales o principios animalistas, razones económicas, seguido por beneficios para la salud. El 88,7% de los veganos de su estudio, admitieron conocer aspectos como: disminución del riesgo de padecer cáncer y enfermedades cardiovasculares debido a un aumento del consumo de antioxidantes y una menor ingesta de grasas saturadas, mejora el tránsito intestinal como consecuencia de un mayor aporte de fibra y ayuda a la mantención de un peso saludable.

Cuando nos referimos a cómo afecta el veganismo en la salud bucal de las personas, es muy poca la información que se encuentra. Si bien se sabe, orientándonos en el ambiente bucal y hablando de manera general, la saliva posee diferentes funciones en el ambiente bucal (Narváez, 2012):

- Protección Mecánica: Lubricante de mucosas y dientes.
- Protección antimicrobiana: Propiedades inmunitarias, arrastre de bacterias. IgA inhibe adhesión bacteriana a la película del esmalte.

- Protección química: Capacidad tampón, protege de la desmineralización (pH menor a 6.3). El pH normal de saliva estimulada 7.5-8 y no estimulada 6-6.5. Un pH superior a 6,5 en saliva estimulada data de una alta capacidad tampón, entre 5,7 y 6,5 indica una capacidad tampón normal, mientras que un menor a 5,7 indica una baja capacidad tampón.

La saliva aporta con iones de calcio y de fosfatos que permiten aumentar la mineralización del esmalte además de encargarse del control de la microflora oral, la hidratación, digestión y limpieza mecánica. La acción de las proteínas salivales y del fluoruro también es importante en el proceso de remineralización. La estabilidad del sistema depende del pH del medio (la descalcificación es mayor cuando el pH llega debajo de 5,5), de la concentración de fluoruros (que refuerza el esmalte) y de la fuerza iónica. Al persistir la acidez se favorece la disolución y al ser menor el tiempo de exposición se estimula la remineralización.

En cuanto a las principales enfermedades relacionadas con la cavidad bucal encontramos la caries dental y la enfermedad periodontal.

La caries dental se considera como un proceso patológico complejo de origen infeccioso y transmisible que afecta a las estructuras dentarias y que ocasiona un desequilibrio bioquímico que de no ser revertido conduce a cavitación y alteraciones del complejo dentino-pulpar. Sus principales bacterias asociadas son Gram +. El *Streptococcus* (género *Mutans*) acidifica el medio y están asociadas al comienzo de la caries. Los *Lactobacillus spp.* están más implicados al avance de la caries (De estrada, Pérez, Hidalgo-Gato, 2006).

Es necesaria la presencia de distintos factores como, agentes bacterianos (el principal de ellos es el *Streptococcus*), un huésped susceptible y el sustrato dado principalmente por la ingesta de hidratos de carbono. El metabolismo y fermentación bacteriana de los azúcares produce ácidos que disuelven la matriz mineral del diente.

De acuerdo a Baca, Baca, Maestre (2002), se considera como pacientes de alto riesgo de caries a aquellos que presentan valores superiores a iguales a  $10^5$  UFC/mL para *Lactobacillus spp.* y más de  $10^6$  UFC/mL para los *Streptococcus* de género *Mutans*. Son de bajo riesgo cifras inferiores a  $10^3$  UFC/mL para *Lactobacillus spp.* y  $10^5$  *Streptococcus* de género *Mutans*.

Parte de nuestro estudio es determinar la eficacia del efecto antimicrobiano de una pasta dental vegana (Caléndula). Las pastas dentales, también conocidas como dentífricos, pueden ser comercializadas como pastas, gel o polvo.

Las pastas dentífricas no veganas pueden contener una serie de ingredientes activos para ayudar a mejorar la salud oral.

De acuerdo a la Asociación Dental Americana (ADA) los típicos ingredientes consisten en:

- Sustancias abrasivas suaves para eliminar residuos y manchas superficiales residuales. Estos abrasivos pueden ser: carbonato de calcio, geles de sílice deshidratados, óxidos de aluminio hidratados, carbonato de magnesio, sales de fosfato y silicatos.

- Fluoruro para fortalecer y remineralizar el esmalte del diente en la primera etapa de la caries. Todas las pastas dentales aceptadas por la ADA contienen fluoruro.
- Detergentes para crear acción espumante. Incluyen Lauril sulfato de sodio, N-Lauril sarcosinato de sodio.
- Humectantes para prevenir la pérdida de agua en la pasta dental. Ejemplos glicerol, propilenglicol y sorbitol.
- Agentes aromatizantes, como la sacarina y otros edulcorantes, mejoran el sabor. Ninguna pasta dental aceptada por la ADA contiene azúcar o cualquier otro ingrediente que promueva la caries dental.
- Agentes espesantes o aglutinantes para estabilizar la fórmula de la pasta dental. Incluyen coloides minerales, gomas naturales, coloides de algas marinas o celulosa sintética.

Otros ingredientes activos pueden incluir:

- Nitrato de potasio que ayuda a reducir la sensibilidad dental.
- El flúor estaños y el triclosán que ayudan a reducir la gingivitis.
- Los pirofosfatos, el triclosán y el citrato de zinc que ayudan a reducir la acumulación de tártaro.

- Los abrasivos o enzimas de sílice modificados que pueden ayudar a blanquear los dientes eliminando físicamente las manchas superficiales. También se puede añadir peróxido de hidrógeno para ayudar a reducir las manchas intrínsecas.

Las pastas dentales veganas, por su parte, no contienen fluoruro. Específicamente la pasta dental vegana de Caléndula proporciona: protección natural sin mentol. Limpia profundamente, aunque con cuidado. El extracto de Caléndula ayuda a mantener sana la cavidad bucal. El suave aceite de Hinojo proporciona un aliento fresco durante mucho tiempo (Weleda, 2018). Esta pasta dental está compuesta de los ingredientes básicos de una pasta dental: agua, carbonato cálcico, glicerina, arcilla, alcohol, extracto de Caléndula, extracto de Mirra, goma xántica, extracto de hinojo, aceites esenciales naturales, glicirrizato de amonio (extracto de Regaliz). La Caléndula actúa como el principio activo de esta pasta dental gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antisépticas, antibacterianas, entre otras.

De acuerdo a Brignardello y cols. (2013), en nuestro país no se dispone de información sobre los conocimientos de la población vegetariana y vegana con respecto a su dieta, así como el consumo de algunos alimentos y suplementos que buscan satisfacer las necesidades de macro y micronutrientes, debido a la exclusión parcial, para los vegetarianos o total en el caso de los veganos. Según el estudio realizado por Brignardello y cols. (2013), existe un elevado porcentaje de veganos y especialmente vegetarianos residentes en Chile que poseen los conocimientos insuficientes para lograr una dieta equilibrada y evitar la carencia de nutrientes, lo que hace necesario que los profesionales

de salud estén capacitados en esta área del conocimiento para orientar adecuadamente a estas personas, ya que la principal fuente de información de vegetarianos y veganos es internet.

Es importante capacitar a los profesionales de salud para orientar tanto del ámbito nutricional, como también de estar capacitados y saber los cambios a nivel de organismo, a nivel bucal, que podrían modificarse luego de comenzar a seguir una dieta vegana.

En la actualidad existe una escasa evidencia asociada al ambiente bucal o salud oral de sujetos veganos y a la eficacia del efecto antimicrobiano de las pastas veganas sobre el ambiente bucal o la salud oral. Es relevante contar con estudios de esa índole a fin de si fuera necesario en un futuro, realizar modificaciones a los componentes de las pastas dentales veganas para mejorar su eficacia o presentar alternativas de alimentos veganos que ayuden a reforzar el ambiente bucal contra factores cariogénicos o periodontales, o en su defecto, advertir a la población vegana sobre los efectos de la dieta, ya sean efectos negativos o positivos, incluyendo en los programas de prevención la información necesaria sobre estos efectos y un refuerzo de las formas y hábitos necesarios para ayudar a mantener el estado de salud oral en la población vegana.



## **SUPUESTOS DE INVESTIGACIÓN**

El ambiente bucal de personas veganas es distinto en pH y en microbiología al de personas omnívoras.

El efecto antimicrobiano de la pasta dental vegana sobre la flora bacteriana será menor al no contener fluoruro.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar el ambiente bucal de personas veganas desde el punto de vista de la acidez y microbiología en sujetos veganos de la provincia de Concepción año 2018.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Determinar la eficacia del efecto antimicrobiano de la pasta dental vegana (Caléndula) sobre la flora bacteriana presente en estos sujetos; calculando recuento bacteriano y pH salival luego de su uso por 7 días.

Determinar el recuento bacteriano (UFC/mL), tipo de bacterias presentes y pH salival en sujetos veganos.

Comparar las diferencias del ambiente bucal vegano antes y después de utilizar pasta dental vegana durante 7 días.

## **MATERIALES Y METODOS:**

Se realizó un estudio pre-experimental en sujetos veganos entre 18-45 años de edad, de la provincia de Concepción año 2018. Mediante consentimiento informado se les aplicó un cuestionario sobre hábitos veganos y factores sistémicos, validada mediante juicio de expertos con un K promedio de 0.86. Los factores incluidos en la encuesta fueron del ámbito sociocultural, hábitos y dietéticos.

Tras la aplicación de la encuesta se seleccionó una muestra de 9 sujetos bajo los siguientes criterios de inclusión: personas que lleven dieta vegana por 18 meses como mínimo, de ambos géneros, entre 18-45 años de edad, que vivan en la provincia de Concepción. Los criterios de exclusión incorporaron: fumadores, que sufra alguna condición sistémica o crónica que pueda modificar la salud bucal, que este bajo tratamiento farmacológico y que haya estado bajo tratamiento periodontal reciente (1 año).

Se concurrió a la autorización de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Desarrollo, manteniendo los aspectos éticos y morales, a través de consentimiento informado, según los principios éticos de Helsinki, para la toma de una muestra salival por paciente. Durante la recolección de datos, se resguardaron todos los protocolos sanitarios correspondientes, incluida la ley de derechos y deberes del paciente.

Una vez seleccionados y contactados los 9 sujetos a estudiar, se procedió a realizar la etapa de laboratorio en donde se analizaron las variables; recuento bacteriano, tipos de bacterias presentes, pH salival y aplicación de pasta dental, esta última se define como el

momento previo y posterior a la aplicación de una pasta dental vegana, observando y comparando el efecto de esta sustancia química.

Se indicó a cada sujeto de la muestra que no ingiriera alimentos ni bebidas durante 2 horas previo a la toma de muestra salival. Se entregó a cada individuo una pastilla de parafina para la estimulación salival y luego se procedió a la recolección de 10mL de saliva sobre tubos plásticos rotulados. Se separaron 5mL de la muestra en tubos de ensayo de vidrio para la posterior dilución con agua destilada estéril en una proporción de 1:10.

Luego de recolectada la muestra salival se entregó a los sujetos una pasta dental vegana de Caléndula con instrucción de uso exclusivo durante 7 días.

Sobre los 5ml no diluidos se midió el pH mediante un pHmetro digital calibrado y se registró el resultado de cada muestra.

Con las muestras diluidas se realizaron cultivos con tómulas de algodón estériles en placas de agar Tripticasa para el recuento general de bacterias y triplicado en agar Mitis Salivarius para el recuento de *Streptococcus* cultivándose a 37°C en aerobiosis durante 24 horas. Posteriormente se realizaron los recuentos bacterianos a través de un contador de colonias. Los resultados de cada cultivo se registraron usando un promedio de las tres muestras en agar Mitis de cada paciente para el recuento de *S. Mutans*.

Se realizó un procedimiento de tinción Gram (Alder, 2013) sobre colonias de las muestras de Tripticasa a fin de conocer el tipo de bacterias predominante en cada muestra.

Al transcurrir los 7 días de uso de pasta dental vegana, se citó a los sujetos de la muestra para la recolección de una nueva muestra de saliva estimulada post pasta y se realizó el mismo procedimiento. Luego de la segunda muestra salival también se incluyó un cultivo sobre agar Rogosa para hacer el recuento de *Lactobacillus spp.*

Finalmente se compararon los resultados basales y post pasta con medidas de tendencia central a fin de ver la efectividad de la pasta dental vegana.

Con los datos basales se caracterizó el ambiente bucal vegano, comparándolo con las mismas variables en personas omnívoras, información extraída de la literatura.

## RESULTADOS:

### Descripción de la muestra

Del total de la muestra (n=9) el 78% resultó ser de género femenino y el 22% masculino (Figura 1). Los sujetos veganos que participaron en el estudio correspondían a un rango de edad entre los 21 y 44 años, siendo la frecuencia entre los 21- 26 años (Figura 2).

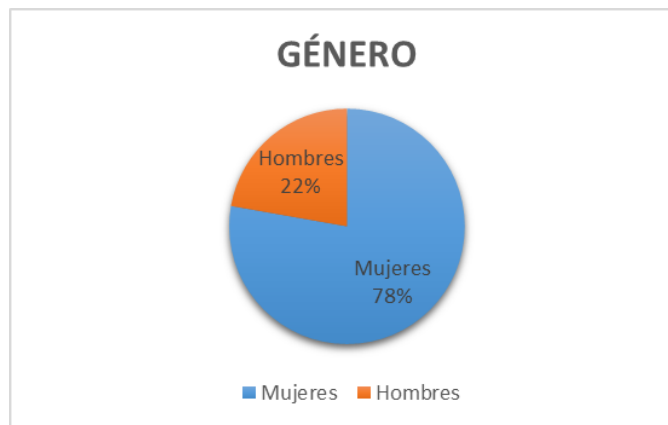


FIGURA 1. Porcentaje de participación por género.

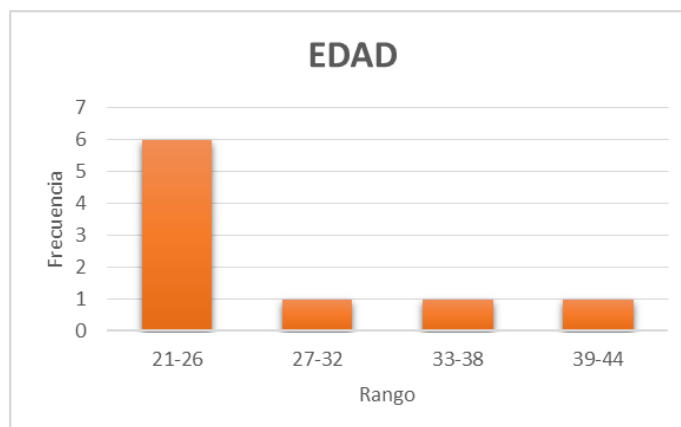


FIGURA 2. Frecuencia de edad

## Resultados experimentales

De los resultados obtenidos, en cuanto al recuento general de bacterias en la muestra salival se alcanzó un promedio de  $4,3 \times 10^4 \pm 2,5 \times 10^4$  UFC/mL basal y  $5,8 \times 10^4 \pm 6 \times 10^4$  UFC/mL post pasta dental (Tabla 1).

El recuento de *Streptococcus Mutans* se obtuvo un promedio de  $5,7 \times 10^4 \pm 4,1 \times 10^4$  UFC/mL basal y  $5,9 \times 10^4 \pm 3,5 \times 10^4$  UFC/mL post pasta dental (Tabla 2).

TABLA 1. Recuento general de bacterias en UFC/mL basal y post pasta dental.

	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Media</b>	<b>D.E</b>
Basal	$1,5 \times 10^4$	$8,3 \times 10^4$	$4,3 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$
Post - pasta	$2,2 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$

TABLA 2. Recuento de *Streptococcus Mutans* en UFC/mL basal y post pasta dental.

	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Media</b>	<b>D.E</b>
Basal	$1,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$5,7 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$
Post - pasta	$1,4 \times 10^4$	$9,9 \times 10^4$	$5,9 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$

El pH promedio basal fue de  $6,9 \pm 0,43$  y  $6,7 \pm 0,33$  post pasta (Tabla 3).

TABLA 3. Valores de pH salival alcanzado basal y post pasta dental

	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Media</b>	<b>D.E</b>
Basal	6,3	7,6	6,9	0,43
Post - pasta	6,3	7,2	6,7	0,33

La tinción Gram dio como resultado una prevalencia de bacterias Gram + (Figura 3).

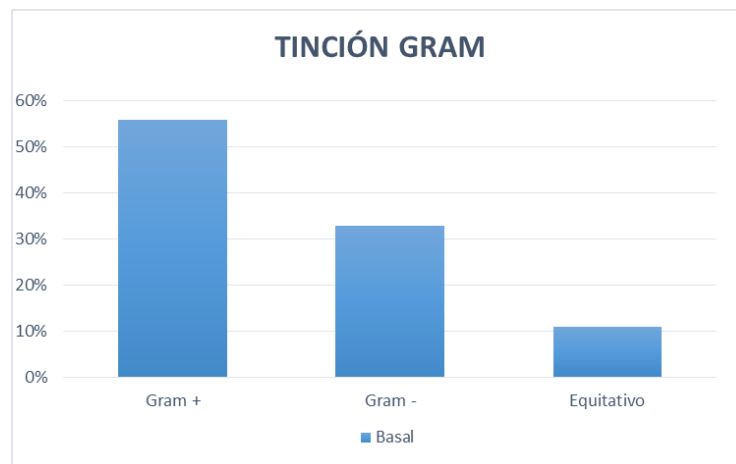


FIGURA 3. Frecuencia de Gram basal.



En cuanto al recuento de *Lactobacillus spp.* que se realizó con la muestra salival recolectada luego de la utilización de la pasta dental vegana por 7 días, se obtuvo un promedio de  $5,5 \times 10^4 \pm 3,3 \times 10^4$  UFC/mL (Tabla 4).

TABLA 4. Recuento de *Lactobacillus spp.* post pasta dental.

	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Media</b>	<b>D.E</b>
Post - pasta	$2,2 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$

## DISCUSIÓN

Los datos obtenidos y analizados demostraron que no hay una variación significativa en la composición de la flora salival. Se obtuvo que la flora salival de un vegano presenta tipos de bacterias similares a las de un omnívoro.

Según Giacaman, Muñoz-Sandoval, Bravo, Farfan-Cerda (2013), el recuento de *S. Mutans* en adultos con una dieta omnívora tuvo un promedio de  $2,3 \times 10^5$  UFC/mL, obteniendo una diferencia de  $1,7 \times 10^5$  UFC/mL respecto a lo encontrado en sujetos veganos, donde el promedio fue de  $5,7 \times 10^4$  UFC/mL.

El recuento de *Lactobacillus spp.* no se determinó previo a la aplicación de la pasta dental vegana, pero comparado con los datos que existen en sujetos omnívoros, el recuento de *Lactobacillus spp.* tuvo un promedio de  $2,6 \times 10^6$  UFC/mL (Giacaman y cols, 2013), obteniendo una diferencia de  $2,8 \times 10^6$  UFC/mL con respecto al promedio de  $5,5 \times 10^4$  UFC/mL en veganos. Con estos datos se observa que en veganos hay una menor carga bacteriana en comparación con los sujetos que llevan una dieta omnívora.

Según Baca y cols. (2002), los sujetos omnívoros del estudio citado presentarían un riesgo cariogénico moderado para *S. Mutans* y alto para *Lactobacillus*, mientras que los sujetos veganos de nuestro estudio presentarían un riesgo cariogénico bajo para *S. Mutans* y moderado para *Lactobacillus*.

En el estudio del pH salival se obtuvo que los sujetos veganos presentan un promedio de  $6,9 \pm 0,4$  lo cual es bastante neutro en comparación con los omnívoros cuyo promedio es de  $6,1 \pm 0,5$ , siendo muchos más ácido, según Rodríguez, (2015). De acuerdo a Narváez, (2012), estos resultados datan de una capacidad buffer moderada en sujetos omnívoros y una alta capacidad buffer en veganos.

Por otra parte, en la tinción Gram no se observó diferencias entre sujetos veganos y omnívoros, obteniendo una predominancia de Gram +.

Es importante destacar que la metodología utilizada en este estudio para la identificación y recuento bacteriano son técnicas microbiológicas básicas, ampliamente utilizadas en la literatura. Sin embargo, los desarrollos actuales de técnicas moleculares para la detección y recuento de especies podrían mejorar la precisión de estos hallazgos.

La información disponible sobre productos dentales naturales utilizados por sujetos veganos no es suficiente, por lo que en este estudio se investigó el efecto antimicrobiano de la pasta dental vegana (Caléndula) disponible en el mercado.

Esta pasta dental está compuesta de los clásicos ingredientes de una pasta dental, siendo la única diferencia su principio activo, la Caléndula.

Los datos obtenidos y analizados sobre el uso de pasta dental durante una semana, demostraron que el efecto antimicrobiano de este producto es inferior a uno tradicional, esto basado en que los resultados sobre el promedio recuento general de bacterias y el promedio del recuento *Streptococcus* aumentaron luego de su uso durante una semana. El

recuento bacteriano general aumento  $1,5 \times 10^4$  UFC/mL y el de *Streptococcus*  $2 \times 10^3$  UFC/mL.

Se determinó que la principal diferencia entre pasta dental Caléndula y una tradicional, es que carece del efecto antimicrobiano que le proporciona el fluoruro de sodio, (Benzian, Holmgren, Van Palenstein Helderma, 2012). Además de algún otro principio activo comúnmente utilizados como la arginina, el Triclosán, el micro calcio, entre otros. Esto podría afectar a que la carga bacteriana aumente con el uso de pastas dentales naturales, ya que no se cuenta con estos ingredientes que ayudan a la protección del medio bucal y a prevenir la aparición de caries dentales.

Cabe destacar que a los sujetos veganos se les indicó que no realizarán cambios en su rutina de higiene oral, a excepción de la pasta dental a utilizar. No se realizó ningún tipo de control o seguimiento durante esta semana.

## CONCLUSIONES

Se concluye que el ambiente bucal vegano posee características muy similares a uno omnívoro, a diferencia del recuento bacteriano (*S. Mutans* y *Lactobacillus spp.*) el cual fue menor en veganos. Asimismo el pH también varió, siendo neutro en veganos y ácido en sujetos omnívoros. Los sujetos veganos de este estudio poseen factores menos cariogénicos que los omnívoros.

Por otra parte, con respecto a la pasta dental de Caléndula, se demostró que su efecto antimicrobiano es menor al de una pasta dental tradicional fluorada en estos sujetos, entregando más factores asociados a la caries. Esto debido al aumento en el recuento general de bacterias, el recuento de *S. Mutans* y la disminución de pH.

Es importante destacar que esta investigación fue realizada sobre una pequeña muestra de sujetos veganos y no presentó características que pudieran establecer inferencias estadísticas.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar nuevos estudios a mayor escala, incluyendo la caracterización bioquímica y considerando aspectos determinantes de salud oral, con la finalidad de estudiar más detalladamente el efecto de la dieta y la pasta vegana a nivel cariogénico y periodontal, y a la vez poder inferir sobre los efectos de la dieta y de la pasta dental vegana sobre la salud oral de estos sujetos.

## **ANEXOS**

### **ANEXO 1. Variables e Indicadores.**

#### **Recuento Bacteriano**

**Clasificación:** Variable cuantitativa, discreta, intervalar, independiente.

**Definición conceptual:** Magnitud de la población bacteriana medida en UFC/mL.

**Definición operacional:** Magnitud de la población bacteriana medida en UFC/mL.

**Indicador:** UFC/mL

#### **Tipos de Bacterias Presentes**

**Clasificación:** Variable cualitativa, nominal, policotómica, independiente.

**Definición conceptual:** Descripción de la diversidad bacteriana.

**Definición operacional:** Descripción de la diversidad bacteriana.

**Indicador:** Prevalencia gram +, Prevalencia gram -, Equitativo

#### **pH**

**Clasificación:** Cuantitativa, continua, razón, independiente.

**Definición conceptual:** Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa

**Definición operacional:** Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa

**Indicador:** Escala del 1 al 14

### **Aplicación de Pasta Dental Vegana**

**Clasificación:** Cualitativa, nominal, dicotómica, independiente

**Definición conceptual:** Efecto de una sustancia química que, a bajas concentraciones actúa contra microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento

**Definición operacional:** Momento previo y posterior a la aplicación de la pasta dental vegana

**Indicador:** Basal, Post pasta



**ANEXO 2.** Instrumento de recolección de datos.

**ENCUESTA DE SELECCIÓN DE SUJETOS PARA ESTUDIO**  
**“CARACTERIZACION DEL AMBIENTE BUCAL EN PERSONAS VEGANAS.**  
**Y EFICACIA DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DENTALES**  
**VEGANAS SOBRE LA FLORA BACTERIANA PRESENTE EN ESTOS**  
**SUJETOS”.**

**NOMBRE:**

**EDAD:**

**SEXO:**            F            M

**CIUDAD/COMUNA:**

**TELEFONO DE CONTACTO:**

**1. ¿Desde hace cuánto tiempo sigue una dieta vegana?**

- a.        **Hace 18 meses o menos**
- b.        **Hace 18 meses o más**
- c.        **Hace 5 años o más**

**2. ¿Cuántas veces come en el día?**

- a.        **3 comidas principales + colaciones**
- b.        **3 comidas principales**
- c.        **Menos de 3 veces al día**

3. **¿Qué constituye su almuerzo o cena normalmente?**
4. **¿Consumes bebestibles con alto contenido de azúcar? (gaseosas, jugos, té helado, etc.)**
- a. **Si, regularmente**
  - b. **Si, a veces**
  - c. **No, casi nunca**
  - d. **Nunca**
5. **¿Cuántas veces al día lava sus dientes?**
- a. **Después de cada comida**
  - b. **3 veces al día**
  - c. **2 veces al día**
  - d. **1 vez al día**
6. **¿Utiliza pasta dental vegana?**
- SI**
  - NO**
7. **¿Es fumador?**
- SI**
  - NO**

- Si respondió SI, indique la cantidad de cigarros diarios.

8. ¿Está sujeto a algún tratamiento farmacológico por alguna condición crónica/sistémica? (Diabetes, Hipertensión Arterial, Asma, Anticonceptivos, Antidepresivos, Tranquilizantes, Corticoides, Hormonas Tiroideas, otros).

SI

NO

- Si respondió SI, indique condición, medicamentos y durante cuánto tiempo lleva el tratamiento.

9. ¿Cuándo fue la última vez que visito el dentista?

a. Dentro de los últimos 6 meses

b. Dentro del último año

c. Hace más de 1 año

d. Hace más de 5 años

10. ¿Ha estado bajo algún tratamiento dental en el último año?

SI

NO

- Si respondió SI, ¿Cuál fue el motivo?

**11. ¿Recuerda si su dentista le menciono tener caries y/o desmineralización en sus dientes?**

**SI**

**NO**

- **Si respondió SI, ¿Ha estado bajo algún tratamiento para esto? (Pasta dental, Enjuague bucal, Fluoración, otros)**

**12. Desde que se convirtió al veganismo y empezó con la dieta ¿Ha notado alguna lesión en su boca? (Que haya sido diagnosticada por su dentista)**

**SI**

**NO**

- **Si respondió SI, indique que tipo de lesión(es).**

- **Estas lesiones en su boca, ¿Podría correlacionarse con el consumo de ciertos alimentos? Indique que lesión y con qué alimento.**

**13. ¿Tiene o ha tenido caries durante el último año?**

**SI**

**NO**

**14. ¿Tiene o ha tenido enfermedad periodontal durante el último año? (Que haya sido diagnosticado por su dentista)**

**SI**

**NO**

**15. ¿Ha tenido irritación o ardor en las encías durante el último año?**

**SI**

**NO**

**16. Cuando lava sus dientes ¿Ha notado sangrado de las encías durante el último año?**

**SI**

**NO**

**17. Cuando consume alimentos calientes ¿Siente dolor/ardor en los dientes?**

**a. Si, dolor**

**b. Si, ardor**

**c. Si, ambos**

**d. Nunca**

**18. Cuando consume alimentos fríos ¿Siente dolor/ardor en los dientes?**

- a. Si, dolor**
- b. Si, ardor**
- c. Si, ambos**
- d. Nunca**

**ANEXO 3.** Consentimiento Informado “Aplicación de encuesta”.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE:** Daniela Cornejo Vargas, Camila Fernández Faúndez y Camila García Nova. Alumnas de Odontología Universidad del Desarrollo sede Concepción.

**TITULO:** Caracterización del ambiente bucal en personas veganas. Y eficacia del efecto antimicrobiano de pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente en sujetos veganos, Concepción, 2018.

El objetivo del presente estudio: Caracterizar el ambiente bucal en personas veganas desde el punto de vista de la acidez y la microbiología en sujetos veganos de la provincia de Concepción, año 2018.

Para recolectar los datos se realizara una toma de muestra salival, lo cual tomara 10min aproximadamente.

La participación en este estudio es voluntaria, pudiendo retirarse en cualquier momento de la investigación. La muestra obtenida será completamente confidencial y no será aplicada a otros estudios. Por otra parte su identidad no será revelada en ningún momento.

De ante mano se agradece su participación.

En caso de cualquier duda podrá consultar con:

- Daniela Cornejo Vargas. Alumna Fono: 9 97481880  
Tesisista
- Camila Fernández Faúndez. Alumna Fono: 9 58714303  
Tesisista
- Camila García Nova. Alumna Fono: 9 79538175  
Tesisista
- Carmen Gloria Narváez. Docente Guía Fono: (41) 2226881

Yo, \_\_\_\_\_, RUT

\_\_\_\_\_, he leído la información que se me ha entregado y estoy al tanto de la finalidad de este estudio. He comprendido que no hay riesgos asociados a la realización de este procedimiento. Comprendo que mi participación es voluntaria y que podré retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que esto me perjudique mi calidad de paciente.

Los resultados de este estudio pueden ser publicados, pero mis datos personales jamás serán revelados.

Por lo tanto, presto libremente mi conformidad en esta investigación clínica sin que haya sido forzado u obligado a participar.



.....

Firma Participante

.....

Firma investigador

Concepción, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2018.

**ANEXO 4.** Consentimiento Informado “Toma de muestra salival”.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INVESTIGACION CLINICA**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE:** Daniela Cornejo Vargas, Camila Fernández Faundez, Camila García Nova. Alumnas de Odontología Universidad del Desarrollo sede Concepción.

**TITULO DEL PROTOCOLO:** Caracterización del ambiente bucal de personas veganas y efecto antimicrobiano de pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente estos sujetos, Concepción 2018.

El objetivo de este estudio es “Caracterizar el ambiente bucal en personas veganas desde el punto de vista de la acidez y la microbiología en sujetos veganos de la provincia de Concepción, año 2018”.

Además, como objetivos específicos se plantea:

- 1- Determinar la eficacia de la pasta dental vegana (Caléndula) sobre la flora bacteriana presente en estos sujetos; calculando el recuento bacteriano y pH salival luego de su uso por 7 días.
- 2- Determinar el recuento bacteriano (UFC/mL), tipo de bacterias presentes y pH salival en sujetos veganos.

- 3- Comparar las diferencias del ambiente bucal vegano antes y después de utilizar pasta dental vegana por 7 días.

Los datos personales de cada paciente (nombre, edad, género, examen dental, etc.) serán anotados en una ficha clínica elaborada especialmente para este estudio. Estos datos serán completamente confidenciales y no serán revelados, ni serán aplicados en otro estudio. El alumno y el tutor de tesis responsables de esta investigación serán las únicas personas que tendrán acceso a la información y datos del paciente.

#### Metodología:

A cada paciente se le solicitara saliva estimulada. Se le pedirá al paciente que mastique la pastilla de parafina un par de segundos para estimular la salivación, luego que recolecte la saliva en un tubo centrifuga que se le proporcionará, hasta completar 5mL, este procedimiento no representa ningún riesgo para el paciente, no es doloroso, no requiere anestesia de la zona y es simple.

Una vez obtenida las muestras, se procederá a realizar dos cultivos de cada una de las muestras. El primero untando una tórula de algodón con la saliva diluida y se realiza un frotis sobre una placa de Agar Tripticasa para evaluar el recuento total de bacterias, y luego se realiza otro frotis de la misma manera sobre una placa de Agar Mitis Salivarius para observar el recuento de *Streptococcus Mutans*. Las 30 placas se incubarán a 37°C en aerobiosis durante 24 horas.

Pasada las 24 horas se comenzará a estudiar los cultivos. Se iniciará con el recuento bacteriano en unidades formadoras de colonias (UFC), para lo cual se utilizará el Factor de McFarland diluyendo las muestras sobre Agar Tripticasa y utilizando el contador de colonias.

Para determinar los tipos de bacterias presentes en el cultivo y clasificarlas (para posteriormente caracterizar el ambiente bucal de los sujetos veganos), se realizará un procedimiento de tinción Gram en el laboratorio. Se empleará el reactivo Cristal violeta el cual teñirá todas las bacterias pero solo las Gram positivas se fijarán a él y se verán color violeta al microscopio, después lugol como mordiente para reforzar la unión al colorante, luego se aplicará alcohol cetona por 30 segundos como decolorante donde las bacterias Gram + perderán la coloración, y posteriormente se empleará el reactivo colorante Safranina, el cual será captado por las bacterias Gram - que se verán color rojo al microscopio.

Además, se medirá el pH salival de cada muestra utilizando pH-metro digital desde la muestra salival original y se anotará el pH correspondiente a cada una.

A partir de estos resultados se compararán las mismas variables con estudios previos realizados en sujetos omnívoros. Para eso se indagará en la literatura.

Por otra parte, analizaremos la eficacia del efecto antimicrobiano de una pasta dental vegana (Caléndula). Para esto se hará entrega de la pasta dental, la cual tendrán que utilizar exclusivamente durante una semana, comprometiéndose a no realizar cambios en su dieta



**Caracterización del ambiente bucal de personas veganas y efecto antimicrobiano de pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente estos sujetos, Concepción 2018.**

Yo, \_\_\_\_\_, RUT: \_\_\_\_\_, he leído la información que se me ha entregado y en comprendido en la totalidad la finalidad de y procedimientos de este estudio.

He comprendido que no hay riesgos asociados a la realización de este procedimiento. Comprendo que mi participación es voluntaria y que podré retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto me perjudique en mi calidad de paciente.

Los resultados de este estudio pueden ser publicados, pero mis datos personales no serán revelados, y mis datos clínicos y experimentales permanecerán en forma confidencial y sólo podrán ser vistos por Daniela Cornejo, Camila Fernández, Camila García.

Por lo tanto, presto libremente mi conformidad en esta investigación clínica sin que haya sido forzado u obligado a participar.

---

Firma Participante

---

Firma Alumno Tesista

---

Firma Docente Tesista

Concepción, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2018.

**ANEXO 5.** Carta para validación por Juicio de Expertos.

**VALIDACION POR JUCIO DE EXPERTOS**

Estimado profesor \_\_\_\_\_,

En el contexto de la asignatura de Investigación en Odontología I, quien suscribe Daniela Cornejo Vargas, Camila Fernández Faúndez y Camila García Nova están desarrollando su proyecto de tesis **“Caracterización del ambiente bucal en personas veganas. Y eficacia del efecto antimicrobiano de pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente en sujetos veganos, Concepción, 2018”**, en el contexto de la problemática **“Características del ambiente bucal de personas veganas en la ciudad de Concepción durante el año 2018. Eficacia del efecto antimicrobiano de pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente en estos sujetos”**, cuyo propósito es **Caracterizar el ambiente bucal de personas veganas. Y determinar la eficacia del efecto antimicrobiano de las pastas dentales veganas sobre la flora bacteriana presente en sujetos veganos de Concepción 2018**. Esto implica la utilización de una encuesta como instrumento de recolección de datos.



Con la finalidad de validar esta herramienta mediante Juicio de expertos, usted ha sido seleccionado como posible experto. Para ello es necesario determinar el grado de conocimiento que usted posee sobre el tema investigado (o sobre la construcción de este tipo de instrumentos).

Esta información es absolutamente confidencial y los resultados del cuestionario serán conocidos solamente por los tesistas y su tutor metodológico. Si usted está de acuerdo en participar como experto, se le solicita responder las preguntas que aparecen a continuación.

Muchas gracias por su cooperación.

**ANEXO 6.** Cuestionario de competencia evaluadora.

**CUESTIONARIO DE COMPETENCIA EVALUADORA**

**Nombre:** \_\_\_\_\_

**Profesión:** \_\_\_\_\_

**Instrucciones:**

**Marque con una cruz en la alternativa que considere se adapta más a su realidad.**

**1) ¿Cuál es su nivel de conocimiento sobre el tema de esta investigación?**

**Considere que el valor 0 indica absoluto desconocimiento de la problemática que se evalúa; mientras que el valor 10 indica pleno conocimiento de la referida problemática.**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

**2) En la siguiente tabla, marque con una (X) el grado de influencia que ha tenido cada una de las fuentes de argumentación en sus conocimientos sobre el tema.**

<b>FUENTES DE ARGUMENTACIÓN</b>	<b>GRADO DE INFLUENCIA DE CADA UNA DE LAS FUENTES EN SUS CONOCIMIENTOS</b>		
	<b>ALTO (A)</b>	<b>MEDIO (M)</b>	<b>BAJO (B)</b>
<b>1. Investigaciones teóricas y/o experimentales relacionadas con el tema.</b>			
<b>2. Experiencia obtenida en la actividad profesional (docencia de pregrado y postgrado recibida y/o impartida).</b>			
<b>3. Análisis de la literatura especializada y publicaciones de autores nacionales.</b>			
<b>4. Análisis de la literatura especializada y publicaciones de autores Extranjeros.</b>			
<b>5. Conocimiento del estado actual de la problemática en el país y en el extranjero.</b>			
<b>6. Intuición.</b>			
<b>TOTAL</b>			

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alder, R., PhD. (2013). Gram staining. Magill's Medical Guide (Online Edition).
- Ayala A. (2017). Ética, practicando el veganismo. Disponible en: <http://www.homovegetus.cl/derechos-animales/>
- Baca P., Baca A., Maestre J., (2002). Microbiología de la caries. Liebana Ureña J. *Microbiología oral*. (p561-570) España Ed: Mcgraw-Hill.
- Bardow A, Moe D, Nvad B, Nauntofte B (2000). The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO<sub>2</sub> Arch Oral Biol 45:1-12.
- Benzian H., Holmgren C., Van Valenstein Helderman W. (2012). Efficacy of fluoride toothpaste over time. Brazilian Dental Journal. vol.23 no.4.
- Brignardello G., Jerusa, Heredia P., Lisu, Paz Ocharán S., María, & Durán A., Samuel. (2013). Conocimientos alimentarios de vegetarianos y veganos chilenos. Revista chilena de nutrición, 40(2), 129-134.
- Center for Scientific Information, ADA Science Institute. Last updated: April 13, 2017. Disponible en: <http://www.ada.org/en/member-center/oral-health-topics/toothpastes>

- De Estrada J., Pérez J., Hidalgo-Gato I., (2006). Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev Cubana Estomatol v.43 n.1 Ciudad de La Habana ene.-mar. 2006
- EpaNews, (2015). El innegable aumento de vegetarianos y veganos en Chile. Disponible en: <http://epanews.cl/2015/08/21/el-innegable-aumento-de-vegetarianos-y-veganos-en-chile>
- Francia C, Lissera R, Battellino L, (2007) Película adquirida salival. Acta Odontol Venez 45 (3): 1-11
- Giacaman R.A., Muñoz-Sandoval C., Bravo González E., Farfán-Cerda P. (2013). Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Unidad de Cariología. Universidad de Talca. Talca, Chile.
- Llena Puy, Carmen. (2006). La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet), 11(5), 449-455.
- Mandel I D (1987). The function of saliva. J Dent Res 66:623-627.
- Narváez C. G., (2012) Elementos de Bioquímica para Odontología (2da edición). Alemania. Ed Academia Española.
- Natursan, Christian Pérez (2012). Tipos de dietas y alimentación vegetarianas. Disponible en: <https://www.natursan.net/tipos-de-dietas-y-alimentacion-vegetarianas/>
- Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. Dent Clin North Am, 2010; 54(3): 441-454.

- Rodríguez Villarreal, J.P., Guevara Cabrera, O.F., Armas, A. del C., (2014). Estudio comparativo del PH salival y flujo salival entre personas fumadoras y no fumadoras. Volumen 52, No. 4, Año 2014.
- Rojas Alliende D., Figueras Diaz F., Durán Aguero S., (2017). Advantages and disadvantages of being vegan and vegetarian. Revista chilena de nutrición. Vol.44, n.3, pp. 218-225.
- Schaeken MJ, Creugers TJ, Van der Hoeven JS. Relationship between dental plaque indices and bacteria in dental plaque and those in saliva. J Dent Res, 1987; 66(9): 1499-1502.
- The Vegan Society (2018). Definition of veganism. Disponible en: <https://www.vegansociety.com/go-vegan/definition-veganism>
- Weleda (2018). Pasta dentífrica de Caléndula. Disponible en: [http://www.weleda.cl/index.php?module=fr\\_producto\\_suelto&id=80](http://www.weleda.cl/index.php?module=fr_producto_suelto&id=80)