

La Stevia rebaudiana como coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental: una revisión de literatura*

Stevia rebaudiana as an adjunct in the prevention and control of dental caries: a literature review*

Andrea Elena Paredes Vélez 1

Maria Claudia Naranjo Sierra 2

RESUMEN

Introducción: La caries dental es la enfermedad crónica más prevalente en el mundo, y en Colombia, como en otros países, es considerada como un problema de salud pública. Es una enfermedad compleja, dinámica, y para su desarrollo intervienen muchos factores; la dieta rica en carbohidratos, es uno de los más significativos. La sacarosa se ha relacionado con problemas de salud como la caries, por ello, es deseable su reemplazo por edulcorantes con menos efectos adversos, y que aporten beneficios a la salud general y bucal de los humanos. **Objetivo:** fundamentar, si la Stevia, podría ser considerada como un coadyuvante en la prevención y control de la caries dental. **Metodología:** se realizó una búsqueda de literatura utilizando las bases de datos: Pubmed, Academic Search Complete, Embase, ScienceDirect, y el motor de búsqueda Google académico, mediante los términos MESH: "Dental Caries", "Stevia", "Anti-bacterial Agents", "Sweetening Agents" y palabras clave en español: "Caries dental", "Edulcorantes", "Stevia". **Resultados:** Los estudios revisados in vivo e in vitro mostraron: actividad antibacteriana de extractos de Stevia sobre microorganismos relacionados con caries dental, bajo potencial acidogénico y disminución en la formación de biopelícula dental, debido a la disminución de la hidrofobicidad celular e inhibición de la síntesis de polisacáridos extracelulares. **Conclusiones:** Aunque la evidencia científica aún es insuficiente, la Stevia rebaudiana es una adecuada candidata a reemplazar la sacarosa y puede considerarse como coadyuvante potencial para disminuir los niveles de caries dental, sin embargo, se recomienda realizar más estudios controlados y aleatorizados para que dicho rol se confirme.

PALABRAS CLAVE:

Caries dental; Stevia; edulcorantes; antibacterianos.

ABSTRACT

Introduction: Dental caries is the most prevalent chronic disease in the world, and in Colombia, as in other countries, it is considered a public health problem. It is complex, dynamic disease, and for its development involves many factors; diet rich in carbohydrates is one of the most significant. Sucrose has been linked to health problems such as dental caries, therefore, it is desirable replacement for sweeteners with fewer adverse effects and provide benefits to the general and oral health of humans. **Objective:** To ground, if the Stevia could be considered as an adjunct in the prevention and control of dental caries. **Methodology:** A literature search was performed using the databases: PubMed, Academic Search Complete, Embase, ScienceDirect, and the search engine Google Scholar, through MESH terms: "Dental Caries", "Stevia", "Anti-bacterial Agents", "Sweetening Agents" and key words in Spanish: "caries dental", "edulcorantes", "Stevia". **Results:** The studies revised in vivo and in vitro showed: antibacterial activity of extracts from Stevia on microorganisms related to dental caries, low acidogenic potential and a decrease in the formation of dental biofilm, due to decreased cell hydrophobicity and inhibition of synthesis of extracellular polysaccharide. **Conclusions:** Although the evidence is still insufficient, the Stevia rebaudiana is a suitable candidate to replace sucrose and can be considered as an adjunct potential to reduce levels of dental caries, however, it is recommended that more randomized controlled trials that role is confirmed.

KEY WORDS:

Dental caries; Stevia; sweetening agents; anti-bacterial agents.

* Artículo original de revisión resultado del proceso de investigación realizado por las autoras. Producto académico Proyecto Hermes código 30029, aprobado por el Comité de Ética y Metodología en investigación de la Facultad de Odontología, creación y propiedad de la Universidad Nacional de Colombia

1 Estudiante de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, miembro del grupo de investigación Cariología y defectos del esmalte dental (GRINCADDE) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia. Correo: aparedesv@unal.edu.co.

2 Odontóloga, Colegio Odontológico Colombiano. Especialista en Estomatología Pediátrica, Universidad Nacional de Colombia. Especialista en Docencia Universitaria, Universidad El Bosque. Especialista en Edumática, Universidad Autónoma de Colombia. Profesora titular y directora del grupo de investigación GRINCADDE, Universidad Nacional de Colombia. Correo: mcnaranjos@unal.edu.co.

Citación sugerida

Paredes AE, Naranjo MC. La stevia rebaudiana como coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental: una revisión de la literatura. Acta Odontol Col [en línea] 2016, 6(2): 45-60 [fecha de consulta: dd/mm/aaaa]; Disponible desde: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontolcol>

Recibido	27 de septiembre de 2016
Aprobado	30 de noviembre de 2016
Publicado	31 de diciembre de 2016

INTRODUCCIÓN

La caries dental es la enfermedad crónica más prevalente en todo el mundo (1) y afecta principalmente países en vía de desarrollo y poblaciones vulnerables (2). Aunque en Colombia la prevalencia ha ido disminuyendo paulatinamente, sigue siendo un problema de salud pública como quedó demostrado en los resultados del IV Estudio Nacional de Salud Bucal realizado en 2013-2014. Este estudio mostró que el índice COP-D disminuyó a 1.51 a la edad de 12 años, pero fue incrementando significativamente hasta llegar a 20.55 en el rango de edad de 65 a 79 años (3). Adicionalmente, en el estudio de carga de enfermedad realizado en 2005, la caries dental ocupa el tercer puesto en el país (4). Estos resultados ponen de manifiesto que uno de los retos de la profesión odontológica debe ser la prevención y control de la caries mediante diversas estrategias, propendiendo por disminuir los costos biológicos, sociales y económicos que derivan de ella (5,6). El éxito de cualquier intervención que se realice, dependerá en parte, de la comprensión que se tenga de la complejidad y multifactorialidad de la caries dental.

La caries dental es una enfermedad compleja y dinámica, causada por eventos metabólicos de la biopelícula que recubre el tejido, cuando se altera el estado de equilibrio entre la fase mineral del diente y el fluido de la biopelícula, lo que conduce a una disolución química localizada (7,8). La etiología de la caries es multifactorial, en su aparición y desarrollo se encuentran relacionados factores de riesgo psicosociales y biológicos. Dentro de los factores biológicos, la dieta en su contenido y frecuencia de ingestas, es uno de los más significativos (9,10), además de asociarse a factores biológicos como la biopelícula bacteriana, la dieta, la baja exposición a fluoruros tópicos, entre otros, también se encuentra asociado a barreras de acceso a la salud, inequidad económica, social y educativa (2).

En la dieta humana, es característico el consumo de diversos azúcares y dentro de estos, el edulcorante más utilizado en el mundo es la sacarosa (11). Este azúcar se ha relacionado con la incidencia de problemas de salud como el aumento de peso corporal, diabetes mellitus tipo II, enfermedades cardiovasculares (12,13), y adicionalmente, es clara su relación con la caries dental (12,14,15-17). La sacarosa es un carbohidrato fácilmente metabolizado por las bacterias de la biopelícula dental, generando ácidos que alteran el equilibrio de la microflora oral y producen desmineralización de la estructura dental (15,18,19).

En vista de la alta cariogenicidad de la sacarosa, sería deseable su reemplazo por sustancias seguras, eficaces y que además fueran benéficas para la salud general y bucal de los seres humanos (11). En las últimas décadas han surgido sustitutos de la sacarosa, como el xilitol, sorbitol, manitol, sacarina, aspartamo, sucralosa; sin embargo, algunos de ellos han sido relacionados con efectos adversos, además estos sustitutos no traen beneficios adicionales para la salud humana (20). Ante esto, la mirada ha sido dirigida a edulcorantes de origen natural como la Stevia rebaudiana, la cual parece ser un edulcorante bastante prometedor en lo que respecta a la salud (11). Con esta revisión se pretende fundamentar, con base en la evidencia científica disponible, si la Stevia rebaudiana, gracias a sus características, podría ser considerada y recomendada como un coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental.

METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda de la literatura del año 2000 al 2015, en los idiomas de inglés y español, utilizando las **bases de datos**: Pubmed, Academic Search Complete, Embase, ScienceDirect, y el motor de búsqueda Google académico. Las **palabras clave** utilizadas en inglés fueron: (términos MESH): "Dental Caries", "Stevia", "Anti bacterial Agents", "Sweetening Agents", con **combinaciones** como "Dental Caries AND Stevia", "Sweetening agents AND Stevia", "Anti bacterial Agents AND Stevia", "Anti bacterial Agents AND Dental caries". Las **palabras clave** utilizadas para realizar la búsqueda de literatura en español fueron: "Caries dental", "Edulcorantes", "Stevia". Se utilizaron las **combinaciones**: "Caries dental AND Stevia", "Caries dental AND Edulcorantes", "Edulcorantes AND Stevia". Se incluyeron: estudios experimentales in vitro e in vivo, ensayos clínicos controlados y aleatorizados, artículos de revisión bibliográfica referentes a los temas Stevia y caries dental. Se tomaron en cuenta artículos disponibles o no en texto completo. Además se realizó una búsqueda de textos, páginas web y de las bibliografías de artículos relacionados con el tema de investigación.

Aspectos epidemiológicos de la caries dental

La caries dental sigue siendo un problema de salud pública a nivel internacional y nacional debido a las altas prevalencias reportadas y por ser uno de los motivos de consulta más frecuente (5). A pesar de ser una enfermedad prevenible y controlable, entre el 60% y el 90% de escolares y casi el 100% de adultos en el mundo tiene experiencia de caries (1). En Colombia, según los estudios nacionales realizados, la experiencia de caries dental ha disminuido paulatinamente, sin embargo, los valores continúan siendo elevados (3,21). El cuarto Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV) realizado entre los años 2013 y 2014, muestra que de un COP-D a los 12 años de 2.3 en 1998-1999, se pasó a un COP-D de 1.51, siendo estos valores inferiores al valor de referencia internacional de la OMS para esta edad que es de 3.0. Sin embargo, el índice COP-D experimentó un incremento importante de los 12 a los 18 años (3.18), y continuó haciéndolo de forma progresiva hasta llegar a 20.55 en los mayores de 65 años. Aunque se debe reconocer que la prevalencia de caries dental se ha reducido en comparación con los estudios anteriores, los datos de experiencia y prevalencia de caries, reportados en el ENSAB IV siguen siendo significativamente altos (3) como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Experiencia y prevalencia de caries dental según edad en dentición temporal, mixta y permanente. Colombia, 2013 – 2014.

EDADES	EXPERIENCIA DE CARIOS	PREVALENCIA DE CARIOS
1 año DT	6.02%	5.89%
3 años DT	47.10%	43.77%
5 años DT	62.10%	52.20%
5 años DM	62.24%	52.38%
12 años DM	58.75%	41.90%
12 años DP	54.16%	37.45%

DT: dentición temporal. DM: dentición mixta. DP: dentición permanente.

Elaboración propia con datos tomados de: *Colombia, Ministerio de salud y Protección social. IV Estudio nacional de salud bucal ENSAB IV. Colombia: Minsalud; 2014.*

Tabla 1. Experiencia y prevalencia de caries dental según edad en dentición temporal, mixta y permanente. Colombia, 2013 – 2014.

EDADES	EXPERIENCIA DE CARIES	PREVALENCIA DE CARIES
15 años DP	66.31%	44.49%
18 años DP	75.21%	47.79%
Entre 20 Y 34 años DP	97.96%	52.81%
Entre 35 Y 44 años DP	97.37%	64.73%
Entre 45 Y 64 años DP	98.46%	61.11%
Entre 65 Y 79 años DP	96.26%	43.47%

DT: dentición temporal. DM: dentición mixta. DP: dentición permanente.

Elaboración propia con datos tomados de: *Colombia, Ministerio de salud y Protección social. IV Estudio nacional de salud bucal ENSAB IV. Colombia: Minsalud; 2014.*

La diferencia entre la experiencia y la prevalencia de caries reportadas en el ENSAB IV, y que se muestra en la Tabla 1, da cuenta de la escasa resolución que se le ha dado a la patología. La experiencia de caries dental aumenta a lo largo del tiempo, lamentablemente a expensas de la elevación de dientes perdidos más que obturados, indicando que no se ha logrado la sostenibilidad de los programas de prevención y control de la caries dental (3).

Otros estudios nacionales han demostrado la importancia que merece la caries dental como enfermedad; en el año 2005 el *Centro de Proyectos para el Desarrollo* evaluó la carga de enfermedad en Colombia según el sexo y la edad. En mujeres en todos los rangos de edad a partir de los 5 años, la caries se encuentra dentro de los primeros 5 lugares de carga de enfermedad, a excepción de mujeres en los rangos de edad de 70 a 79 y 80 y más años en los cuales ocupan el sexto y séptimo lugar respectivamente. En hombres, en todas las edades a partir de los 5 años la caries dental se encuentra dentro de los primeros cinco lugares de carga de enfermedad. En promedio, tanto en mujeres como en hombres de todas las edades, la caries dental ocupó el tercer lugar de carga de enfermedad en el país (4).

Bacterias, sacarosa y caries dental

La iniciación y progresión de las lesiones de caries dental dependen de una gran variedad de factores, entre ellos, la dieta (14,22,23), la cual dependiendo de su contenido puede favorecer la colonización de la cavidad bucal por bacterias cariogénicas; y el potencial cariogénico de estos microorganismos está directamente relacionado con el consumo de hidratos de carbono, en particular de sacarosa (7,14,24). Una dieta rica en carbohidratos fermentables como la sacarosa que es altamente acidogénica es sin duda, uno de los factores más importantes en la etiología de esta enfermedad. Existe una clara relación entre el consumo de sacarosa y la incidencia de caries dental (12,14,15). La sacarosa es un disacárido compuesto por una molécula de glucosa y una de fructosa (25), es metabolizada fácilmente por las bacterias de la biopelícula dental, lo que genera unos subproductos ácidos que conducen a la desmineralización de la estructura dentaria (15), adicionalmente posee la capacidad única de apoyar la síntesis de polisacáridos extracelulares por el *S. mutans* y por esta razón ha sido considerada como un sustrato altamente cariogénico (26).

La cavidad bucal es un ecosistema muy diverso, dinámico y único en el cuerpo humano con una gran inestabilidad de sus condiciones ecológicas (27). La biopelícula que recubre las superficies dentales, es bastante compleja y se considera que la caries dental resulta de una alteración microbiológica dentro de ésta. La biopelícula sobre una superficie de esmalte clínicamente sano contiene principalmente *Streptococcus* no mutans y *Actinomyces*, en la cual la acidificación es leve e infrecuente. Esto es compatible con un equilibrio en el balance desmineralización/remineralización o cambios en el balance mineral hacia la ganancia mineral neta (estado de estabilidad dinámica). Cuando el azúcar es suplido frecuentemente, la acidificación llega a ser moderada y frecuente, esto puede favorecer la acidogenicidad y aciduricidad de bacterias no mutans adaptativas. En adición, más cepas acidúricas, así como *Streptococcus* no mutans de "bajo pH", pueden incrementar selectivamente. Esos procesos de adaptación y selección microbiológica inducidos por ácidos, pueden en el tiempo cambiar el balance desmineralización/remineralización hacia la pérdida mineral neta permitiendo la iniciación y progresión de la caries dental (estado acidogénico). Bajo condiciones ácidas prolongadas y severas, más bacterias acidúricas llegarán a ser dominantes a través de la selección inducida por ácidos por deterioro ácido temporal y ácido inhibición de crecimiento (estado acidúrico). En este estado, el *Streptococcus mutans* y el *Lactobacillus acidophilus*, así como cepas acidúricas de *Streptococcus* no mutans, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, y levaduras, llegan a ser dominantes (24,28).

Muchas bacterias acidogénicas y acidúricas están involucradas en la caries dental. La acidificación ambiental es el principal determinante de los cambios fenotípicos y genotípicos que ocurren en la microflora durante la caries (24,28). Por lo tanto, altas concentraciones de *Streptococcus mutans* u otras bacterias acidúricas, pueden ser consideradas biomarcadoras de sitios de progresión rápida de la caries dental (24).

Sustitutos de la sacarosa y la caries dental

Actualmente se propende por la sustitución de la sacarosa, es así como se han desarrollado varios edulcorantes que se han clasificado como aparece en la Tabla 2. La sacarosa pertenece al grupo de los edulcorantes nutritivos o calóricos (11).

Tabla 2. Clasificación de los edulcorantes sustitutos de la sacarosa.

Edulcorantes nutritivos o calóricos	Oligosacáridos (algunos)	Palatinosa o isomaltosa, fructo-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, lacto-oligosacáridos, xilo-oligosacáridos.
	Azúcares de almidón	Glucosa, maltosa, azúcar invertido, y fructosa.
	Alcoholes de azúcar	Eritritol, sorbitol, manitol, xilitol, maltitol, lactitol.
Edulcorantes no nutritivos o no calóricos	Sintéticos	Aspartamo, sacarina, sucralosa.
	Naturales	Stevia rebaudiana, monelina, taumatinia.

Elaboración propia con datos tomados de: Matsukubo T, Takazoe I. Sucrose substitutes and their role in the caries prevention. *Int Dent J.* 2006; 56(119-130).

Muchos de los edulcorantes nutritivos han mostrado beneficios a nivel dental al ser menos acidogénicos que la sacarosa, sin embargo, estos en general, no son libres de calorías y en el caso de los alcoholes de azúcar se han visto asociados a efectos secundarios como malestar abdominal, flatulencias y diarrea (11). El sorbitol, por ejemplo, ha dado lugar a dolores abdominales y en personas diabéticas debe ser consumido en cantidades específicas debido a que en concentraciones muy altas puede convertirse en glucosa y acumularse en los riñones causando daño a éstos, a tejidos nerviosos y a la retina (29).

Los edulcorantes no nutritivos sintetizados químicamente han mostrado propiedades anticariogénicas pero por otro lado, han sido motivo de grandes controversias en la literatura científica acerca de posibles actividades carcinogénicas y debido a que diferentes estudios han mostrado que son capaces de producir aumento en el peso corporal y obesidad al interferir con procesos fisiológicos y homeostáticos fundamentales (30,31).

Endulzantes sustitutos de la sacarosa están disponibles actualmente en el mercado en muchos países. Se cree que el uso de estos edulcorantes en productos dulces pudo haber contribuido en parte a la disminución de la prevalencia de caries dental en los países industrializados. Sin embargo, la investigación continúa para identificar los edulcorantes no cariogénicos y su papel a desempeñar en el control de la caries dental (11). Estos deben ser estudiados tanto desde el punto de vista cariogénico como nutricional, toxicológico y económico (15). Son requisitos críticos para las sustancias edulcorantes, que sean nutricionalmente apropiados y que no sean perjudiciales para la salud y el bienestar general del individuo (11).

Stevia rebaudiana

Generalidades

La Stevia rebaudiana bertoni es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia de las asteráceas (32); fue descubierta por primera vez por pueblos indígenas de Sudamérica quienes usaban las hojas para masticarlas o para endulzar sus bebidas. En 1899 el botánico suizo Moisés Santiago Bertoni, describió detalladamente su sabor dulce y la registró científicamente como *Eupatorium Rebaudianum* en Paraguay, posteriormente en 1905 fue definida como Stevia rebaudiana un miembro de la familia de las Asteraceas. Más tarde en 1931 dos químicos franceses lograron aislar los componentes responsables de su sabor dulce (33). La Stevia crece en suelo arenoso, lo que requiere un lugar cálido soleado. El clima natural adecuado es subtropical semihúmedo, con temperaturas de 24 ° C en promedio (32).

La Stevia es una planta originaria de América del Sur principalmente de Paraguay y Brasil (34) y se está cultivando y comercializando en algunas regiones de Asia, Europa y Canadá (35). Se ha encontrado que la Stevia posee un alto grado de dulzura el cual es de 150 y 300 veces el de la sacarosa por lo que la han clasificado dentro de los edulcorantes naturales intensos (11). Este edulcorante también posee propiedades antibacterianas contra diversos microorganismos incluyendo el *Streptococcus mutans* (36).

La Stevia rebaudiana es calificada como una "molécula noble", porque es 100% natural, no tiene calorías, las hojas pueden ser utilizadas en estado natural y en pequeñas cantidades (37). Aproximadamente un cuarto de una cucharadita de Stevia equivale a una cucharadita de azúcar (38).

Además de ser más dulce que la sacarosa, la dulzura de la Stevia se considera de mayor calidad en términos de suavidad y frescura (39).

Composición

La Stevia está compuesta por un gran número de productos naturales, más de 100 compuestos se han aislado a partir de esta planta; entre sus componentes más importantes se encuentran los glucósidos de diterpeno también conocidos como glucósidos de esteviol (32), los glucósidos son moléculas compuestas por un carbohidrato (generalmente monosacáridos como la glucosa) y un compuesto no carbohidrato (40); entre estos se encuentran: el esteviósido, steviol, steviolbiosido, rebaudiósido A, B, C, D, E, F y el dulcosido A (32). De éstos, el esteviósido (110 a 270 veces más dulce que la sacarosa) y el rebaudiósido A (180-400 veces más dulce que la sacarosa) son los más importantes (41). La diferencia entre estos glucósidos se encuentra sólo en la presencia de una glucosa (42) y su fracción de peso en los tejidos de la planta, el cual es de 5-10% para el esteviósido y 2-4% para el rebaudiósido A (35).

Los componentes de la Stevia no se han descrito en su totalidad pero ya ha sido establecida gran parte de su composición. Las hojas frescas contienen un alto porcentaje de agua que va del 80 al 85%, una cantidad sustancial de proteínas, fibra, aminoácidos, azúcares libres, lípidos y aceites esenciales. Además de los glucósidos mencionados anteriormente, las hojas contienen ácido ascórbico, β -caroteno, cromo, cobalto, magnesio, hierro, potasio, fósforo, riboflavina, tiamina, estaño, zinc, entre otros (43).

Propiedades

Se han encontrado diversas propiedades de la Stevia como un sabor muy dulce comparado con el de la sacarosa, es baja en calorías, no es acidogénica (32) y no altera la concentración de glucosa en sangre (44). También, se destacan otros atributos de la Stevia rebaudiana en la salud general de los seres humanos. Se le atribuyen propiedades antioxidantes (45), antidiabéticas (44,46), antihipertensivas (47), antitumorales (48), antiinflamatorias e inmunomoduladoras (49), antidiarreicas (50), cicatrizantes (43), antivirales (51), antibacteriales (48) y antifúngicas (52). Los resultados de estudios toxicológicos no han mostrado actividad tóxica, mutagénica ni carcinogénica y tampoco se han encontrado reacciones alérgicas ni efectos adversos por el consumo de Stevia como edulcorante en la dieta (42,53). Estas características le han dado grandes utilidades como endulzante natural y le han atribuido grandes beneficios terapéuticos en la diabetes, control de peso corporal, disminución de acumulación de grasas y reducción de la presión arterial (32).

RESULTADOS

De acuerdo con la revisión realizada, la Stevia rebaudiana posee ciertas propiedades anticariogénicas y antiperiodontopáticas que la hacen buena candidata para postularse como un complemento terapéutico en el cuidado odontológico (43). En estudios de revisión como el de *Puri y colaboradores* catalogan la Stevia como una buena alternativa a la sacarosa (13); de igual forma, *Lemus-Mondaca y colaboradores* concluyen que la Stevia es el sustituto de la sacarosa más apropiado en comparación con otros edulcorantes no nutritivos artificiales (35). Adicionalmente, *Gupta y colaboradores* califican la Stevia como un sustituto de la sacarosa ideal por su gran valor nutricional (32).

Investigaciones realizadas de tipo experimental *in vitro* e *in vivo* han evaluado la propiedad anti-cariogénica de la Stevia y han descrito los mecanismos de acción por los cuales esto sucede (43). Son ellos:

- Actividad antibacteriana sobre microorganismos relacionados con la iniciación y la progresión de la caries dental (36,54-62).
- Bajo potencial acidogénico dentro de la biopelícula dental que controla la aparición y progresión de las lesiones de caries (57,58,61,63).
- Disminución en la formación de biopelícula dental (64), debido a la baja agregación de microorganismos, producto de la disminución de la hidrofobicidad de la superficie celular (61) e inhibición de la síntesis de polisacáridos extracelulares (61,56,57).

En la Tabla 3 se pueden observar los mecanismos de acción evaluados por diferentes estudios.

Tabla 3. Mecanismos de acción a través de los cuales la Stevia puede actuar como coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental evaluados en diferentes estudios.

Estudio	Actividad antibacteriana	Bajo potencial acidogénico	Baja acumulación de placa dental	Disminución de hidrofobicidad celular	Inhibición síntesis de polisacáridos extracelulares
	✓	✓	NE	✓	✓
Triratana y col. (61)	✓	✓	NE	✓	✓
Buitrago y col. (60)	✓	NE	NE	NE	NE
Vitery y col. (36)	✓	NE	NE	NE	NE
Campos (56)	✓	NE	NE	NE	✓
Mohammadi-Sichani y col. (54)	✓	NE	NE	NE	NE
Gamboa y col. (55)	✓	NE	NE	NE	NE
Pérez (59) (59)	✓	NE	NE	NE	NE
Giacaman y col. (57)	✓	✓	NE	NE	✓
Ajagannanavar y col. (62)	✓	NE	NE	NE	NE
Zanelia y col. (65)	X	NE	X	NE	NE
De Slavutzky (64)	NE	NE	✓	NE	NE
Giongo y col. (66)	NE	X	NE	NE	NE
Goodson y col. (63)	NE	✓	NE	NE	NE
Brambilla y col. (58)	✓	✓	NE	NE	NE

✓ : Mecanismo de acción encontrado en el estudio.

X : Mecanismo de acción no encontrado en el estudio.

NE : No Evaluado.

DISCUSIÓN

Estudios epidemiológicos nacionales en Colombia han dado cuenta de la importancia que merece la caries dental como enfermedad (3,4). Los resultados dejan claro que se trata de un problema de salud pública de escasa resolución y de altos costos biológicos, sociales y económicos; difíciles de asumir en un país en desarrollo como el nuestro (2). Aunque en Colombia, se ha mostrado disminución en la historia y prevalencia de caries dental en niños y adolescentes, este resultado no es sostenible en los adultos (3). Ello a pesar de múltiples intervenciones como programas de acción preventiva odontológica, la fluorización de la sal y medidas específicas como la aplicación de flúor y sellantes impulsadas tanto por el Estado como a nivel privado (21). Ello indica que más medidas o estrategias deberían ser implementadas propendiendo por la prevención y el control de la caries dental.

Las intervenciones más costo-efectivas en caries dental se fundamentan en el conocimiento que se tiene de la patología, por tanto, es prioritario tener clara su complejidad y multifactorialidad. En tal sentido, no se desconoce que las intervenciones descritas en el párrafo anterior tengan impacto, pues procuran controlar factores relacionados con su aparición y desarrollo, sin embargo, es claro que han sido insuficientes, por tanto deberían ser complementadas con otras medidas razonables. En ese orden de ideas, y con base en el conocimiento que se tiene de la caries dental como una enfermedad mediada por la dieta, se requiere la implementación de medidas orientadas a sustituir sustancias cariogénicas como la sacarosa, la cual ha sido ampliamente relacionada con la aparición y desarrollo de la caries dental (17).

Varios edulcorantes alternativos han sido investigados en busca de controlar los efectos negativos que ejerce la sacarosa sobre la salud general, sin embargo, no hay resultados contundentes de su uso seguro en humanos (43). Según la revisión realizada, todo parece indicar que la Stevia rebaudiana es la mejor opción. Este edulcorante natural, ha demostrado en diferentes estudios ser de uso seguro (42,53), con grandes beneficios para la salud y propiedades que pueden proteger contra la caries dental, entre otras (32). El 86% de los estudios incluidos en esta revisión encontraron resultados satisfactorios de la Stevia rebaudiana en los aspectos evaluados: la actividad antibacteriana, el bajo potencial acidogénico, la disminución en la acumulación de placa dental y el bajo efecto en la hidrofobicidad celular y síntesis de polisacáridos extracelulares. El restante 14% de estudios revisados, no encontraron resultados favorables en los mismos aspectos evaluados; probablemente por algunos factores utilizados en la metodología que interfirieron en el desarrollo y actividad de la Stevia, tales como: una baja concentración y frecuencia de uso de los extractos de Stevia y su asociación con sustancias como lactosa y fluoruro de sodio de pH 3,4.

El 71% de los estudios revisados coinciden en un efecto antibacteriano de los extractos de la Stevia rebaudiana contra bacterias de importancia en la caries dental. Estudios in vitro como el de Campos (56), Buitrago y col (60), Mohammadi-Sichani y col (54), Pérez (59) y Giacaman y col (57) coinciden en afirmar que los extractos de la Stevia rebaudiana poseen una actividad inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans*. Otros estudios in vitro como los de Vitery y col (36) y Ajagannanavar y col (62) coinciden en un efecto inhibitorio de extractos de Stevia sobre el *S. mutans* y el *Lactobacillus acidophilus*. Adicionalmente, Triratana y col (61) encontraron una actividad inhibitoria sobre el crecimiento del *Streptococcus sobrinus*, y Gamboa y col (55) encontraron una actividad antibacteriana de la Stevia sobre diferentes cepas bacterianas como *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. rattus*, *S. cricetus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y *L. casei*. Contrariamente, Zanella y col (65) no encontraron un efecto antibacteriano ni una disminución en la formación de biopelícula dental de la Stevia rebaudiana, los autores consideraron que probablemente dichos resultados

obedecen a que usaron una concentración de steviósido muy baja (0,5%), la frecuencia de uso era baja (una vez al día) y el steviósido estaba asociado a Fluoruro de Sodio al 0,05% con pH de 3,4. Adicionalmente, el steviósido posee baja solubilidad a temperatura ambiente lo que altera su concentración. Estos factores pudieron haber interferido en la actividad de la Stevia sobre la formación de la biopelícula dental y los niveles de *Streptococcus mutans*, y de esta manera, impedir resultados favorables de la Stevia en el estudio.

En cuanto a la actividad antibacteriana de extractos de la Stevia en diferentes solventes tres de los estudios revisados la compararon: Vitery y col (36) y Gamboa y col (55) coinciden en que el extracto hexanólico es el que arroja mejores resultados, pero cabe anotar que estos estudios no evaluaron el solvente acetona; quienes sí lo hicieron fueron, Mohammadi-Sichani y col (54) y determinaron precisamente, que la Stevia en extracto de acetona mostró el mayor potencial antibacteriano; sin embargo, en este estudio no se tuvo en cuenta el extracto de hexano, por tanto, este factor estaría por definirse.

De los estudios revisados, 29% de ellos encontraron una baja acidogenicidad de la Stevia rebaudiana en la biopelícula dental, Triratana y col (61) y Giacaman y col (57) encontraron una baja tasa de producción de ácidos en sus estudios in vitro. Dos estudios clínicos realizados por Goodson y col (63) y Brambilla y col (58) coinciden al afirmar que la Stevia posee un bajo potencial de acidogenicidad en comparación con la sacarosa. Contrariamente, Giongo y colaboradores (66) no encontraron un bajo potencial acidogénico de una solución que contenía steviósido y lactosa. Este resultado probablemente obedezca a la baja concentración de steviósido contenida en dicha solución la cual era de 7% frente a un 93% de lactosa. Se conoce que la lactosa, carbohidrato fermentable, puede causar una disminución marcada en el pH de la placa (67) y pudo haber interferido con la actividad de la Stevia en el estudio.

El 21% de los estudios evaluaron la síntesis de polisacáridos extracelulares, Triratana y col (61), Campos (56) y Giacaman y col (57) coinciden en sus estudios in vitro que la Stevia rebaudiana produce menor cantidad de polisacáridos extracelulares. Por su parte, Triratana y col (61) encontraron una disminución en la hidrofobicidad celular in vitro por parte de la Stevia en comparación con la sacarosa. Estos factores, es decir, una baja síntesis de polisacáridos extracelulares y una baja hidrofobicidad de la superficie celular bacteriana contribuyen a una reducción de la agregación de bacterias resultando en una disminución de la formación de biopelícula dental.

En un estudio in vivo realizado por De Slavutzky (64) (corresponde al 7% de los estudios revisados), se evaluó el efecto de enjuagues a base de Stevia rebaudiana en la acumulación de biopelícula dental, encontrando una disminución en la acumulación de la placa bacteriana cuando se usó el enjuague de Stevia en comparación con el de sacarosa. Esto indicaría un potencial beneficio de la Stevia como componente de productos de uso bucal, y por tanto, podrá ser útil en estos casos.

Para definir la contribución de la Stevia en el área de la odontología son necesarios más estudios que confirmen las propiedades anticariogénicas de este edulcorante, debe definirse el solvente que logre el mejor desempeño de los extractos de esta planta y la concentración utilizada como edulcorante debe ser valorada para que proporcione un sabor adecuado y a su vez actúe como un coadyuvante en la prevención y el control de la caries dental efectivo. Además debe ser estudiada más a fondo su actividad en combinación con otros componentes alimentarios con los que estará en contacto al ser un edulcorante sustituto de la sacarosa.

Otro factor a tener presente es el relacionado con el costo de la Stevia. Este, es bastante elevado comparándolo con el de la sacarosa, en el mercado colombiano, la Stevia vale alrededor de \$48.000 por kilogramo, mientras el azúcar tradicional tiene un costo de aproximadamente \$2.300 por kilogramo, lo que muestra una gran diferencia a simple vista, sin embargo, por su poder edulcorante, la porción utilizada para endulzar con Stevia es mucho menor que la usada con sacarosa; Durán y colaboradores (38) afirman que aproximadamente un cuarto de una cucharadita de Stevia equivale a una cucharadita de azúcar, de igual forma, en algunos productos comerciales en su información nutricional se afirma que una porción de 0,8 gramos (1/4 de cucharadita) de Stevia es equivalente a 10 gramos (2 cucharaditas) de azúcar tradicional. Esto nos permite estimar que el costo de la Stevia no resulta ser tan elevado si se valoran las proporciones utilizadas para su consumo y la relación costo/beneficio.

La propuesta de utilizar la Stevia como una alternativa de la sacarosa es consistente con los planteamientos de la Organización Mundial de la Salud que emite como recomendación fuerte la reducción de la ingesta de azúcares tanto en niños como en adultos (12). La Stevia es capaz de reemplazar las cualidades edulcorantes de la sacarosa, y a su vez posee propiedades y características que permitirán disminuir los índices de caries dental (11), tales como, la conservación del equilibrio homeostático en la biopelícula dental debido a la poca o nula producción de ácidos derivados del metabolismo bacteriano, conservando un pH neutro en la cavidad bucal, no promueve la actividad y proliferación de microorganismos cariogénicos (58), y tiene un alto valor nutricional (32).

Por lo dicho anteriormente, la Stevia rebaudiana parece ser una candidata ideal a sustituir la sacarosa (32) que además de ser segura (42,53) y de proporcionar beneficios nutricionales y de salud (32), será de gran utilidad en los procesos de prevención y control de la caries dental, gracias a sus características y propiedades como edulcorante natural y como antimicrobiano con bajo potencial acidogénico y poco efecto en la formación de biopelícula dental (61).

CONCLUSIONES

- La Stevia rebaudiana por sus características y propiedades documentadas en la literatura científica parece ser una adecuada candidata a reemplazar la sacarosa, sin embargo, la evidencia científica de su uso como un coadyuvante potencial para disminuir los niveles de caries dental en los individuos aún es insuficiente.
- Los estudios *in vitro* realizados con extractos de Stevia han mostrado actividad antibacteriana sobre microorganismos relacionados con la caries dental, lo que indica que este edulcorante promete ser una opción para la prevención y control de la caries dental.
- Los estudios *in vitro* e *in vivo* realizados con extractos de Stevia rebaudiana han mostrado que es un edulcorante con bajo potencial acidogénico, por tanto poco inductor de lesiones de caries dental.
- El efecto antiplaca demostrado en estudios *in vivo* e *in vitro*, también candidatizan la Stevia rebaudiana para ser un componente de productos de uso bucal como cremas y enjuagues dentales.

- Por los beneficios atribuidos a la Stevia tanto a nivel bucal como sistémico, su uso podría representar un beneficio adicional para individuos con compromiso sistémico como pacientes con diabetes, hipertensión arterial y obesidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Organización Mundial de la Salud.** Salud bucodental [internet]. Ginebra: OMS centro de prensa; 2007 [acceso 20 de Febrero de 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
2. **Petersen PE.** Socio behavioral risk factors in dental caries international perspectives. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005; 33(4):274-279.
3. **Colombia, Ministerio de salud y Protección social.** IV Estudio nacional de salud bucal ENSAB IV. Colombia: Minsalud; 2014.
4. **Acosta N, Peñaloza R, Rodríguez J.** Carga de enfermedad Colombia 2005: resultados alcanzados [documento técnico ASS/1502-08]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, Centro de Proyectos para el Desarrollo (Cendex); 2008.
5. **Suárez E, Velosa J.** Comportamiento epidemiológico de la caries dental en Colombia. *Univ Odontol* 2013; 32(68):117-124.
6. **Martignon S, Naranjo MC, Yepes JF.** Dossier temático Caries Dental. *Univ Odontol* 2013; 32(68): 19-23.
7. **Marsh P, Nyvad B.** The oral microflora and biofilms on the teeth. In: Fejerskov O, Kidd E, (ed). *Dental caries: the disease and its clinical management*. Singapore: Blackwell Munksgaard 2008: 164-187.
8. **Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E.** Pathology of dental caries. In: Fejerskov O, Kidd E, (ed). *Dental caries: the disease and its clinical management*. 2nd ed. Singapore: Blackwell Munksgaard; 2008: 287-327.
9. **Selwitz R, Ismail A, Pitts N.** Dental caries. *Lancet* 2007; 369(9555): 51-59.
10. **Stružycka I.** The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol* 2014; 63(2): 127-135.
11. **Matsukubo T, Takazoe I.** Sucrose substitutes and their role in the caries prevention. *Int Dent J* 2006; 56(3):119-130.
12. **World Health Organization.** World Health Organization. 2015. Guideline: sugars intake for adults and children. Document Production Services. Geneva (Switzerland): World Health Organization; 2015.
13. **Puri M, Sharma D, Tiwari A.** Downstream processing of stevioside and its potential applications. *Biotechnol Adv* 2011; 29(6):781-791.

14. **Sheiham A, James W.** Diet and Dental Caries: The Pivotal Role of Free Sugars Reemphasized. *J Dent Res* 2015; 94(10):1341-7.
15. **Gupta P, Gupta N, Pawar A, et al.** Role of Sugar and Sugar Substitutes in Dental Caries: A Review. *ISRN Dent* 2013; 2013.
16. **Kim N, Kinghorn A.** Highly sweet compounds of plant origin. *Arch Pharm Res* 2002; 25(6):725-746.
17. **Meyer B, Lee J.** The Confluence of Sugar, Dental Caries, and Health Policy. *J Dent Res* 2015; 94(10):1338-40.
18. **Hics J, Garcia-Godoy F, Flaitz C.** Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization. *J Clin Pediatr Dent* 2004; 28(1):47-52.
19. **Marsh P.** Contemporary perspective on plaque control. *Br Dent J* 2012; 212(12):601-606.
20. **Hyman M.** Systems biology: the gut-brain-fat cell connection and obesity. *Altern Ther Health Med* 2006; 12(1):10-16.
21. **Colombia, Ministerio de salud, Centro Nacional de Consultoría.** III Estudio nacional de salud bucal y II estudio de factores de riesgo de las enfermedades crónicas. Tomo VII. Bogotá: Minsalud; 1999
22. **Burt B, Eklund S, Morgan K, et al.** The effects of sugars intake and frequency of ingestion on dental caries increment in a three-year longitudinal study. *J Dent Res* 1988; 67(11): 1422-9.
23. **Rugg-Gunn A, Hackett A, Appleton D, et al.** Relationship between dietary habits and caries increment assessed over two years in 405 English adolescent school children. *Arch Oral Biol* 1984; 29(12):983-992.
24. **Takahashi N, Nyvad B.** Caries Ecology Revisited: Microbial Dynamics and the Caries Process. *Caries Res* 2008; 42(6):409-418.
25. **American Dietetic Association.** Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(2):255-275.
26. **Zero D.** Sugars-The Arch Criminal?. *Caries Res* 2004; 38(3):277-285.
27. **Marsh PD.** Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 2005; 32(s6):7-15.
28. **Takahashi N, Nyvad B.** The Role of Bacteria in the Caries Process: Ecological Perspectives. *J Dent Res* 2011; 90(3):294-303.

29. Sheet BS, Artik N, Ayed MA, et al. Some Alternative Sweeteners (Xylitol, Sorbitol, Sucralose and Stevia): Review. *Karaelmas Science and Engineering Journal* 2014; 4(1):63-70.
30. Tandel KR. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *J Pharmacol Pharmacother* 2011; 2(4):236-243.
31. Bellisle F, Drewnowski A. Intense sweeteners, energy intake and the control of body weight. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(6):691-700.
32. Gupta E, Purwar S, Sundaram S, et al. Nutritional and therapeutic values of Stevia rebaudiana: A Review *J Med Plants Res* 2013; 7(46):3343-53.
33. Global Stevia Institute. GSI Historia Infographic [internet] 2014 [acceso Marzo de 2015]. Disponible en: <http://globalsteviainstitute.com/es/gsi-historia-infographic/>
34. Geuns J. Stevioside. *Phytochemistry* 2003; 64(5):913-921.
35. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, et al. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry* 2012; 132(3):1121-32.
36. Vitery G, Escribano S, Gamboa F, et al. Actividad inhibitoria de la stevia rebaudiana sobre el Lactobacillus acidophilus y el Streptococcus mutans. *Rev Nat Odo* 2010; 6(10):57-64.
37. Jarma A, Combatt EM, Cleves JA. Aspectos nutricionales y metabolismo de Stevia rebaudiana (Bertoni). Una revisión. *Agron Colomb* 2010; 28(2):199-208.
38. Durán A, Rodríguez M, Cordón A, et al. Estevia (Stevia rebaudiana), edulcorante natural y no calórico. *Rev Chil Nutr* 2012; 39(4):203-206.
39. Kinghorn A, Soejarto D. Intensely sweet compounds of natural origin. *Med Res Rev* 1989; 9(1):91-115.
40. Bernal J, Mendiola J, Ibáñez E, et al. Advanced analysis of nutraceuticals. *J Pharm Biomed Anal* 2011; 55(4):758-774.
41. Lavini A, Riccardi M, Pulvento C, et al. Yield, Quality and Water Consumption of Stevia rebaudiana Bertoni Grown under Different Irrigation Regimes in Southern Italy. *Ital J Agron* 2008; 3(2):135-143.
42. Carakostas M, Curry L, Boileau A, et al. Overview: the history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(7):S1-S10.
43. Contreras S. Anticariogenic properties and effects on periodontal structures of stevia rebaudiana bertoni. Narrative Review. *J Oral Res* 2013; 2(3):158-166.

44. **Gregersen S, Jeppesen P, Holst J, et al.** Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2004; 53(1):73-76.
45. **Bende C, Graziano S, Zimmermann BF.** Study of Stevia rebaudiana Bertoni antioxidant activities and cellular properties. *Int J Food Sci Nutr* 2015; 67(3):1-6.
46. **Abudula R, Jeppesen P, Rolfsen S, et al.** Rebaudioside A potently stimulates insulin secretion from isolated mouse islets: studies on the dose-, glucose-, and calcium-dependency. *Metabolism* 2004; 53(10):1378-81.
47. **Hsieh M, Chan P, Sue Y, et al.** Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: a two-year, randomized, placebo-controlled study. *Clin Ther* 2003; 25(11):2797-2808.
48. **Jayaraman S, Manoharan M, Illanchezian S.** In vitro Antimicrobial and Antitumor Activities of Stevia Rebaudiana (Asteraceae) Leaf Extracts. *Trop J Pharm Res* 2008; 7(4):1143-1149.
49. **Sehar I, Kaul A, Bani S, et al.** Immune up regulatory response of a non-caloric natural sweetener, stevioside. *Chem Biol Interact* 2008;173(2):115-121.
50. **Shiozaki K, Fujii A, Nakano T, et al.** Inhibitory effects of hot water extract of the Stevia stem on the contractile response of the smooth muscle of the guinea pig ileum. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70(2):489-494.
51. **Takahashi K, Matsuda M, Ohashi K, et al.** Analysis of anti-rotavirus activity of extract from Stevia rebaudiana. *Antiviral Res* 2001;49(1):15-24.
52. **Tadhani M, Subhash R.** In Vitro Antimicrobial Activity of Stevia Rebaudiana Bertoni Leaves. *Trop J Pharm Res* 2006; 5(1):557-560.
53. **Geuns JM.** Safety evaluation of Stevia and stevioside. In: Rahman A. Studies in Natural Products Chemistry. Elsevier; 2002. .299-319.
54. **Mohammadi-Sichani M, Karbasizadeh V, Aghai F, et al.** Effect of different extracts of Stevia rebaudiana leaves on Streptococcus mutans growth. *J Med Plants Res* 2012; 6(32):4731-34.
55. **Gamboa F, Chaves M.** Antimicrobial potential of extracts from Stevia rebaudiana leaves against bacteria of importance in dental caries. *Acta Odontol Latinoam* 2012; 25(2):171-175.
56. **Campos P.** Estudio de la cariogenicidad de endulzantes en un modelo de caries in vitro [resumen]. Chile: Universidad de Talca; 2011. Resumen disponible en: <http://dspace.utalca.cl/handle/1950/9040>

57. Giacaman R, Campos P, Muñoz-sandoval C, et al. Cariogenic potential of commercial sweeteners in an experimental biofilm caries model on enamel. *Arch Oral Biol* 2013; 58(9):1116-22.
58. Brambilla E, Cagetti MG, Lonescu AV, et al. 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.
59. Pérez S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre Streptococcus mutans ATCC 25175. [Trabajo de grado para optar al título de estomatología]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2010.
60. Buitrago C, Londoño J, Neira M, et al. Actividad antimicrobiana del extracto en metanol de Stevia Rebaudiana sobre bacterias Gram-negativas (Escherichia coli, Enterobacter cloacae) y Gram-positivas (Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus) contaminantes de cavidad oral e importantes en enfermedad periodontal. *Rev Fed Odontol Colomb* [en linea] 2008; 71(223):24-34. Disponible en: http://issuu.com/fodontocol/docs/focweb223pdf_1_
61. Triratana T, Suwannawong S, Srichan R, et al. Inhibitory effect of xylitol and stevia extract on Streptococcus sobrinus. Abstract presented at the International Association for Dental Research General Sessions & Exhibition. Brisbane; 2006.
62. Ajagannanavar S, Shamarao S, Battur H, et al. 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(s2): S116-S121.
63. Goodson J, Cugini M, Floros C, et al. Effect of a Truvia™ Rebiana on Plaque pH. Abstract presented at the International Association for Dental Research General Sessions; Barcelona; 2010.
64. De Slavutzky S. Stevia and sucrose effect on plaque formation. *J Verbr Lebensm* 2010; 5(2):213-216.
65. Zanel N, Bijella M, Rosa O. The influence of mouthrinses with antimicrobial solutions on the inhibition of dental plaque and on the levels of mutans streptococci in children. *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(2):101-106.
66. Giongo F, Mua B, Parolo C, et al. Effects of lactose-containing stevioside sweeteners on dental biofilm acidogenicity. *Braz Oral Res* 2014; 28(1):1-6.
67. Frostell G. Effects of mouth rinses with sucrose, glucose, fructose, lactose, sorbitol and Lycasin on the pH of dental plaque. *Odontol Revy* 1973; 24(3):217-226.