

**EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE FLOR DE MUERTO  
(Tagetes erecta) SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS  
Lactobacillus acidophilus y Streptococcus mutans  
IN VITRO**

**Tesis presentada por:  
NANCY ESTHER VILLATORO OAJACA**

**ANTE EL TRIBUNAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, QUE PRACTICO EL  
EXAMEN GENERAL PUBLICO PREVIO A OPTAR AL TITULO DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**Guatemala, octubre 1995**

EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE FLOR DE MUERTO  
(*Tagetes erecta*) SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS  
*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans*  
IN VITRO

Tesis presentada por:  
NANCY ESTHER VILLATORO OAJACA

ANTE EL TRIBUNAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, QUE PRACTICO EL  
EXAMEN GENERAL PUBLICO PREVIO A OPTAR AL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

Guatemala, octubre 1995

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

### III

#### ACTO QUE DEDICO

- A DIOS:** A quién amaré siempre, Fuente inagotable de amor y sabiduría.
- A MIS PADRES:** Prof. José Valdemar Villatoro Herrera  
Profa. Gloria Marina Oajaca de Villatoro  
Por su amor, esfuerzo, ejemplo y ayuda incondicional.
- ¡ DIOS LES BENDIGA !**
- A MIS HERMANAS:** Dra. Siomara Danisa, Evelyn Anilú y Helen Marina.  
Por todo el cariño y los momentos bonitos que hemos compartido.
- A MI ESPOSO:** Danilo Fernando Obregón Muñoz  
Con profundo amor y respeto.
- A MI HIJO:** Danilo Fernando Obregón Villatoro  
Para que esta meta que he logrado, sirva para incentivarlo a seguir adelante.  
**¡ Te Amo !**
- A MIS ABUELOS:** Alfonso Oajaca Domínguez (**Papá Foncho**)  
Zoila García de Oajaca (**Mamá Zoila**)  
Por el apoyo y amor incondicional.
- A MI SOBRINO:** Edgardo Javier.  
Con Amor.
- A MIS SUEGROS:** Ing. Alcides René Obregón A.  
Profa. Elena Guadalupe Muñoz de Obregón  
Con especial gratitud, por su apoyo y ayuda.
- A MIS TIOS:** En especial:  
Dr. Javier Ismael Oajaca García  
con afecto y cariño.
- A MIS AMIGOS:** En especial a:  
Dra. Miriam Tzorín  
Dra. Karla Sagarminaga  
Dr. Alcides Arreaga
- AL DOCTOR:** Otto Cifuentes  
Por su apoyo y orientación.

TESIS QUE DEDICO

A GUATEMALA

AL MUNICIPIO DE MAZATENANGO

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

A MIS CATEDRATICOS

A MIS ASESORS

A MIS COMPANEROS

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR:**

Cumpliendo con lo establecido por los reglamentos de la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Facultad de Odontología, presento a vuestra consideración, previo a optar al título de Cirujano Dentista, mi trabajo de tesis titulado:

EFFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE FLOR DE MUERTO  
(*Tagetes erecta*) SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS  
*Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans*  
IN VITRO

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento a todas las personas que participaron en mi formación personal, como también a los Doctores: Héctor Alfonso de León, Francisco Valdés, Raul Ralón, asesores de mi trabajo de tesis; así como al Doctor Arturo Castillo catedrático y amigo.

HE DICHO.

INDICE

Sumario .....	1
Introducción.....	2
Selección y formulación del Problema .....	3
Definición de Términos .....	4
Justificación .....	5
Revisión de Literatura .....	6 - 23
Objetivos.....	24
Hipótesis .....	25
Variables - Indicadores .....	26
Metodología .....	27 a 31
Presentación de Resultados .....	32 a 42
Discución de resultados .....	43 a 44
Conclusiones .....	45
Recomendaciones .....	46
Bibliografía .....	47

### SUMARIO

El presente trabajo tuvo por objeto realizar un estudio del efecto inhibitorio de la infusión de Flor de Muerto sobre el crecimiento del *S. mutans* y *L. acidophilus*.

Para ello se aisló previamente el *S. mutans* al cual se le realizaron pruebas de fermentación de azúcares con lo cual se comprobó la presencia del mismo.

Posteriormente se prepararon 3 infusiones de Flor de Muerto al 50%, 30% y 10% p/v respectivamente, las cuales se colocaron en tubo de ensayo junto con el medio de cultivo y los microorganismos, luego se observaron dichos tubos de ensayo durante diferentes tiempos para verificar el efecto inhibitorio de dicha infusión.

Además se prepararon otros tubos a los que se les llamó tubo control, de los cuales sirvieron como parametro de comparación con los anteriores.

Se elaboraron varios cuadros en donde se presentan los resultados obtenidos.

La infusión de Flor de Muerto no tuvo ningún efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *S. mutans* y *L. acidophilus* en ninguna de las concentraciones utilizadas.

Además se presentan las conclusiones, recomendaciones y limitaciones.

## INTRODUCCION

Las enfermedades de mayor prevalencia en la cavidad bucal son la caries dental y la enfermedad periodontal; siendo el principal factor etiológico de estas enfermedades la formación de placa bacteriana sobre las superficies dentales y de los tejidos de soporte (6, 8, 16, 20, 19, 24, 18)

La utilización de las plantas como parte de la medicina popular se ha venido empleando desde hace mucho tiempo con enfermedades de la cavidad bucal. Dependiendo de las diferentes regiones del país, se encuentra variedad de plantas que pueden usarse como medios curativos, lo que ha propiciado la realización de estudios científicos que profundicen en el conocimiento de estos recursos de la medicina popular tradicional.

La presente investigación pretendió demostrar de una forma clara y sencilla las posibilidades y alternativas que se tienen en el uso de infusión de Flor de Muerto (*Tagetes erecta*) para la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, ambos microorganismos con un papel importante en la producción de caries dental.

Este estudio se realizó en una forma experimental *in vitro*, analizando la acción de la infusión sobre los microorganismos patógenos seleccionados.

La investigación fué realizada utilizando los recursos del Laboratorio Microbiológico y Bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, continuando con la línea de investigación que desde hace un tiempo se viene realizando en el mismo.

### SELECCION Y FORMULACION DEL PROBLEMA

En nuestro país un número de la población se ve afectada por varios tipos de enfermedades bucales, dentro de las cuales la caries y la enfermedad periodontal son la de mayor prevalencia (14, 20, 28)

Esto está determinado por varios factores, siendo uno de ellos y talvez los más importantes, el desconocimiento y la mala ejecución del cepillado dental, por lo cual se realiza una deficiente eliminación de la placa bacteriana, que se acumula y lesiona las superficies dando como consecuencia el inicio de la enfermedad.

La odontología actual ofrece una serie de tratamientos que proporcionan la rehabilitación bucal en presencia de enfermedades bucales, sin embargo son de alto costo, y no están al alcance de la mayoría de la población guatemalteca, cuya situación socio-económica es sumamente precaria. Debido a esta situación se buscan alternativas que solucionen los problemas de salud bucal a menor costo.

Por lo anterior se hace necesario dar a conocer que existe un buen número de recetas terapéuticas populares basadas en las plantas y sus productos que se han venido utilizando de manera empírica para la prevención y tratamiento de la caries y de la enfermedad periodontal, y que aparentemente a tenido resultados positivos de acuerdo a este uso.

La falta de antecedentes científicos sobre el efecto de la utilización de Flor de Muerto (*Tagetes erecta*) plantea la necesidad de evaluar in vitro la efectividad inhibitoria del crecimiento de *S. mutans* y *L. acidophilus* la formación de agregados bacterianos y sus productos y así poder brindar resultados concretos y de base científica a la población guatemalteca.

### DEFINICION DE TERMINOS

1. Cepas: Núcleo al rededor del cual se desarrolla una familia de microorganismos.
2. Infusión: Producto que se obtiene de extreer de las sustancias orgánicas generalmente vegetales, las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente. Producto líquido así obtenido.
3. Inhibición: Mecanismo por medio del cual se detiene la manifestación de un proceso o función.
4. In Vitro: Que se produce u ocurre dentro de un embase de vidrio; observable en un tubo de ensayo; que ocurre o se produce en un ambiente artificial.
5. Microaerofílico: Que requiere oxígeno para crecer, pero a concentración menor que la que se encuentra en la atmósfera; se dice de las bacterias.

## JUSTIFICACIONES

1. El amplio y variado uso de la medicina popular tradicional y en especial el uso de plantas curativas, están ampliamente ligadas a la cultura guatemalteca. Las enfermedades de la cavidad bucal han sido tratadas durante mucho tiempo y de manera empírica con aparente efectividad, sin embargo existe escasa información que de respaldo científico a su uso, por lo que con esta investigación se pretende contribuir a aumentar dicha información.

2. En Guatemala se observa un incontenible aumento en el costo de la vida, paralelamente unido a lo anterior, la dependencia de la industria nacional a la importación de insumos provoca el elevado costo de los tratamientos dentales que por consiguiente están fuera del alcance de gran parte de la población guatemalteca que en su mayoría es de escasos recursos económicos. Por lo que la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Facultad de Odontología, se ve obligada a buscar alternativas en la prevención y tratamiento de enfermedades bucales que sean efectivas, de bajo costo, fáciles de obtener y culturalmente aceptados.

3. Existe la necesidad de brindar al guatemalteco alternativas de tipo preventivo utilizando la riqueza natural del país, específicamente de las plantas, las cuales podría disminuir la alta incidencia que existe en Guatemala de las afecciones bucales más generalizadas y especialmente de la caries dental y la enfermedad periodontal.

4. Se debe continuar con la línea de investigación del Laboratorio Microbiológico y Bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, aportando nuevos datos que ampliarán la información sobre temas relacionados.

## REVISION DE LITERATURA

### PLACA DENTOBACTERIANA:

Es el término que se utiliza para designar una masa suave y porosa que contiene bacterias de larga duración atrapadas en una matriz de proteínas y carbohidratos, humedecida por saliva, fluido gingival y líquidos de la dieta.

Está firmemente adherida a los dientes lo que hace difícil removerla una vez formada.

El aspecto clínico habitual de la placa dentobacteriana es de color blanco, blanda, adherida a la superficie del diente y parecida a una película. Algunos de los factores notables que determinan el carácter cualitativo de la placa son el tipo y frecuencia de introducción de sustrato (composición y frecuencia de la dieta). (16, 19)

Entre los que determinan su carácter cuantitativo, se encuentran la eficiencia y frecuencia de las diversas maniobras de higiene bucal.

La placa bacteriana varía en su composición de un sitio a otro en la misma dentadura y aún en el mismo diente.

La presencia de placa bacteriana no presenta, en forma obligada, la condena de la integridad de la superficie dentaria. La capacidad de los microorganismos bucales para iniciar la caries depende de diversas características bacterianas, como la capacidad para adherirse a las superficies dentarias, acidogenicidad (capacidad para formar rápido ácido láctico, fórmico y otros), y aciduridad (capacidad para sobrevivir en un medio con Ph bajo). (18)

La patogenicidad de la placa con respecto a la caries, es en gran parte función de la selección bacteriana, medida por la manipulación de la dieta. Una dieta hiperprotéica y baja en sacarosa, discrimina en forma selectiva contra el crecimiento de microorganismos odontolíticos dentro de la placa, en tanto la dieta hipoprotéica y alta en sacarosa, predispone al crecimiento de los microorganismos odontolíticos. (19)

### COMPOSICION MICROBIANA DE LA PLACA

La placa está formada por una mezcla de microorganismos que varía según el lugar y los hábitos dietéticos sino también según el tiempo que ha tenido para madurar.

### MICROBIOTA SUPRAGINGIVAL:

Contiene principalmente anaeróbicos facultativos grampositivos. Streptococcus sanguis predomina y Actinomyces viscosus se encuentra constantemente. Otras especies grampositivas que se detectan incluyen a S. mutans (sumamente localizado) A. naeslundii, A. israelii, Rothia dentocariosa, Peptostreptococcus sp. Staphylococcus epidermis, etc.

Las especies gramnegativas encontradas incluyen: Veillonella V. parvula, Fusobacterium y Bacteroides oralis.

### MICROBIOTA SUBGINGIVAL:

La placa madura del surco gingival saludable incluye al rededor de 50 a 85% de cocos y bastones grampositivos, de 15 a 30% de cocos y bastoncillos grampositivos pequeños, 8%, tanto de fusobacterias como de filamentos y aproximadamente 2% de espiroquetas.

Los Actinomyces y los Streptococcus sp. son los componentes principales de la flora cultivable. Bacteroides melaninogenicus se aísla más frecuentemente en el surco gingival que de cualquier otra parte de la boca, representa aproximadamente 5% de los aislados. Las espiroquetas pertenecientes a los géneros Trepho y Borrelia son nativas del área del surco gingival, no obstante que se observan con frecuencia en micrografías electrónicas de la placa gingival, sólo ocasionalmente se les ha cultivado. Estos microorganismos son altamente sensibles al oxígeno y únicamente en condiciones de un bajo potencial oxidoreducción.

Las espiroquetas rara vez se encuentran en los niños que tienen encías saludables, pero aumentan con el paso de los años. Los pacientes jóvenes que sufren periodontitis juvenil, o los adultos que padecen una forma de periodontitis de progreso rápido tienen flora subgingival significativamente diferente. Los bastoncillos gramnegativos constituyen entre 40 y 76% del total de la microbiota cultivable. La microbiota de lesiones de pacientes con periodontitis juvenil se caracteriza por la presencia de cinco grupos específicos de microorganismos sacarolíticos gramnegativos: Vibriones anaeróbicos, Capnocytophaga (Bacteroides ochraceus), Bastoncillos anaeróbicos delgados, organismos parecidos a bacteroides, y organismos de superficies ectópicas.

La microbiota de la periodontitis avanzada se caracteriza por la presencia de grandes cantidades de microorganismos asacarolíticos, entre los cuales se incluyen Fusobacterium nucleatum, Bacteroides melaninogénicus, Eikenella crodens, Bacteroides capillosus y Vibriones anaeróbicos. (4, 8, 19, 28)

### ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal es un término amplio que abarca a todas las condiciones patológicas de las estructuras de sostén y revestimiento de los dientes. (8)  
La etiología de la enfermedad periodontal es multifactorial. (4, 6, 8, 19, 20, 33)

Las sustancias bacterianas de la placa han sido consideradas primarias en la producción de enfermedad periodontal. (4, 6, 8, 19)

No se amplía el tema de Enfermedad Periodontal por no tener relevancia con este estudio.

### CARIES DENTAL

Es ampliamente conocido que la caries dental es uno de los padecimientos más frecuentes en los seres humanos.

#### **Definición:**

Es una enfermedad que afecta los tejidos duros del diente y se manifiesta por la degradación focal de éstos. Las lesiones cariosas resultan de la disolución mineral de los productos finales del metabolismo ácido de bacterias acidogénicas y proteolíticas capaces de fermentar a carbohidratos, en especial azúcares (6, 8, 19)

#### **Etiología:**

Es una enfermedad producida por el intercambio de ácido de diversos factores, los cuales se pueden dividir en dos grupos:

##### 1. Factores esenciales:

- a) Dientes naturales con superficies expuestas al medio bucal.
- b) Flora bacteriana adherente a la superficie dental.
- c) Dieta: Alimentos ingeridos por la boca.

##### 2. Factores modificantes:

- a) Enfermedades sistémicas.
- b) Saliva
- c) Flúor, etc. (19)

## TEORIAS SOBRE LA ETIOLOGIA DE LA CARIES:

### 1. Teoría acidogénica

En la actualidad es la teoría que más se acerca a explicar la etiología de la caries. Propuesta por Miller en 1980, quien determinó que en el proceso de formación de caries intervenía un microorganismo bucal capaz de producir ácidos y proteínas digestiva. A partir de exámenes microscópicos de varios miles de cortes Miller llegó a la conclusión de que la caries dental comienza con una decoloración y destrucción de la cutícula del esmalte por un grupo de organismos predominantemente filamentosos. La destrucción del cuerpo del esmalte y la dentina, fué primariamente una desmineralización, lo cual el conformó por análisis clínicos de dentinas con caries. Alguna cantidad de ácido fué el único agente, lógico de la desmineralización, y el único origen concebible de dicho ácido en la boca fué la fermentación microbiana de los carbohidratos de la dieta. (6, 19, 20)

### 2. Teoría proteolítica:

Describe la caries como un proceso proteolítico que incluye la despolarización y licuefacción del esmalte (su matriz orgánica). Por lo tanto sales inorgánicas menos solubles podrían liberarse de su enlace inorgánico lo que ayudaría a su propia disolución provocada por bacterias acidogénicas que luego penetrarían a través de vías más amplias. (20)

### 3. Teoría de proteólisis-quelación:

Considera que la caries es un proceso de destrucción bacteriana de los dientes, en la que el primer ataque se dirige principalmente a los componentes orgánicos del esmalte. Los productos de esta descomposición tienen propiedades quelantes y por lo tanto, disuelven los minerales del esmalte (19)

## MEDIOS PARA PREVENIR LA CARIES

La carie dental es una enfermedad muy compleja que se manifiesta en función de la acción simultánea de tres factores principales: Microflora, huésped y sustrato (dieta) por lo existen pocas o ninguna probabilidad de que haya un medio capaz de prevenirla y controlarla. En consecuencia las estrategias que con mayor frecuencia se emplean en la actualidad para reducir o eliminar la caries son:

1. Combatir el agente microbiano (por ejemplo programas de higiene bucal personal, eliminación o control de placa)
2. Aumentar la resistencia de los dientes a la caries (por ejemplo el uso de fluor sistémico o tópico y el uso de selladores de fosas y fisuras).
3. Modificar la dieta (restricción del consumo de sacarosa en los alimentos y bebidas, uso de edulcorantes no cariogénicos y aditivos de fosfato). (19)

#### **Combatir el agente microbiano:**

##### **Higiene bucal:**

El método más difundido y socialmente aceptado para la higiene bucal, sobre todo el mundo occidental es el cepillado de los dientes.

Existe variedad de técnicas y tipos de cepillo así como de pastas dentales que acompañan su uso, y entre ellas muchas cuentan con una forma de fluoruro como medida terapéutica.

El punto más importante del cepillado de dientes independiente de la técnica utilizada, tipo de cepillo o pasta dental, consiste en la eficiente y real eliminación de la placa bacteriana de todas las superficies accesibles, sin dañar tejidos blandos o erosionar los tejidos duros. (15)

El uso de seda dental para los espacios interproximales y no accesibles al cepillo completa la eficiente limpieza mecánica de la dentadura, así mismo el uso de sustancias reveladoras de placa bacteriana facilita y evidencia la remoción de esta.

#### MEDIOS QUIMICOS PARA COMBATIR EL AGENTE MICROBIANO

Antibióticos  
Clorohexidina  
Enzimas

#### AUMENTO DE LA RESISTENCIA DEL DIENTE

##### **Uso del ión fluor:**

Se considera que la mayor parte del efecto del ión fluor en la prevención de la caries se debe a su habilidad para incrementar la resistencia del esmalte al ataque ácido, además se ha observado que inhibe la formación de enzimas incluyendo algunas que intervienen en la formación de ácido por las bacterias. (13)

### **Sellantes de fosas y figuras:**

Actualmente ha quedado bien establecido que los selladores de fosas y fisuras constituyen un método eficaz y seguro en la prevención de caries.

Los sellantes se aplican en las superficies oclusales y exáctamente en los fosas y fisuras de estas superficies en los molares y premolares; que son las áreas más susceptibles a la caries que el resto de las superficies dentarias. (10, 13)

El procedimiento a seguir implica pasos a seguir que son:

- Profilaxis previa
- aislamiento
- acondicionamiento con ácido.
- lavado y secado
- Colocación del sellador.

y en caso de selladores de polimerización es necesario añadir el paso de fotopolimerización (10)

### **CONTROL DE PLACA BACTERIANA**

El control de placa consiste en la eliminación de su acumulación en los dientes y las superficies gingivales adyacentes, en los cuales se pueden emplear lo siguiente:

- Cepillos dentales manuales.
- Dentríficos.
- Ceda dental.
- Limpiadores Interdentales.
- Sustancias reveladora de placa. (4,7)

### **STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS**

#### **Streptococcus:**

Son células esféricas u ovoides, rara vez alargadas en bastoncillos, se presentan apareadas o encadenadas, cortas o largas, nunca en paquetes, a veces los cultivos producen una coloración rojiza de herrumbre por picadura en agar, se desarrollan poco en medios artificiales; las colonias en agar son pequeñas y translúcidas las superficiales; pueden ser veladas, convexas o mucoides. En su mayoría son anaerobios facultativos, con escasa vegetación superficial en cultivos por picadura; unos pocos son anaerobios estrictos, y algunos de ellos atacan proteínas, para producir gases y malos olores. Se encuentran regularmente en la boca y el intestino de los hombres. (5, 15, 28, 32, 33)

El streptococcus mide de 0.5 a una micra de diámetro, los streptococcus de las infecciones humanas son gram-positivos.

Para el aislamiento primario, los medios deben contener sangre total, suero sanguíneo o trasudados tales como líquidos de ascitis o pleurales. La adición de glucosa a la concentración de 0.5% aumenta la velocidad de desarrollo del organismo, pero ocasiona un cambio en la facultad de este para lisar los glóbulos rojos.

Los streptococcus suelen desarrollarse mejor a un Ph entre 7.4 y 7.6. Aunque el desarrollo ocurre entre 15 y 40 grados centígrados, la temperatura óptima de cultivo para la mayor parte de los streptococcus es de 37.5° c. (33)

En placas de agar-sangre a 37.5° c, suelen hacerse visibles, en dieciocho a veinticuatro horas, pequeñas colonias delicadas, grisáceas y opalescentes, con bordes losos o muy ligeramente rugosos y sobre la superficie del medio tienen el aspecto de pequeñas gotitas de líquido.

En caldo alcalino a 37.5° c. Los streptococcus se desarrollan rápidamente formando cadenas largas que se enredan y se sedimentan como escamas. Si se añade dextrosa al caldo, el desarrollo del cultivo es más rápido al principio; pero la formación del ácido láctico inhibe el desarrollo ulterior y los microorganismos pueden morir a menos que se traspasen pronto. (33)

### Streptococcus mutans

Pertencen a la categoría de Streptococcus viridans, que son los miembros más importantes de la flora de la cavidad bucal normal de la cavidad bucal.

El Streptococcus mutans sintetiza polisacáridos de moléculas grandes (por ejemplo dextranos), y desempeñan un papel importante en la formación de caries dental. (3, 5, 6, 14, 22, 24, 29)

Ha sido aislado en poblaciones de diverso origen étnico y socioeconómico. Se encuentra en grandes cantidades en placa aislada de poblaciones con caries activa y más frecuentemente en placa con lesiones cariosas rampantes, que en placa de superficies dentales sanas. Se les considera como el principal agente etiológico en la caries dental humana.

Los Streptococcus tienen la capacidad de metabolizar la sacarosa de la dieta y de sintetizar glucanos mediante una glucosil transferasa extracelular y superficial de la célula.

Se considera que esta enzima tiene importancia especial en el establecimiento del Streptococcus mutans en la placa dental. Parece que esto ocurre por medio de un glucano que se localiza en la superficie celular del Streptococcus mutans y que actúa como el lugar primario de unión para la enzima, la cual después evoca una nueva síntesis de glucano a partir de la sacarosa exógena con la subsecuente adherencia a la superficie del esmalte. (19, 24)

En los cultivos de agar-mitis-salivarius, estos microorganismos fácilmente diferenciados por sus colonias altas, convexas y mucoides ligeramente azuladas, de 0.5 a 1mm de diámetro, las cuales tienen márgenes ondulados y una estructura interna reminiscente característica y finamente granular de vidrio escarchado. (6)

También se han identificado variantes lisas de Streptococcus mutans. Como concomitante de la Síntesis de dextrano a partir de sacarosa, puede colectarse un exudado acuoso bien abundante como para que se unan y formen un charco al lado de la colonia. Estos streptococcus crecen en medios que contengan cloruro de sodio, al 4% aunque no al 6.5%, la mayoría no produce amonio a partir de arginina; no hidrolizan el almidón, aunque fermentan la insulina, rafinosa manitol y sorbitol. En caldos y sacarosa se produce dextrano precipitable por un volumen de etanol (6)

La proporción de S. mutans en los dientes humanos se ha reportado en correlación con el grado de actividad de la caries y los organismos pueden aislarse de lesiones de caries en los humanos. (6, 19)

### Relación de los Streptococcus y la caries:

Miller (1930) encontró streptococcus en la cavidad bucal. De 1900 en adelante, los streptococcus han recibido una atención considerable como agente causal de la caries dental.

Sieberth (1900) aisló los streptococcus primero a partir dentina cariada. Goadby (1903) encontró con frecuencia streptococcus en la porción de la dentina cariada. Niedergesass (1905) y Kligler y Gies (1915) encontraron que el streptococcus era microorganismo predominante de la boca. Sieberth (1900), Baumgartner (1910, 1913) Niedergesass (1915) y Herici y Hartzeli (1919), postularon que el streptococcus era importante en la caries dental. Dichos postulados se basaron principalmente en la abundancia del Streptococcus en la cavidad bucal, su presencia en la caries dentinal profunda, y su consistencia como un agente causal de pulpitis

acompañando a la caries dentinal profunda sin exposición de la pulpa.

Desde estas primeras observaciones, se ha acumulado evidencia de que el streptococcus verdaderamente suma más de la mitad de la cuenta viable de saliva y del dorsos de la lengua, como la cuarta parte de las cuentas viables de las placas dentales y de surcos gingivales.

Se ha calculado que los streptococcus son aproximadamente mil veces más numerosos que los lactobacillus de la flora microbiana bucal. Son igualmente abundantes en las cavidades de dientes de niños así como de adultos. Los streptococcus han sido aislados más frecuentemente de la placa precariosa transicional y cariosa sobre el esmalte que cualquier otra especie de bacteria.

Los streptococcus pueden invadir hacia adelante de lo que se considera el frente de avance de la caries dentinal profunda, tal como lo indica el hecho de ser invasor de los dientes cariados, siendo su ruta de invasión a lo largo o entre los túbulos dentinales.

Otra característica de los streptococcus orales relacionada con su cariogenicidad, es su rango de crecimiento y producción de ácido, observandose que exceden a los de cualquier microorganismo bucal, incluyendo a los lactobacillus los cuales alcanzan sólo al rededor de 1/2000 del total de la flora bucal. La mayoría de los streptococcus orales incluyendo al *S. mutans*, crecen rápidamente y producen su acidez terminal (Ph al rededor de 3.4) dentro de las primeras 24 horas, en contraste con los lactobacillus que requieren de 3 a 6 días para producir un resultado semejante en crecimiento y acidogénesis (Ph de 3.6). Basado en sus cantidades relativas en la cavidad bucal.

La determinación del papel de los streptococcus en la caries dental fué aclarado enormemente por una serie de investigaciones destinadas a establecer el potencial productor de la caries de una sola cepa o especie bacteriana primero en ratas blancas gnotobióticas y después en hamsters; mediante estudios de las causas de variabilidad de la caries dental en animales de experimentación y por el establecimiento de un agente transmisible.

La patogenicidad potencial del *S. mutans* se debe a su capacidad para producir moléculas pesadas, glucanos extracelulares (dextrano), el cual se adhiere a la superficie lisa del esmalte, conduciendo a la formación de una placa dental en la cual los streptococcus orales y otros microorganismos cariogénicos y no cariogénicos colonizan para formar sus Ácidos cariogénicos.

Los diferentes streptococcus cariogénicos varían en el tipo de glucano que producen, en su capacidad para adherirse a la superficie del esmalte y en su capacidad para producir caries dental.

Por ejemplo, Streptococcus sanguis, produce un glucano insoluble que difiere del dextrano en su estructura, y mucho menos adherente al esmalte, S. sanguis es mucho menos cariogénico que el S. mutans (5)

### Lactobacillus

El género Lactobacillus constituye un componente importante de la flora humana natural; son bacilos gram-positivos no esporulados, clasificados en la familia Lactobacillaceae, generalmente inmóviles, microaerófilos y catalasa negativos. Forman ácido láctico como principal producto de fermentación de la glucosa (3, 14)

Habitán en la boca, tracto gastrointestinal y vagina de humanos. Varían en su forma desde bastoncillos cortos y rollizos aislados o dispuestos en cadena o palizada, hasta los bastoncillos largos y delgados que se presentan aislados o en cadenas. (3, 6)

Tienden a hacerse gram-negativos en los cultivos más antiguos, algunas especies producen un pigmento anaranjado, rojizo o de color ladrillo. Tienen necesidades nutritivas complejas. La mayoría de Lactobacillus orales crecen mejor o bien requieren un medio reductor que contenga un agente reductor de la tensión superficial, provisto adecuadamente con carbohidratos y un amplio rango de temperatura (15 a 45° C). Son acidúricos con un Ph óptimo de 5.5 a 5.8 (6,14)

En la superficie de agar conteniendo un agente reductor de la tensión superficial las colonias son invariablemente lisas y en forma de cúpula, con una textura que semeja la cáscara de naranja, en agar de jugo de tomate también existen los lactobacillus orales, se facilita enormemente mediante los cultivos selectivos o medios selectivos de agar-rogosa, el cual suprime prácticamente el crecimiento de todos los demás microorganismos orales debido a su alto contenido de acetato y otras sales, a un depresor de la tensión superficial y a su acidez (Ph 5.4) el cual provee nutrición adecuada para lactobacillus. La mayoría de los lactobacillus no son proteolíticos, no producen indol, licuan la gelatina, ni reducen el nitrato y son catalasa negativos. La fermentación de los carbohidratos por los lactobacillus es variable con las especies, aunque generalmente es bastante activa.

En realidad casi desde la época en que los lactobacillus se descubrieron por primera vez en la cavidad bucal hasta hace poco, ha existido la tendencia a asignar a todos los Lactobacillus orales a la especie L. acidophilus, generalmente sin datos que lo respalden. Esta es una práctica bastante insegura aunque debe ser admitido que la diferenciación con frecuencia es difícil. Se han hecho intentos para establecer que los lactobacillus sean agentes causantes de la caries dental. Parece ser que se han establecido correlaciones entre el estado de caries activa y la cantidad de lactobacillus en la saliva. (6, 14)

Se ha comprobado que en un medio de agar-suero en condiciones anaeróbicas y en atmósferas de CO<sup>2</sup> estimula el crecimiento y desarrollo de las cepas de la boca.

### Lactobacillus Acidophilus

Pertenece a la clasificación de los lactobacillus homofermentativos y microaerófilos.

Fue aislado por primera vez por Moro en el año 1900 a partir de las heces de lactantes, y se encuentra en el intestino de casi todos los vertebrados mamíferos y algunos invertebrados. Su cantidad aumenta en relación al aumento de la ingesta de carbohidratos en la dieta láctea; son bastante gruesos y de longitud variable, se disponen aislados o a pares ligeramente flexionados en la unión y en cadenas largas. Las cadenas largas las formas filamentosas, y las formas en masa no son raras. Los cultivos jóvenes se tiñen uniformemente grampositivos; los cultivos viejos a menudo muestran coloración listada o bipolar y pueden decolorarse fácilmente. Las colonias generalmente pequeñas pueden variar en su forma: opaca redonda y lisa o aplanada translúcida e irregular con aspecto de cristal. Poseen reacciones de fermentación variables, aunque la mayoría producen ácido pero no gas. A partir de la glucosa, lactosa, maltosa y sacarosa y llegan a coagular la leche en 48 hrs.

### **Lactobacillus y su relación con caries:**

Cuando W.B. Miller formuló la teoría parasotiquímica de la caries dental hacia 1880, llegó a creer que cualquiera de las bacterias orales acidogénicas podrían causar la caries dental si produjeron suficiente ácido a partir de los carbohidratos de la dieta como para descalcificar el esmalte y la dentina.

Se formularon algunos principios importantes para guiar a aquellos que buscaban un agente específico para la caries:

1. El organismo causante debería ser la especie más acidogénica que se encontrara en la cavidad bucal, en las lesiones de caries.
2. El agente causante debería ser capaz de aumentar la acidez que produjo en la lesión de caries.
3. El organismo causante debería ser aislado en cultivos puros a partir de todas las etapas de las lesiones de caries.
4. Los cultivos puros de los microorganismos deben ser capaces de producir caries cuando se inoculan en la cavidad bucal directamente sobre los dientes, ningún otro microorganismo debería ser capaz de hacerlo.
5. El microorganismo causante debería estar ausente de las superficies de los dientes que no desarrollen descalcificación de caries y de la saliva de las personas "sin caries".
6. Otros microorganismos que producen suficientes ácidos como para descalcificar el esmalte y la dentina no deben estar presentes en ninguna etapa del progreso de caries. Si estas presentes, debe comprobarse que no pueden producir una lesión cariosa.

Durante el período de 1900 y 1922, se realizaron tres importantes estudios de la flora y especialmente, de las relaciones de sus especies individuales con la caries dental. Los estudios de Goadby (1903), Kleigler y Gies (1915), y Howe y Hatch en 1917 sobre la flora bucal, indica su naturaleza compleja, el que la flora bucal se pueda dividir de acuerdo a su función en productora de ácidos, licueficientes, proteolítica, y productora de pigmento; el que los streptococcus y los lactobacillus eran los más abundantes en las especies acidogénicas residentes; y que los lactobacillus eran los más acidúricos, Howe y Hath fueron los primeros en postular que los lactobacillus pudieran intervenir en la fase descalcificante de la caries dental.

Se le dió un ímpetu adicional a la flora acidogénica y a los lactobacillus en la caries dental por los hallazgos de Rodriguez y McIntosh, James y Lazarus-Barlow publicados en 1922. Estos dos grupos de investigadores encontraron lactobacillus en las lesiones de caries y demostraron su alto potencial de producción ácida y su capacidad de sobrevivir a los ácidos que producen. También producen lesiones semejantes a caries en dientes esterilizados mediante su exposición a los lactobacillus en caldo de cultivo.

Numerosas investigaciones en lactobacillus revelaron que: (6)

1. Los lactobacillus de la saliva estuvieron raras veces si es que alguna, completamente ausentes de la cavidad bucal de un adulto con dientes, aunque pudiera estar presente en muy pequeñas cantidades.
2. Los lactobacillus no pueden implantarse en la boca de animales o humanos que se encuentren relativamente libres de ellos, o inclusive en bocas con abundantes lactobacillus.
3. El incremento de los lactobacillus en las placas y en la superficie del esmalte, precede al desarrollo de las lesiones de caries.
4. Un incremento de los lactobacillus de la saliva precede a la aparición de las lesiones visibles de la caries por 3 o 6 meses.
5. El incremento de los lactobacillus en la saliva aumenta cuando existe un aumento en la susceptibilidad de caries según se ha medido por procedimientos clínicos y por pruebas de actividad biológica de caries.
6. El incremento de los lactobacillus en la saliva cuando existe un incremento en la susceptibilidad de la caries, según se ha medido por procedimientos clínicos y por pruebas de actividad disminuye a medida que las lesiones se obturan.
7. El ingreso de cantidades crecientes de carbohidratos refinados, incrementan tanto a los lactobacillus de la saliva como la actividad de la caries.
8. El ingreso de cantidades óptimas de fluoruro disminuyen tanto los lactobacillus de la saliva como la actividad de caries.
9. Los lactobacillus en crecimiento en un medio propio y localizados mecánicamente sobre la superficie del esmalte in situ son capaces de producir una sola lesión descalcificada que semeja la caries natural.

Por lo que los lactobacillus concierne, alcanzan el requerimiento de un agente causante de caries dental humana, siendo bastante acidogénico y acidúrico, estando presente en todas las etapas de las lesiones de las caries, aumentando en respuesta a factores dietéticos tales como los carbohidratos refinados cariogénicos, y disminuyendo en respuesta a factores como fluoración que evita la caries dental.

Los lactobacillus no clasificaron como el germen microbiano exclusivo de la caries dentaria debido a que no era esencialmente transmisible por los procedimientos usuales y no parecía ser la causa de las caries de superficies lisas.

Las investigaciones subsecuentes revelaron que algunos lactobacillus (por ejemplo *L. acidophilus*) podrían producir caries en animales gnotobióticos, aunque no tan regularmente y en forma menos extensa que algunas de las otras especies microbianas orales.

Las fuertes características acidogénicas y acidúricas los hace capaces de producir ácidos cariogénicos cuando otros son incapaces de hacerlo y sobrevivir. Aunque los lactobacillus por si solos son incapaces de localizar y establecerse en una placa dental de una superficie lisa en un animal gnotobiótico, de la caries humana se inician principalmente en fosetas, fisuras y espacios interproximales, donde la placa bacteriana en su formación no es importante para la localización y acúmulo de microorganismos cariogénicos. En estas áreas los lactobacillus se acumulan y son un factor importante en la caries dental, junto con otros residentes microbianos acidogénicos. (6)

## INTRODUCCION A LA MEDICINA POPULAR

Es así como la mayoría de la población busca solucionar sus problemas de salud en la Medicina Popular, que no es más que la medicina que se ha practicado con aparente eficacia, para padecimientos de la personas que la han utilizado. (11)

Una rama de la medicina popular se relaciona con las enfermedades de la cavidad bucal. A ésta se le ha llamado "Dentisteria y Odontologia Popular". (11). A éste respecto, se han efecutado algunos estudios en Guatemala, por parte del Instituto Indigenista, en los que se ha recopilado la información concerniente a las recetas que la medicina popular prescribe, que van desde el simple uso de plantas y o extractos de las mismas, hasta procedimientos complejos y radicales. (11)

Todo éste valioso conocimiento popular ha sido transmitido desde la época precolombina hasta nuestros días, sin que muchos le presten la atención que se merece. Su principal utilidad en éste campo se circunscribe a los siguientes tratamientos: debilidad de la dentadura a dolor de muelas y mal olor en la boca. (11)

### *Tagetes erecta* (FLOR DE MUERTO)

#### **Clasificación Botánica:**

SUB- CLASE	Gamopétalas Inferováricas
ORDEN	Sinergidas
FAMILIA	Compuestas
GENERO	Caléndula
ESPECIE	<i>officinalis</i> (L)
NOMBRES COMUNES	Flor de muerto, flor de camposanto, maravilla, tutz, chus.
SINONIMOS:	<i>T. patula</i> L. <i>T. Remotifolia</i> Kunze.

**ORIGEN:** Es una planta perenne, herbácea, de hábito rastrero o algunas veces erecta. Nativa de México a Costa Rica. Dudosamente nativa del sur de Guatemala; a menudo más o menos naturalizada en otras partes de América Tropical y en trópicos del viejo mundo.

**DISTRIBUCION GEOGRAFICA:** México, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica. En Guatemala se localiza en bosques húmedos o secos, o en campos abiertos, a menudo como maleza en terrenos cultivados o desolados, la cultivan comunmente para ornamento; a 1250 o menos, pero algunas veces a mayores elevaciones.

Se encuentra en Petén Alta Verapaz, Izabal, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Huehuetenango, Quiché y Retalhuleu. (32)

**DESCRIPCION BOTANICA:**

**Habito:** Hierba, erecta, anual algunas veces de 1 m. de altura, pero usualmente menor y a menudo no más de 25 cm.

**Hojas:** Tamaño: pequeñas, principalmente de 1-3 cm. de longitud.  
Forma: Pinnatisectas, con 11-17 foliolos, lanceolados.  
Margen: Aserrado  
Apice: Agudo o acuminado.  
Indumento: con glándulas de aceite.

**Inflorescencia:** Cabezuelas solitarias al final de las ramas.

**Flor:** Las del radio 5-8 (a menudo muy numerosas en forma cultivada), anchamente ovaladas, color crema o amarillo claro, de 1-2 cm. de longitud; las flores del disco numerosas, con corolas de 18 cm. de longitud, glabras. Flores linguladas, hermafroditas, agrupadas en capítulos. Pólen amarillo con fuerte olor aromático.

**Fruto:** Muy pequeño, aquenios negros, de 7-8 mm. de longitud, glabros o pubescentes.

**Tallos:** Anguloso y peludo, herbáceos, cilíndricos, con nudos bien diferenciados con entrenudos que miden de 2-4 cm. de longitud, tallos glabros.

**CARECTERISTICAS ETNOMEDICA DE LA PLANTA. Fresca. (25, 27)  
USOS MEDICINALES REPORTADOS.**

- A) Síndrome diarreico agudo, viral. (San Sebastián H.)  
Para "DISENTERIA BLANCA POR FRIO EN EL ESTOMAGO";  
manifestada por asientos abundantes, sin moco, ligas o  
sangre, cólicos, malestar general y vómitos; para lo  
cual se preparan en cocimiento 15 flores en 0.5 litro de  
agua, se le debe agregar 1 manojo (5-8 cm.) de la parte  
aérea de Verbena (Verbena litroralis) y Hierbamora  
(Solanum nigrescens); se ingiere 2-4 cucharaditas 3  
veces al día durante 5 días.
- B) Parasitismo intestinal; Desnutrición protéico-  
energética.  
(San Pedro Necta)

Para "LOMBRICES"; manifestado por niños pálidos, con el  
estómago hinchado, sin deseos de comer, aburrimiento,  
dolor de estómago. (Palidez generalizada, Abdomen  
aumentado de tamaño, Anorexia, decaimiento, dolor  
abdominal vago); para lo cual se preparan en cocimiento  
5 flores en 0.5 litros de agua; se ingiere 1/2 vaso 3  
veces al día durante 3-4 días.

- C) Conjuntivitis. (La Democracia)

Para "CUANDO LES SALE PUS EN LOS OJOS"; para lo cual se  
preparan en cocimiento 4 flores en 0.5 litros de agua;  
se lavan los ojos 2 veces al día hasta remisión de  
síntomas.

- D) USOS ORALES: El cocimiento de las flores se utiliza para  
encías inflamadas y sangrantes, es astringente, para  
curar las úlceras de la boca. Según encuesta realizada  
entre la población de Mazatenango, del departamento de  
Suchitepéquez.

**PROPIEDADES MEDICINALES**

Se le atribuyen propiedades como diurética, insecticida,  
antiséptica; estimulante. Hojas y flores son enemagogas y  
antihelmínticas.

El extracto acuoso de las flores ha demostrado tener  
actividad contra bacterias Gran positivo. Estudios  
realizados en Guatemala han demostrado que la maceración  
etanólica de las hojas y flores inhibió el crecimiento de  
*S. pyogenes*. Estudios realizados en la India demuestran que  
el extracto etanológico reduce el tiempo de coagulación. Se  
utiliza la acción estimulante de esta planta en el  
tratamiento de la amenorrea. ( 1, 9, 12, 22, 32)

**PARTES EMPLEADAS:** Hojas, Flores (17)

**COMPOSICION QUIMICA:**

Contiene aceite esencial, resina, taninos, xantófilas, lactonas, alcaloides cuaternarios y no cuaternarios, polisacáricos, leucoantocianinas, saponinas, glicósidos y esteroides; pigmentos no polares, fitofeno,  $\alpha$ -y  $\beta$ -caroteno, luteína aurotaxantina,  $\alpha$ -criptoxantina, Kamferol -7- $\theta$  ramnosa, 6-hidroxiokampferol-7- $\theta$ -glucósido.

OTROS USOS/ Ornamentales y ceremonial. (17, 21, 32)

**DATOS AGRONOMICOS:** Hierba, de aproximadamente 10-20 cm. de altura; en estado de floración en el mes de Junio; silvestre y arvense, es una planta que crece comúnmente a orillas de carreteras, caminos, vías de acceso. Crece abundantemente también, en terrenos que han sido cultivados y luego abandonados recientemente a lo largo de la línea férrea en suelos calcáreos y secos.

**DOSIFICACION:** (Modo de empleo): Infusión acuosa de 10g de planta seca y molida en 100 ml. de agua hierviente concentrado a 10 ml a temperatura no mayor de 50°C. (21)

**DISCUSION:** Las infusiones acuosas de *T. erecta* presentan acción antiespasmódica entre el rango de 45-55% de inhibición frente a acetilcolina (0.3 ug) en dosis de 40-640 mg. frente a cloruro de bario existe inhibición del espasmo, a dosis de 1g/kg

**TOXICIDAD:** No toxica a dosis de 750 mg-1 a 5g/kg de extracto acuoso (17, 27)

## OBJETIVOS

### GENERAL:

1. Buscar nuevas alternativas de tratamiento y prevención de caries dental que beneficien a la población guatemalteca.
2. Determinar el efecto de la infusión de Flor de Muerto (*Tagetes erecta*) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, in vitro.

### ESPECIFICOS:

1. Si, la infusión de Flor de Muerto (*Tagetes erecta*) tiene algún efecto inhibitorio, se determinaran las diferentes concentraciones peso volumen de la misma.
2. Determinar la concentración mínima ideal para obtener el efecto inhibitorio del *S. mutans*.
3. Determinar la concentración mínima ideal para obtener el efecto inhibitorio del sobrecrecimiento de *L. acidophilus*.
4. Aumentar la información científica sobre los usos populares de especies vegetales, que contribuyen a la prevención o curación de enfermedades que afectan la cavidad bucal.
5. Efectuar un estudio de los recursos naturales por medio del cual se pueda beneficiar a la población de escasos recursos, brindando una alternativa de tratamiento a menor costo.

### HIPOTESIS

La infusión de Flor de Muerto (*Tagetes erecta*), inhibe el crecimiento de microorganismos carcinogénicos *S. mutans* y *L. acidophilus*, in vitro.

VARIABLES

**Independiente:**

- Estudio de infusión de Flor de Muerto (Tagetes erecta).

**Dependiente:**

- Bacterias *L. acidophilus* y *S. mutans*

**Indicadores:**

- Crecimientos: Se observa crecimiento por el número de colonias y medio sólido, siendo Agar Rogosa para el *L. acidophilus* y Agar Mitis Salivarius para *S. mutans*.
- Infusión de Flor de Muerto (Tagetes erecta):  
Acción de extraer de las sustancias orgánicas generalmente vegetales las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente. Producto líquido así obtenido.

## METODOLOGIA

El estudio se realizó en cinco etapas, las cuales fueron:

1. Aislamiento de agentes cariogénicos (*Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*).
2. Criterios de identificación.
3. Preparación de la infusión de Flor de Muerto.
4. Fase experimental.
5. Comprobación del trabajo.

### 1. AISLAMIENTO DE AGENTES CARIOGENICOS:

Se procedió a aislar el *S. mutans*, tomando 3 muestras de saliva de niños comprendidos en un rango de 6 a 8 años de edad con un alto número de piezas dentales lesionadas por caries. Se utilizó el micrométodo de huella o impresión para el aislamiento y cuantificación de agentes cariogénicos.

Los *L. acidophilus* fueron proporcionados por el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología de la USAC, ya que forman parte del cepario con que cuenta dicho laboratorio.

### Los Medios de cultivo utilizados fueron:

- Todd Hewitt (T.H.) como medio líquido para *S. mutans*.
- Caldo nutritivo reformulado (C.N.R.) como medio líquido para *L. acidophilus*.
- Agar Rogosa como medio sólido selectivo para *Lactobacillus*.
- Agar Mitis salivarius medio sólido para *S. mutans*.

### 2. CRITERIOS DE IDENTIFICACION:

- Bacitracina (antibiótico). Al cual el *S. mutans* es resistente.
- Prueba de manitol y sorbitol. El *S. mutans* fermentó dichos azúcares.
- Sacarosa al 2%. El *S. mutans* formó polisacáridos extracelulares.
- Medio selectivo para *S. mutans* es Agar mitis salivarius y para *Lactobacillus*, Agar Rogosa.
- Características macroscópicas de los microorganismos en medio sólido:
- *S. mutans*: colonias altas convexas de 0.5 a 1 mm. de diámetro, color azul, de bordes ondulados y superficie finamente granular, semejante a vidrio esmerilado, con una gota de exudado en su superficie.

- *L. acidophilus*: colonias invariablemente lisas, en forma de cúpulas, con contextura que semeja la cáscara de naranja.
- Observación microscópica de ambos microorganismos (tinción de gram):
- *S. mutans*: Cocos inmóviles, de color violeta formando de cadenas largas y cortas.
- *L. acidophilus*: Bastones inmóviles, que se dividen en un solo plano sin ramificarse, color violeta, formando cadenas.

### 3. PREPARACION DE INFUSION DE FLOR DE MUERTO:

Se prepararon 3 infusiones al 100, 60 y 20% (p/v), para lo cual se utilizaron 100, 60 y 20 gramos de hojas y flores frescas de flor de muerto, se colocaron en 100 ml. de agua destilada y se procedió a cocer la flor de muerto dejándola hervir durante 15 minutos, las infusiones obtenidas fueron filtradas para eliminar partículas grandes de flor de muerto.

Se repuso con agua destilada y estéril el volumen perdido para mantener la concentración estipulada, se almacenaron en frascos color ámbar previamente estériles. Este procedimiento fué realizado bajo estrictas normas de esterilidad.

Las infusiones se realizaron al 100, 60 y 20% (p/v), para que al mezclar la infusión con el medio de cultivo y el inóculo se obtuvieron las concentraciones de 50, 30 y 10% (p/v), que fueron preestablecidas para este estudio.

Se procedió a tomar el pH de las infusiones al 100, 60 y 20% (p/v), utilizando papel indicador universal de pH con escala de colores, de igual forma se tomó el de los medios de cultivo líquidos Todd Hewitt y Caldo nutritivo reformulado; posteriormente se procedió a mezclar en partes iguales las concentraciones y el medio, tomándose también el pH de ésta mezcla.

#### 4. FASE EXPERIMENTAL:

##### PROCEDIMIENTO I:

Cada uno de los tubos contiene medio de cultivo, infusión e inóculo.

SERIE A (*S. mutans*)

Tubo 1 = *S. mutans* e infusión.

Tubo 1: 4.8 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 10% + 0.2 ml. de inóculo + 24 horas microaerofilia ---observación.

Tubo 2: 4.8 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 30% + 0.2 ml. de inóculo + 24 horas microaerofilia ---observación.

Tubo 3: 4.8 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 50% + 0.2 ml. de inóculo + 24 horas microaerofilia ---observación.

##### Tubo control (-):

Sin inóculo + infusión.

Tubo 1: 5 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 10% + 24 horas microaerofilia ---observación.

Tubo 2: 5 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 30% + 24 horas microaerofilia ---observación.

Tubo 3: 5 ml. de medio de cultivo + 5 ml. de infusión 50% + 24 horas microaerofilia ---observación.

- Medio sólido, de los tubos anteriores se procedió a:

Tubo 1 - caja de petri - 48 horas microaerofilia observación.

Tubo 2 - caja de petri - 48 horas microaerofilia observación.

Tubo 3 - caja de petri - 48 horas microaerofilia observación.

Tubo control (+) - caja de petri - 48 horas microaerofilia - observación.

El tubo control (+) y (-) se empleó como un parámetro de comparación para la observación de cambios físicos y crecimientos de microorganismos.

Se realizó tinción de gram a los tubos 1, 2 y 3 y al tubo control (+). Todo el procedimiento anterior se realizó de igual forma con el inóculo de *L. acidophilus* (serie B).

##### PROCEDIMIENTO II:

Con este procedimiento se persiguió poner en contacto directo a los microorganismos con la infusión, para evitar la interacción y posible alteración de la infusión al entrar en contacto medio de cultivo con la infusión, se utilizó el factor tiempo para establecer si este aumenta o disminuye la efectividad de la infusión.

**Serie A:**

- **Medio líquido:**

Se preparó el inóculo de la siguiente forma: centrifugó - eliminó sobrenadante - resuspendi con agua estéril - 10 ml. de inóculo.

Tubo 1: 1 ml. de infusión 10% + 0.5 ml. de inóculo + 1 minuto + 9.5 ml. de medio de cultivo - 24 horas microaerofilia observación.

Tubo 2: 1 ml. de infusión 10% + 0.5 ml. de inóculo + 3 minuto + 9.5 ml. de medio de cultivo - 24 horas microaerofilia observación.

Tubo 3: 1 ml. de infusión 10% + 0.5 ml. de inóculo + 5 minuto + 9.5 ml. de medio de cultivo - 24 horas microaerofilia observación.

Tubo control (+): 9.5 ml. de medio de cultivo + 0.5 ml. de inóculo + 24 horas de microaerofilia - observación.

Este procedimiento se realizó también con las infusiones de 30 y 50%.

- Medio sólido: de los tubos anteriores se procedió a:

Tubo inóculados - caja de petri - 48 horas microaerofilia - observación.

Todo el procedimiento anterior se realizó de igual forma con el inóculo de *L. acidophilus*. (serie B).

##### 5. COMPROBACION DE TRABAJO:

El crecimiento in vitro de *S. mutans* y *L. acidophilus*, se observó como turbidez en el medio de cultivo líquido y con el crecimiento de colonias en las cajas de petrí.

La inhibición del crecimiento bacteriano se comprobó al comparar las cajas de petrí de cada concentración de la infusión de Flor de muerto las cajas control, por medio de una observación macroscópica.

Según la hipótesis se esperaba que en las cajas de petrí con las siembras de cada una de las concentraciones de la infusión, el crecimiento bacteriano fuera menor o nulo en comparación a las cajas control.

### PRESENTACION DE RESULTADOS

Á continuación se describen los resultados obtenidos en el presente estudio.

Se utilizaron cuadros para ordenar los datos, con el fin de facilitar el manejo y la interpretación de los mismo.

CUADRO No. 1

CRECIMIENTO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC'S) EN MEDIO SOLIDO Y CRECIMIENTO EN MEDIO LIQUIDO, DE Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus.

MUESTRAS	CRECIMIENTO EN CAJAS DE PETRI	CRECIMIENTO EN MEDIO LIQUIDO
Lactobacillus acidophilus	Positivo	Positivo
A	Positivo	Positivo
B	Positivo	Positivo
C	Positivo	Positivo
Streptococcus mutans	Positivo	Positivo
A	Positivo	Positivo
B	Positivo	Positivo
C	Positivo	Positivo

**Lactobacillus acidophilus:**

Para el medio sólido las muestras fueron tomadas de cultivos en medio líquido (caldo nutritivo reformulado). El crecimiento positivo de Lactobacillus acidophilus se evidencia al observar unidades formadoras de colonias (UFC'S) en las cajas de petri sembradas, ya que el medio de cultivo es específico para dicho microorganismo. En el medio líquido el crecimiento positivo se evidencia como turbidez generalizada en todo el medio de cultivo.

**Streptococcus mutans:**

Para el medio sólido las muestras fueron tomadas de cultivos en medio líquido, después de haber realizado controles de calidad. El crecimiento positivo de S. mutans se evidencia al observar unidades formadoras de colonias (UFC'S) con sus características específicas. En el medio líquido el crecimiento positivo se evidencia como turbidez generalizado en el medio de cultivo. Las colonias fueron seleccionadas de colonias obtenidas en el medio de cultivo mitis salivarius, como parte del proceso de control de calidad para la purificación de la cepa de S. mutans.

CUADRO No. 2

OBSERVACION MICROSCOPICA DE Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus UTILIZANDO TINCIÓN DE GRAM.

MUESTRAS	CARACTERISTICAS OBSERVADAS	
	Coloración	Formación de cadenas
S. mutans	Positivo	Positivo
A		
B	Positivo	Positivo
C	Positivo	Positivo
L. acidophilus	Positivo	Positivo
A		
B	Positivo	Positivo
C	Positivo	Positivo

En S. mutans la coloración positiva en la tinción de gram, significa que la bacterias retienen la coloración violeta. Se observaron cocos, inmóviles, formando cadenas ramificadas largas y cortas.

El L. acidophilus la coloración positiva en la tinción significa que las bacterias retienen la coloración violeta de la tinción de gram. Además se observaron bastones, inmóviles, que se dividen en un solo plano sin ramificarse, formando cadenas cortas.

CUADRO No. 3

Formación de polisacaridos extracelulares en medio líquido (Todd Hewitt) con sacarosa al 2% y fermentación de sorbitol y manitol por el *Streptococcus mutans*.

MUESTRA	SACAROSA	SORBITOL	MANITOL
A	Positivo	Positivo	Positivo
B	Positivo	Positivo	Positivo
C	Positivo	Positivo	Positivo

El resultado positivo de la formación de poliscáridos extracelulares se evidenció con la formación de masas de aspectos geloso y blanquecinas, adheridos a las paredes del tubo y suspendidos.

El resultado positivo en las pruebas de manitol y sorbitol se observó como turbidez generalizada en el medio de cultivo. Se realizaron las pruebas de fermentación en dos azúcares, de estos el Manitol es fermentado exclusivamente por el *S. mutans*, por lo que constituye una prueba bastante específica para identificación de dichas cepa. Estos resultados permiten afirmar que las colonias sometidas a todas las pruebas realizadas son representativas de *S. mutans*. Con estas pruebas bioquímicas terminó la etapa de aislamiento del *S. mutans*.

CUADRO No. 4

MEDICION DE pH DE LAS INFUSIONES DE FLOR DE MUERTO Y MEDIOS DE CULTIVO, UTILIZANDO PAPEL INDICADOR UNIVERSAL DE pH.

INFUSION DE FLOR DE MUERTO	INFUSION + TODD HEWITT	INFUSION + CALDO NUTRITIVO
20%      pH 7 - 10%	pH 7	pH 6
60%      pH 7 - 30%	pH 7	pH 6
100%     pH 7 - 50%	pH 7	pH 6

Medio de cultivo Todd Hewitt pH 7

Medio de cultivo Caldo nutritivo pH 7

Se observó que no hubo ningún cambio que pudiera afectar la fisiología de los microorganismos al mezclar el medio de cultivo con la infusión, ya que se mantuvo un pH neutro o cercano a la neutralidad.

PROCEDIMIENTO I:

CUADRO No. 5

OBSERVACION A LAS 24 HORAS DE CRECIMIENTO DE *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophillus*, EN MEDIO LIQUIDO Y SOLIDO, CON INFUSION DE FLOR DE MUERTO.

	Turbidez (en medio líquido)	Color(en medio líquido)	Precipitado (en medio líquido)	Crecimiento (en medio líquido)	Crecimiento (en medio líquido)
Serie A: <i>S.</i> <i>mutans</i>					
Tubo control+	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	AMBAR	SI	SI	NO
Tubo -1 (10%)	NO	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo -2 (30%)	NO	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo -3 (50%)	NO	AMBAR	SI	SI	SI
Serie B: <i>L.</i> <i>acidophillus</i>					
Tubo control+	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo -1 (10%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -2 (30%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -3 (50%)	NO	AMBAR	SI	NO	*

Tubo control (-): Significa que contiene medio más infusión.

Tubo control (+): Significa que contiene medio + inóculo.

\* A los tubos control negativos no se les realizó siembra en medio sólido ya que éstos no contenían inóculo.

En la serie A, se observaron tubos color ambar, con formación de precipitado, debido a reacciones de infusión con el medio de cultivo y la presencia de turbidez en el tubo 1,2 y 3 así como en el tubo control + debido al crecimiento de microorganismos. El crecimiento en medio sólido se observó por la formación de unidades formadoras de colonias (UFC'S) distribuidas en el medio sólido.

No se pudo cuantificar el número de colonias debido a la alta densidad de crecimiento que presentaron, únicamente se comparó con la caja control según la densidad que ésta presentó.

En la serie B, se observó cambios en el color, la formación de precipitado debido a reacciones de infusión con el medio de cultivo y la presencia de turbidez en los tubos 1, 2 y 3 así como en el tubo control +, debido a crecimiento de microorganismos. El crecimiento en medio sólido se observa por la formación de unidades formadoras de colonias (UFC'S) distribuidas en el medio sólido (agar rocosa). No fue posible cuantificar el número de colonias debido a la alta densidad de crecimiento que presentó, únicamente se comparó con la caja control según la densidad que ésta presentó.

CUADRO NO. 6

OBSERVACION A LAS 48 HORAS DEL CRECIMIENTO DE Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus, EN MEDIO LIQUIDO Y SOLIDO, CON INFUSION DE FLOR DE MUERTO.

	Turbidez (en medio liquido)	Color(en medio liquido)	Precipitado (en medio liquido)	Crecimiento (en medio liquido)	Crecimiento (en medio liquido)
Serie A: S. mutans					
Tubo control+	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo -1 (10%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -2 (30%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -3 (50%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Serie B: L. acidophilus					
Tubo control+	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo -1 (10%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -2 (30%)	NO	AMBAR	SI	NO	*
Tubo -3 (50%)	NO	AMBAR	SI	NO	*

Tubo control (-): Significa que contiene medio más infusión.  
Tubo control (+): Significa que contiene medio + inóculo.

\* A los tubos control negativo no se les realizó siembra en medio sólido ya que éstos no contenían inóculo.

En este cuadro se observó que tanto los cambios en los tubos como el crecimiento de los microorganismos son los mismos a los observados a las 24 horas, o sea que se observó turbidez en los tubos 1, 2 y 3 así como en el tubo control positivo de ambas series, así mismo crecimiento. Mientras que no se obtuvo crecimiento en los tubos control negativo.

CUADRO No. 7

OBSERVACION MICROSCOPICA DE LOS CULTIVOS DE  
Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus.

MUESTRA TINCION AGLUTINACION CADENAS  
RAMIFICADAS

MUESTRA	TINCION	AGLUTINACION	CADENAS RAMIFICADAS
Serie A:			
S. mutans			
Tubo control+	SI	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	SI	SI
Serie B:			
L. acidophilus			
Tubo control+	SI	SI	SI
Tubo 1 (10%)	SI	SI	SI
Tubo 2 (30%)	SI	SI	SI
Tubo 3 (50%)	SI	SI	SI

La formación de cadenas indica que la bacteria observada mantiene las características del S. mutans y del L. acidophilus.

PROCEDIMIENTO II:

CUADRO No. 8

OBSERVACIONES A LAS 24 HORAS DEL CRECIMIENTO DE *S. mutans* y *L. acidophilus*, EN MEDIO LIQUIDO Y SOLIDO, CON INFUSION DE FLOR DE MUERTO.

	Turbidez (en medio líquido)	Color (en medio líquido)	Precipitado (en medio líquido)	CreCIMIENTO en medio Líquido	CreCIMIENTO en medio Sólido
Serie A: <i>S.</i> <i>mutans</i> Tubo Control +	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 1 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 1 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Serie B: <i>L. acidophilus</i> Tubo Control +	SI	AMBAR	NO	SI	SI
Tubo 1 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 10%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 1 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 30%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 1 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 2 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI
Tubo 3 a1 50%	SI	AMBAR	SI	SI	SI

Tubo 1 = Contacto 1 minuto con infusión.

Tubo 2 = Contacto 3 minuto con infusión.

Tubo 3 = Contacto 5 minuto con infusión.

Para ambas series:

En los tubos se observó cambios en el color con la relación al tubo control, la formación de precipitado debido a reacciones de infusión con el medio de cultivo y la presencia de turbidez debido a crecimiento de microorganismos.

El crecimiento en medio sólido se observa por la formación de unidades formadoras de colonias(UFC'S) distribuidas en el medio. No se puede cuantificar el número de colonias debido a la alta densidad, únicamente se comparó con la caja control según la densidad que esta presentó. Es notorio que en todos los tubos se observó crecimiento, aunque al compararlo con el tubo control, se observa diferencia en la densidad de las colonias según el tiempo utilizado y la concentración empleada.

## DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio, los procedimientos de aislamiento, purificación y mantenimiento de las cepas que se utilizaron para este fin, se hicieron de acuerdo con lo que se ha reportado en la literatura y con procedimientos que se han utilizado en el laboratorio de la Facultad de Odontología. (6, 10, 22, 27, 34). Las cepas de microorganismos utilizadas, incluyeron algunas del cepario del laboratorio de la institución y otras que se aislaron para el efecto.

Con relación al efecto inhibitorio de la Flor de Muerto, el cual no se observó en esta investigación, no fué similar al que se ha observado con otras especies vegetales. (10, 22, 27, 34). Lo anterior sugiere que podría haber más de una especie vegetal que tuviera capacidad inhibitoria del crecimiento de estos microorganismos, lo cual pone de manifiesto el potencial terapéutico que tiene la flora Guatemalteca. (29, 13). Este tipo de investigaciones son necesarias para poder proporcionar otras alternativas de tratamientos preventivos a nivel bucal.

La flor de muerto contiene varias sustancias entre otras aceite esencial, resina, taninos, xatófilas, lactonas, alcaloides cuaternarios y no cuaternarios, polisacaridos, saponinas, glicosidos y esteroides. En la literatura se ha reportado que los taninos, aceites y otros principios de estos vegetales, pueden tener un efecto inhibitorio sobre las células bacterianas. (1, 13) Es menester en el futuro establecer y eventualmente cuantificar estas sustancias.

Tampoco se puede afirmar por el momento nada relacionado con la susceptibilidad de otras especies microbianas, entre las que se encuentran las que están asociadas con la enfermedad periodontal, en donde también podría tener beneficio el uso de estas sustancias.

Se pudo observar que al poner en contacto la infusión con el medio de cultivo se formaron grumos, lo cual puede deberse a reacciones de infusión con el medio de cultivo.

También se sabe que la enzima responsable de la adherencia del microorganismo a las superficies lisas, es la Glucosiltransferasa, la cual no pudo ser inhibida por la flor de muerto. La enzima normalmente actúa de una manera extracelular, formando polímeros de glucosa.

Las concentraciones que se utilizaron en el estudio tenían el objeto de establecer la ideal para lograr la inhibición de los microorganismos. La mayor concentración (30%) no produjo el efecto esperado. Por consiguiente, en futuras investigaciones debe considerarse la posibilidad de utilizar mayores concentraciones.

A pesar de que se habla de su efectividad, los resultados no son congruentes con el presente estudio, de tal forma es recomendable realizar más estudios al respecto.

Es importante hacer notar, que es factible realizar este tipo de investigaciones en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología de la USAC, el cual posee todo el equipo necesario para este tipo de estudios, al mismo tiempo se podrian unificar esfuerzos con otras facultades como la de Ciencias Químicas y Farmacia e Ingeniería química, para determinar y cuantificar los principios vegetales responsables de la inhibición bacteriana, y además obtener una fórmula farmacológica adecuada para el uso; y así de esta forma, beneficiar a la Universidad tanto económica como científicamente; y principalmente beneficiar a la población Guatemalteca.

### CONCLUSIONES

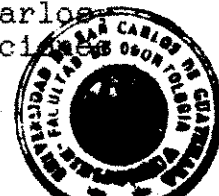
1. La infusión de Flor de Muerto no tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S. mutans* y *L. acidophilus*.
2. No se obtuvo una concentración mínima ideal debido a que ninguna concentración se presentó una inhibición.
3. Es posible realizar más investigaciones de este tipo con la infraestructura disponible en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología.
4. Es posible establecer a través de estos estudios, nuevos métodos de prevención de caries aplicables a la población.
5. El uso adecuado de las técnicas microbiológicas correctas determinan el éxito o fracaso de los procedimientos realizados en el laboratorio.
6. La infusión de Flor de Muerto provocó una especie de grumos sobre las células del *S. mutans* y *L. acidophilus* debido a reacciones de infusión con el medio de cultivo.
7. El crecimiento de microorganismos, en el medio sólido se observa por la formación de unidades formadoras de colonias (UFC'S) distribuidas en el medio sólido.

### RECOMENDACIONES

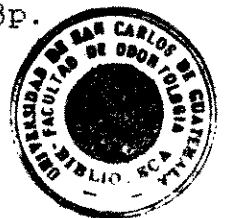
1. Que se continúe con la línea de investigación científica por parte de la Facultad de Odontología, de todas aquellas recetas contenidas en el recetario popular odontológico, para encontrar nuevas alternativas de prevención de enfermedades bucales.
2. Continuar con el estudio para determinar la concentración mínima ideal de Flor de Muerte capaz de inhibir al *S. mutans* y *L. acidophilus*.
3. Realizar este tipo de investigación, con otras especies microbianas, asociadas a enfermedad periodontal, donde también se podría tener beneficio con este tipo de sustancias.
4. Que se realicen esfuerzos para encontrar nuevas alternativas de prevención de enfermedades bucales que sean efectivas y de bajo costo.
5. Unificar esfuerzos con otras facultades para cuantificar los principios activos de los vegetales estudiados, así como también una fórmula farmacológica para ser utilizada para la prevención de las caries, y así beneficiar tanto a la Universidad como a la población.
6. Utilizar la información obtenida en los trabajos de investigación de tesis para enriquecer los programas de estudios de la Facultad de Odontología de la USAC.
7. Publicar este tipo de investigaciones para que la población guatemalteca, tenga información sobre nuevas alternativas en prevención bucal.

## BIBLIOGRAFIA

1. Arévalo García, E. C. Estudio farmacológico de la acción atiespasmódica de *Tagetes erecta* L. (Flor de Muerto) Tesis (Químico Farmacéutico). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1991. 43p.
2. Balbachas, A. y H. Rodríguez, Las plantas curan. 4a ed. Argentina, La Verdad Presente, 1958. pp. 72-75
3. Bayley, S. Diagnóstico microbiológico. 6a. ed. Buenos Aires, Médico Panamericana, 1973. pp. 16, 314.
4. Bral, M. y C. N. Brownstein. Antimicrobianos en la prevención y tratamiento de las enfermedades periodónticas en: *Periodontología*. Madrid, Interamericana, 1988. pp 227 - 252. (Clínicas Odontológicas de Norte América, Vol. 32, No. 2)
5. Buron, K., y William, R. Microbiología. México, McGraw Hill, 1976 pp. 525-531.
6. Burnett, G. Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca. México, Universal, 1986. pp21,22,43,46,277 289, 306, 308.
7. Campos, R. H. Cuantificación simplificada de la placa bacteriana. Tesis. (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1982. 87p.
8. Carranza, F.A. Periodontología clínica de Glickman. 6a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp386-389
9. Cemat-Farmaya. Fichas populares sobre plantas medicinales. 2a. ed. Guatemala, 1990. pp.38-42.
10. Cuenca, E. Manual de odontología preventiva y comunitaria. Madrid, Masson, 1991. pp. 38-42.
11. Donado Rodríguez, D.E. Efecto del extracto de *Cimborpongon citratus* (té de Limón) sobre la formación de placa bacteriana por el *S. mutans*. Estudio in vitro. Tesis (Cirujano Dentista). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. 46p.
12. Fernández Cardona, H.R. Etnobotánica de los recursos fitogenéticos de uso medicinal del departamento de Huehuetenango. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Nov. 1992. pp.105-106.



13. Hardie, J.M.; y Jhonson, S.; Williams, R.A.D. Caries dental etiología, patología y prevención. Traducido por María del Rosario Corsolio Pacheco. México Manual Moderno, 1985. pp. 227, 232-236.
14. Jawetz, E. Microbiología médica 14a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1983. pp.2-6, 314-341.
15. Katz, S. Odontología preventiva en acción. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1975. pp. 451.
16. López Acevedo, C. Manual de patología oral. Guatemala Editorial Universitaria. 1984. pp. 207, 211-215. (Colección Aula, vol.16)
17. Méndez, J. A. y Batrez, B. Listado Itzamná. recopilación sobre investigación científica y validación farmacológica en plantas medicinales en Guatemala. Guatemala, CEGIMED, 1992.
18. Milián Rojas, E. E. Efecto del extracto de corteza de encino sobre la formación de placa bacteriana. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos Facultad de Odontología, 1988. 45p.
19. Newburn, E. Cariología. Traducido por: Ana Pérez Calderón. México, Limusa, 1984. pp. 23-35,77,104-106,361,362.
20. Nolte, W. Oral microbiology. St. Louis, Mosby, 1977. pp. 33,119,309-310.
21. Ortiz Castillo, L. F. Principales plantas melíferas del Nororiente de Guatemala. Un enfoque taxonómico y ecológico. Guatemala, Universidad de San Carlos Nov. 1990. 57p.
22. Palomo Robles, P. Monografía sobre los usos de plantas medicinales. Informe final de E.P.S., Guatemala, Universidad de San Carlos Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química y Farmacia, CEGIMED. 1992.
23. Ralón Carranza, R. V. Efectos de la acción de extractos de cuatro especies de encino (Quercus sp.) sobre la adherencia del dextrán y el estreptococo mutans. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1990. 38p.



24. Regezzi, J. A. y Sciubba, J. J. Patología oral. Traducción por Sonia Schneider Rivas y Manuel Antonio Palacios, México, Nueva Editorial Interamericana, 1991. pp. 93,511- 523.
25. Rojas, U. Elementos de botánica general. s.d.e. Vol. 3 Tomo III. pp. 967, 1113,1275.
26. Ross, P. y P. Holbrook, Microbiología bucal y clínica. Traducido por: María del Rosario Corsolio Pacheco. México, Editorial Científica, 1986. pp. 5,6,81-85.
27. Standley, P. C. Flowers of Guatemala. Chicago, Museo de Historia Natural, 1976. 108p.
28. Steele, P. F. Dimension of dental higiene. 3a. ed, Philadelphia, Lea and Febiger, 1982. 549p.
29. Shafer, W. G. y Levy, B. M. Tratado de patología bucal. 4a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp. 415-419.
30. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Tamizaje de la investigación de la actividad antibacterial de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Guatemala, 1989. pp. 41-43. (Cuaderno de investigación No. 6.)
31. Valdés Marckwordt, F. J. Efecto del Extracto de Acasia farnesiana (Subin) sobre la formación de placa bacteriana por el estreptococo mutans. In vitro. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. 48p.
32. Vides Figueroa, J. R. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas medicinales en Guatemala. Guatemala. Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1982. pp. 11, 53, 54.
33. Zinsser, H. Microbiología. 18a. ed. Buenos Aires, Hispanoamericana, 1987. pp.711-713.
34. Zinsser, H. Bacteriología. 2a. ed. México, Hispanoamericana, 1960. pp.445-459.

Vo. Bv.

*[Handwritten signature]*



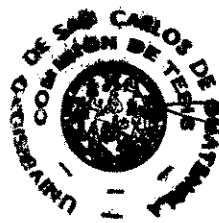
Nancy Esther Villatoro Oajaca  
Sustentante

Dr. Alfonso de León Godoy  
Asesor

Dr. Francisco Valdés Marckwordt  
Asesor

Dr. Raúl Ralón Carranza  
Asesor

Dr. Miguel Arriaga Franco  
Comisión de Tesis



Dr. Denis Chew González  
Comisión de Tesis

IMPRIMASE:

Dr. Manuel Andrade Bourdet  
SECRETARIO

