

**"EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSIÓN DE GRANADO
(*Púnica granatum* L.) SOBRE EL CRECIMIENTO DE
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS, *Lactobacillus*
acidophillus y *Streptococcus mutans*. In Vitro."**

Tesis presentada por

ROSA MARIA ORDOÑEZ QUINTO

Ante el tribunal de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala que practicó el Examen General Público previo a optar al título de:

CIRUJANO DENTISTA

Guatemala, Octubre de 1996.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

09
T(1282)
C.4

II

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Decano	Dr Danilo Arroyave Rittscher
Vocal Primero	Dr Eduardo Abril Gálvez
Vocal Segundo	Dr. Luis Alberto Barrillas Vásquez
Vocal Tercero	Dr. Victor Manuel Campollo Zavala
Vocal Cuarto	Br. Franklin Aarón Alvarado López
Vocal Quinto	Br Gonzalo Javier Sagastume Herrera
Secretario	Dr Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PUBLICO

Decano	Dr. Danilo Arroyave Rittscher
Vocal Primero	Dr. Eduardo Abril Gálvez
Vocal Segundo	Dr. Alfonso De León Godoy
Vocal Tercero	Dr. Raúl Ralón Carranza
Secretario	Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS: Principio y fin de toda sabiduría y amor.
- A LA VIRGEN MARIA: Por acompañarme en cada momento de mi vida y escuchar mis plegarias.
- A MIS PADRES: Nery Alfonso Ordoñez Avila y Miriam Ebe Quinto de Ordoñez, por haberme dado la vida, su apoyo, ejemplo, confianza y amor incondicional; a ellos mil gracias.
- A MI HIJA: María José, por ser la mejor hija que Dios pudo darme, te amo.
- A MIS HERMANAS: Mónica, María Isabel y Cecilia, con todo amor
- A MI PADRINO: Dr José T Duarte, en agradecimiento a su apoyo y confianza
- A MI FAMILIA.
- A MIS AMIGOS: Con quienes he compartido momentos inolvidables de mi vida, especialmente a Luis Arturo Orellana, con quien he podido contar en todo momento; siempre estarán en mi corazón.

TESIS QUE DEDICO

A GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

A MIS CATEDRATICOS E INSTRUCTORES

A MIS ASESORES Y REVISORES DE TESIS

AL DR. JORGE ALBERTO TELLO

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de someter a su consideración mi trabajo de tesis titulado "EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSIÓN DE GRANADO (*Púnica granatum L.*) SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS, *Lactobacillus acidophillus* y *Streptococcus mutans*. In Vitro."; conforme lo demandan los reglamentos de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar al título de Cirujano Dentista.

Mi especial agradecimiento al Dr. Alfonso de León y al Dr. Raúl Raión, por su apoyo y colaboración en la realización de esta tesis.

Y a ustedes distinguidos miembros del Honorable Tribunal Examinador, doy muestras de mi alta consideración y respeto.

ÍNDICE

	PAGINA
Sumario.....	1
Introducción.....	2
Planteamiento del problema.....	3
Justificación.....	4
Revisión de Literatura	10
Objetivos.....	27
Definición de términos.....	29
Metodología.....	30
Presentación de Resultados.....	34
Discusión de Resultados.....	43
Conclusiones.....	45
Recomendaciones.....	46
Bibliografía.....	47

SUMARIO

La presente investigación tuvo por objeto establecer el efecto inhibitorio de la infusión de flores de granado sobre el crecimiento de los microorganismos *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.

Para ello se utilizaron tres diferentes concentraciones de la infusión de granado y se pusieron en contacto con los microorganismos en estudio para poder observar el crecimiento de los mismos, dicho estudio se realizó in vitro en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos.

Entre los hallazgos encontrados podemos mencionar que tanto los *Lactobacillus* como los *Streptococcus mutans* sufrieron inhibición de crecimiento, al ponerlos en contacto con la infusión de las flores de granado y que la inhibición de crecimiento de ambos microorganismos fue directamente proporcional a la concentración utilizada de la infusión, haciéndose más notorio el efecto inhibitorio sobre los *L. acidophilus*.

Se presentan además las conclusiones y recomendaciones que se han considerado necesarias.

INTRODUCCIÓN

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 dentobacteriana periodontopática y su efecto sobre la superficie dental y los tejidos de soporte.

La medicina natural ha sido y continúa siendo utilizada en muchos países, algunas plantas han sido utilizadas como parte de esta. En nuestro país, dependiendo de las diferentes regiones donde se encuentren, pueden utilizarse diversidad de plantas como medidas curativas, lo que ha propiciado la realización de estudios para darle validez científica a estos recursos. La Granada (*Púnica granatum L.*) como parte de la medicina popular se ha venido utilizando desde hace muchos años, para la prevención y tratamientos de varias enfermedades incluídas algunas de la cavidad bucal.

La presente investigación se realizó con la finalidad de demostrar de una forma clara y sencilla las posibilidades y alternativas que se tienen con el uso de infusiones de las flores del Granada (*Púnica granatum L.*), para la inhibición del crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *Lactobacillus Acidophilus*, ambos microorganismos importantes en la formación de caries dental. Este estudio se realizó en una forma experimental in vitro, utilizando la infusión de las flores del granado (*Púnica granatum L.*) y observando el efecto sobre el crecimiento de los microorganismos *Streptococcus Mutans* y *Lactobacillus Acidophilus*. La investigación se realizó con los recursos del laboratorio microbiológico y bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad san Carlos de Guatemala; continuando con la línea de investigación que desde hace un tiempo se viene realizando en el mismo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En nuestro país un gran número de la población se ve afectada por varios tipos de enfermedades bucales, dentro de las cuales la caries dental y la enfermedad periodontal son las de mayor prevalencia..

La caries dental y la enfermedad periodontal están determinadas por varios factores, siendo uno de ellos el desconocimiento que se tiene sobre la higiene oral adecuada, lo cual ha ocasionado la deficiente eliminación de la placa bacteriana, que se acumula y lesiona la superficie dental y gingival, dando como consecuencia el inicio de la enfermedad.

Por lo anterior se hace necesario dar a conocer que existe un buen número de recetas terapéuticas populares, con un aparente éxito basadas en vegetales que se han utilizado en forma empírica para la prevención y tratamiento curativo de las enfermedades bucales.

La falta de antecedentes científicos y de literatura, relacionada con medicina popular utilizada en odontología, plantea la necesidad de evaluar in vitro la efectividad inhibitoria de la infusión de las flores de granado (*Púnica granatum L.*), sobre el crecimiento de *S. mutans* y *L. acidophillus*, siendo estos los principales patógenos relacionados con la enfermedad bucal de mayor prevalencia, la caries dental.

JUSTIFICACIÓN

1. El amplio y variado uso de la medicina popular tradicional y en especial el uso de plantas con propiedades curativas están ampliamente ligadas a la cultura guatemalteca, las enfermedades de la cavidad bucal han sido tratadas desde hace mucho tiempo de manera empírica con aparente efectividad, sin embargo, existe escasa información que de validéz científica a sus usos, por lo que con esta investigación se realizó con la finalidad de contribuir a aumentar dicha información.
2. Existe evidencia bibliográfica del uso de la flor del Granado para tratamientos de distintos padecimientos, entre ellos algunos relacionados con la inflamación gingival.
3. En Guatemala se observa un incontenible aumento en el costo de la vida. Paralelamente se une a lo anterior la dependencia de la industria nacional a las importaciones de insumos, debido a que la mayor parte de estos se obtienen del extranjero, los tratamientos quedan fuera del alcance económico de la población. Por lo anterior la Universidad San Carlos de Guatemala, a través de la Facultad de Odontología, se ve obligada a buscar alternativas en la prevención y tratamientos de enfermedades bucales, que sean efectivas, fáciles de obtener, de bajo costo, accesibles a la mayoría de la población guatemalteca y culturalmente aceptadas.
4. Existe la necesidad de brindar al guatemalteco alternativas de tipo preventivo, utilizando su riqueza natural, específicamente plantas, las cuales podrían disminuir la alta incidencia que existe en nuestro país, de las afecciones bucales más generalizadas como lo son la caries dental y la enfermedad periodontal.
5. Continuar con la línea de investigación del laboratorio microbiológico y bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala.

REVISIÓN DE LITERATURA

PLACA DENTOBACTERIANA

Es el término que se utiliza para designar una masa suave y porosa que contiene bacterias atrapadas en una matriz de proteínas y carbohidratos humedecida por saliva, fluidos gingivales y líquidos de la dieta. (4,5,6,14).

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, adherido a la superficie del diente parecido a una película. Algunos de los factores notables que determinan el carácter cualitativo de la placa son el tipo y frecuencia de la dieta.(14,16).

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

La presencia de placa bacteriana no causa de forma obligada el inicio del proceso carioso por los microorganismos bucales, esto depende de diversas características bacterianas, como la capacidad para adherirse a las superficies dentarias, acidogenicidad (capacidad para formar muy rápido : ácidos lácticos, fórmico y otros) y aciduricidad (capacidad para sobrevivir en un medio con ph bajo). (21, 22).

La patogenicidad de la placa con respecto a la caries, es en gran parte una función de la selección bacteriana, mediada por manipulación de la dieta. Una dieta hiperproteica y baja en sacarosa discrimina en forma selectiva contra el crecimiento de microorganismos odontolíticos en especial cuando es frecuente la ingestión de alimentos, en tanto la dieta hipoproteica y alta en sacarosa predispone al crecimiento de los microorganismos odontolíticos en especial, cuando la ingesta de alimentos es frecuente.(17).

COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LA PLACA

La placa está formada por una mezcla de organismos que varían, dependiendo no solamente del lugar y de los hábitos dietéticos, sino también del tiempo que ha tenido para madurar la placa.

MICROBIOTA SUPRAGINGIVAL

Contiene principalmente anaerobios facultativos grampositivos, predomina *S. Sanguis* y *A. viscosus* se encuentran constantemente. Otra especie de grampositivos que regularmente se detectan incluye a *S. mitis*, *S. mutans* (sumamente localizado), *A. naeslundii*, *A. israeli*, *Rothia dentocariosa*, *Peptostreptococcus species*, *Staphylococcus epidermis*. Las especies gramnegativas encontradas incluyen *Veillonella alcalescens*, *V. parvula*, *Fusobacteria* y *Bacteroides bucalis*.

MICROBIOTA SUBGINGIVAL

La placa madura de un surco gingival saludable incluye alrededor de 50 a 85% cocos y bastones grampositivos, de 15 a 30% cocos y bastoncillos grampositivos pequeños, 8% tanto fusobacterias como de filamentos y aproximadamente 2% de espiroquetas. Los *Actinomyces* y el *Streptococcus sp.*, son los componentes principales de la flora cultivable. El *Bacteróide melaninogenicus* se aísla más frecuentemente del surco gingival que de cualquier otra parte de la boca, representa aproximadamente 5% de los aislados. Estos microorganismos son altamente sensible al oxígeno y crecen únicamente en condiciones de un bajo potencial de oxidoreducción.

Las espiroquetas rara vez se encuentran en los niños que tienen encías saludables, se aumenta con el paso de los años. Los pacientes jóvenes que sufren de periodontitis de progreso rápido, tienen flora subgingival significativamente diferente. Los bastoncillos gramnegativos representan entre 48 a 78% del total de la microbiota cultivable.

CARIES DENTAL

Es ampliamente conocida 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. (4,5,16,19,21,23).

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

1. Factores esenciales:

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

2. Factores modificadores:

- A) Enfermedades sistémicas.
- B) Saliva.
- C) Flúor, etc. (16).

TEORIA SOBRE LA ETIOLOGIA DE LAS CARIES

1. TEORÍA ACIDOGENICA

En la actualidad es la teoría que más se acerca a explicar la etiología de la caries. Propuesta por Miller en 1,980, quién determinó que en el proceso intervenía un microorganismo oral capaz de producir ácidos y proteína digestiva. A partir de exámenes microscópicos de varios miles de cortes, Miller llegó a la conclusión de que la caries de esmalte es producida por un grupo de organismos predominantemente filamentosos. La destrucción del cuerpo del esmalte y la dentina, fue primariamente una desmineralización, lo cual él confirmó por análisis clínico de dientes con caries. Alguna cantidad de ácido fue el único agente lógico de la desmineralización y el único origen concebible de dicho ácido en la boca, fue la fermentación microbiana de los carbohidratos de la dieta. (4,16).

2. TEORÍA PROTEOLITICA

Describe la caries como un proceso proteolítico que incluye la despolarización y licuefacción del esmalte (su matriz orgánica). Por tanto sales orgánicas menos solubles podrían liberarse de su enlace inorgánico lo que ayudaría a su propia disolución provocada por bacterias acidogénicas que luego penetrarían a la superficie dental.(16).

3. TEORIA PROTEOLISIS-QUELACION

Considera que la caries es una destrucción bacteriana de los dientes en la que el primer ataque se dirige principalmente a los componentes orgánicos del esmalte. Los productos de descomposición de esta materia orgánica tienen propiedades quelantes y por lo tanto, disuelve los minerales del esmalte.(16).

MEDIOS PARA PREVENIR LA CARIES

La caries 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 que existen pocas o ningunas probabilidades, 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 dental 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 (uso de flúor 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 decolorantes no cariogénicos y aditivos de fosfato).

HIGIENE BUCAL:

El método más difundido y socialmente aceptado para la higiene bucal sobre todo en el mundo occidental es el cepillado dental.(11).

Existe variedad de técnicas de tipos de cepillado y pastas dentales, muchas de las cuales cuentan con una forma de fluoruro como medidas terapéuticas.

El punto más importante acerca del cepillado de los dientes independientemente de la técnica utilizada, tipo de cepillado o pasta dental, consiste en la eficiente y real eliminación de la placa bacteriana o erosionar los tejidos duros.(11)

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

MÉTODOS QUÍMICOS PARA COMBATIR PLACA BACTERIANA.

- Antibióticos.
- Clorhexidina.
- Enzimas (2).

AUMENTO DE LA RESISTENCIA DEL DIENTE

Uso del ion flúor: Se considera que la mayor parte del efecto del ion flúor en la prevalencia de la caries dental se debe a su habilidad para incrementar la resistencia del esmalte al ataque ácido, además se observa que inhibe la formación de varias enzimas incluyendo algunas que intervienen en la formación de ácidos por las bacterias.

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

Los selladores se aplican en la superficie oclusal y exactamente en los agujeros y fisuras de estas superficies en los molares y premolares, que son el área más susceptibles a la caries que el resto de superficies dentarias.(9).

El procedimiento de colocación implica pasos a seguir que son:

- Profilaxis previa.
- Aislamiento.

- Acondicionamiento con ácido.
- Lavado y secado.
- Y por último la colocación del sellado, que en caso de selladores de polimeración es necesario añadir el paso fotopolimeración.(9).

MODIFICADORES DE LA DIETA.

El control dietético de la caries depende en primer término y ante todo de la voluntad y tenacidad de cada paciente.

La limitación voluntaria en el consumo de sacarosa puede ser convenientemente en algunos pacientes y ciertamente reducir la caries, tal como se observa en el caso de personas con intolerancia a la fructuosa. Algunos pacientes pueden encontrar motivación para practicar un control dietético apropiado, pero no es una característica generalizada a todos los pacientes.(16).

CONTROL DE PLACA.

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

- Cepillos dentales.
- Dentífricos.
- Seda dental.
- Limpiadores interdientales
- Sustancias reveladoras de placa.(5,16)

STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS

STREPTOCOCCUS

Células esféricas y ovoides, rara vez alargadas en bastoncillos: se presentan apareados o en cadenas cortas o largas, nunca en paquetes. A veces los cultivos producen una coloración rojiza de herrumbre por picadura en agar, se desarrollan pocos en medios artificiales, las colonias en agar son pequeñas y translúcidas, las superficies pueden ser veladas, convexas o mucoides. En su mayoría son anaerobias facultativas, con escasa vegetación superficial en cultivos por picaduras, unos pocos son anaerobios estrictos y algunos de ellos atacan las proteínas para producir gases y malos olores. Se encuentran regularmente en la boca y el intestino de hombres.(3,13,21,24,25).

El Streptococo mide 0.5 a 1 micra de diámetro, los Streptococcus de las infecciones humanas son grampositivos.

Para el aislamiento primario, los medios deben contener sangre total, suero sanguíneos, exudados 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 éste para lizar los glóbulos rojos.

Los Streptococcus suelen desarrollarse a un ph entre 7.4 y 7.6. Aunque el desarrollo ocurre entre 15C y 40C, la temperatura óptima de cultivo para la mayor parte de los streptococcus es de 37.5C.(24).

En placas de agar-sangre a 37C suelen hacerse visibles, en 18 y 24 horas, pequeñas colonias delicadas, grisáceas y opalescentes, con bordes lisos o ligeramente rugosos y sobre la superficie del medio tiene aspecto de pequeñas gotitas de líquido.

En caldo alcalino a 37C 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 organismos pueden morir al menos que se traspasen pronto.(24).

STREPTOCOCCUS MUTANS

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

El Streptococcus Mutans sintetiza polisacáridos de moléculas grandes (por ejemplo dextranos) y desempeñan un papel importante en la formación de la caries dental.(1,3,4,13,17,19,23).

Ha sido aislado en poblaciones de diversos orígenes étnicos y socioeconómicos. Se encuentran en grandes cantidades en placa aislada de poblaciones con caries activas y más frecuente en placa con lesiones cariosas rampantes, que en placa de superficies dentales sanas. Se le considera como el principal agente etiológico en la caries dental humana.

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

Se considera que esta enzima tiene importancia esencial en establecimiento de Streptococcus Mutans en la placa dental. Parece que esto ocurre por medio del 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 síntesis de glucano a partir de la sacarosa exógena con la subsecuente adherencia a la superficie del esmalte.(16,19,).

En los cultivos de agar mitis-salivarius, estos organismos son fácilmente diferenciados por sus colonias altas, convexas y mucoides ligeramente azules, de 0.5 a 1. mm. de diámetro, las cuales tienen márgenes ondulados y una estructura interna remi-niscente característica finamente granular de vidrio escarchado.(4)

También se han identificado variantes lisas de *Streptococcus mutans*. Como concomitante de la síntesis de dextrano a partir de sacarosa, pueden colectarse un exudado acuoso en la parte superior de estas colonias, en ocasiones lo suficientemente abundantes como para que se unan y formen un charco a lado de la colonia. Estos *Streptococcus* crecen en medio 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 fermenten la insulina, rafinosa, manitol y sorbitol. En caldos y sacarosa se produce dex-trano precipitable por un volumen de etanol.(4).

La proporción de *Streptococcus Mutans* en los dientes humanos se ha reporta-do en correlación con el grado de actividad de la caries y los organismos pueden aislarse de lesiones de caries en los humanos.(5,16).

RELACIÓN DE STREPTOCOCCUS Y CARIES

Miller (1890) encontró *Streptococcus* en la cavidad oral. 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 de dentina cariada. Goadby 1903 encontró con frecuencia *Streptococcus* en la porción anterior de la dentina cariada. Niedergesas 1905, Kligler y Gies 1915 encontraron que el *Streptococcus* era el microorganismo predominante de la boca. Sieberth 1900 Baumgartner 1910, 1913, Nierdergesass 1915 y Herici y Hartzell 1919 postularon que el *Streptococcus* era impor-tante en la caries dental. Dichos postulados se basaron principalmente en la abundancia de *Streptococcus* oral, su presencia en la caries dentinal profunda y su consistencia como un agente causal de pulpitis acompañado a la caries dentinal pro-funda sin exposición de la pulpa.

Desde estas primeras observaciones, se han acumulado evidencia de Streptococcus verdaderamente suma más de la mitad de la cuenta viable de saliva y del dorso de la lengua, como la cuarta parte de las cuentas viables de las placas dentales y surcos gingivales.

Se han calculado que los Streptococcus son aproximadamente mil veces más numerosos que los Lactobacillus de la flora microbiana oral. Son igualmente abundantes en las cavidades de dientes de niño así como de adultos. Los Streptococcus han sido aislados más frecuentemente de la placa cariosa, transicional y cariosa sobre el esmalte que cualquier otra especie de bacteriana.

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

Otra característica de los Streptococcus orales relacionados con su cariogenicidad, en su rango de crecimiento y producción de ácidos, observándose que exceden a los de cualquier organismo oral, incluyendo a los Lactobacillus, los cuales alcanzan alrededor de 1:2,000 del total de la flora oral. La mayoría de los Streptococcus orales incluyendo a Streptococcus mutans, crece rápidamente y produce su acidez terminal (ph alrededor de 3.4), dentro de la 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 3.6) basado en sus cantidades relativas en la cavidad oral.

La determinación del papel de los Streptococcus en la caries dental fue 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 hámsters, mediante estudios de experimentación y por el establecimiento de un agente transmisible.

La patogenicidad potencial de *Streptococcus mutans* se debe a sus capacidad para producir moléculas pesadas, glucanos extracelulares (dextrano) el cual se adhiere a la superficie dental en la cual los *Streptococcus* orales y otros microorganismos cariogénicos y no cariogénicos colonizan para formar ácidos cariogénicos. Los diferente *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 la caries dental. Por ejemplo, *Streptococcus sanguis*, produce un glucano insoluble que difiere del dextrano en su estructura y es mucho menos adherente al esmalte. *Streptococcus sanguis* es mucho menos cariogénico que el *Streptococcus mutans*,. (3).

LACTOBACILLUS

El género *Lactobacillus*, constituye un componente importante de la flora humana natural, son bacilos grampositivos no esporulados, clasificados en la familia Lactobacilacea, generalmente inmóvil, microaerófilos y catalasa negativos. Forman ácidos lácteos como principal producto de fermentación de la glucosa. (1,13).

Habitan 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 presenten aislados o en cadenas. (4,1).

Tienden a hacerse grampositivos en los cultivos más antiguos, algunas especies producen un pigmento anaranjado, rojizo o de color ladrillo. Tiene necesidades nutritivas compleja. La mayoría de los *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 45C). Son acidúricos con un ph .óptimo de 5.5. a 5.8. (4,13).

En realidad casi desde la época en que los *Lactobacillus* se descubrieron por primera vez en la cavidad oral hace poco tiempo, ha existido la tendencia asignar a todos los *Lactobacillus* orales a la especie *Lactobacillus acidophilus* generalmente sin datos que lo respalden. Esta es una práctica bastante insegura aunque debe ser admiti-

do que la diferencia con frecuencia es difícil. Aunque lo más usual es que los *Lactobacillus* sean patógenos se han hecho intentos para establecer que los *Lactobacillus* sean agentes causales de la caries dental. Parece que se ha establecido correlaciones entre el estado de caries activa y la cantidad de *Lactobacillus* en la saliva. (4,13).

Se han comprobado que en un medio de Agar-Suero en condiciones anaeróbicas y en atmósfera de CO estimula el crecimiento y desarrollo de las cepas de la boca.

LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS

LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS

Pertencen a la clasificación de *Lactobacillus* homofermentativos microaerófilos, fue aislado por primera vez por Moro en el año 1900 a partir de las heces de lactantes, y se encuentran 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 y pueden llegar a ser predominante cuando se tiene una dieta láctea, son bastantes gruesos y de longitud variable, se disponen aislados a pares ligeramente flexionados en la unión y en cadenas largas. Las cadenas largas tienen formas filamentosas y las formas de 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. Poseen reacciones de fermentación variables, aunque la mayoría producen ácido pero no gas. A partir de la glucosa, lactosa, maltosa y sarosa llegan a coagular la leche en 48 horas.(4).

RELACIÓN DE LOS LACTOBACILLUS CON CARIES

Cuando O.B. Miller formuló la teoría parasitoquímica de la caries dental hacia 1800 llegó a creer que cualquier de las bacterias orales acidogenica podrían causar la

caries dental si producían suficiente ácido a partir de los carbohidratos de la dieta como para descalcificar el esmalte y la dentina.(4)

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

1. El organismo causante debería ser la especie más acidogénica que se encontraría en la cavidad oral en las lesiones de caries.
2. El agente causante debería ser capaz de aumentar la acidez que produjo en la lesión de la caries.
3. El organismo causante debería ser aislado en cultivos puros a partir de todas las etapas de las lesiones cariosas.
4. Los cultivos puros de los microorganismos deben ser capaces de producir caries cuando se inoculan en la cavidad oral o directamente sobre los dientes y ningún otro microorganismo oral 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 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 desarrollo de la caries. Si están presentes, deben comprobarse que no pueden producir una lesión cariosa.

Durante el período entre 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 (1930), Kleigler y Gies (1915) , y Howe y Hath (1917) sobre la flora oral indican su naturaleza, su función en productora de ácidos, licuefican-

tes, proteolítica y productora de pigmento, y que los Streptococcus y los Lactobacillus eran los más abundantes en las especies acidogénicas resistentes; y que los Lactobacillus eran los más ácidos. How y Hath fueron los primeros en postular que los Lactobacillus pueden intervenir en la fase descalcificante de la caries dental.(4).

Se le dio un ímpetu adicional a la flora acidogénica y a los Lactobacillus en la caries dental por los hallazgos de Rodríguez y McIntosh, James y Lazarus- Brlow publicados en 1922. Estos dos grupos de investigación encontraron Lactobacillus en las lesiones cariosas y demostraron su alto potencial de producción ácida y su capacidad de sobrevivir en los ácidos que producen. También producen lesiones semejantes a la de caries de los dientes esterilizados mediante su exposición a los Lactobacillus en caldos de cultivos.

Numerosas investigaciones en Lactobacillus de la saliva revelaron que:

1. Los Lactobacillus de la saliva estuvieron raras veces si es que alguna, completamente ausentes de la cavidad oral de un adulto con dientes, aunque pudieran estar presentes en muy pequeñas cantidades
2. Los Lactobacillus no pueden implantarse en la boca de animales o humanos que se encuentran relativamente libres de ellos, o incluso en bocas con abundantes Lactobacillus
3. El incremento de los Lactobacillus en las placas y en las superficies del esmalte precede al desarrollo de las lesiones cariosas
4. El incremento de los Lactobacillus de la saliva precede a la aparición de las lesiones visibles de la caries por 3 ó 6 meses
5. El incremento de los Lactobacillus de la saliva cuando existe un incremento en el número y el tamaño de las lesiones de las caries se observa, así como la disminución a medida que las lesiones se obturan

6. Los Lactobacillus de la saliva aumentan cuando existe un incremento en la susceptibilidad de la caries, según se ha medido por procedimientos clínicos y por pruebas de actividad biológica de la caries.
7. El ingreso de cantidades óptimas de fluoruro disminuye tanto a los Lactobacillus de la saliva como a la actividad de la caries.
8. El ingreso de cantidades crecientes de carbohidratos refinados, incrementa tanto a los Lactobacillus de la saliva como a la actividad de la 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 lesión descalcificada que semeja la caries natural.

Los Lactobacillus no calificaron como el agente microbiano exclusivo de la caries dental debido a que no era esencialmente transmisibles por los procedimientos usuales y no parecían ser la causa de la caries superficiales lisas.

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

INTRODUCCIÓN A LA MEDICINA POPULAR

En Guatemala 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, de manera indiscriminada, durante generaciones, brindando una alternativa de alivio a los procedimientos de las personas que la han utilizado. (9).

Cólicos y diarrea:

Decocción: hervir durante 10 minutos en un litro de agua 30 g de corteza de granado y beber cuatro tazas al día de esta decocción, edulcorada con miel.

Infusión: en una taza de agua hirviendo, poner en infusión durante 20 minutos 10 g. de flores. Filtrar, edulcorar y beber; la dosis puede ser repetida varias veces al día (18).

Prevención y tratamiento de hemorragias intestinales:

Decocción: sirve para prevenir y tratar las hemorragias intestinales: 10 g de raíz, 10 g de corteza de granado y 5 g de bicarbonato sodico, hirviendo los componentes en 150 g de agua durante 20 minutos. Filtrar el líquido añadiendo 20 g de jarabe de cedro, y tomar una cucharada de la decocción cada tres horas, durante toda la duración del trastorno (15).

Teniasis:

Decocción: dejar en infusión durante 24 horas en 800 g de agua, 60 g de raíz. Después hervirlo todo hasta que el líquido quede reducido a la mitad, dejarlo enfriar, colarlo, y tomar dos tazas cada dos horas. A cuatro horas de distancia de la segunda taza, tomar un energético purgante a base de aceite de ricino. La expulsión de la tenia esta asegurada (18).

Disentería, amebiana o bacteriana.

Para la "Disentería roja, por calor en el estomago y en la sangre"; manifestando por "asientos con sangre, dolor de estómago, con colicos, calentura, malestar general, sin deseos sin comer"(deposiciones líquidas con estrías de sangre, dolor abdominal tipo cólico, fiebre no cuantificada, malestar general, anorexia); para lo cual se prepara en cocimiento la cáscara de un fruto en 0.5 litros de agua; se ingiere un vaso tres veces al dia por 5-7 días (15,18,20).

Polimenorrea, Hemorragia Uterina disfuncional:

Para "Cuando hay mucha hemorragia vaginal por debilidad y calor en la matriz, inflamación y calor en la sangre"; manifestado por "aumento en la cantidad de sangre y días de menstruación, dolor de estómago y malestar general" (polimenorrea, dolor abdominal y malestar general); para lo cual se macera la cáscara y semillas de un fruto y se prepara su cocimiento en 0.5 litros de agua, luego se cuele; se ingiere $\frac{1}{2}$ - 1 vaso dos veces al día hasta remisión de síntomas (20).

Prevención de aborto habitual:

Para "cuando se quiere prevenir el aborto en el antecedente de 1 - 2 o más abortos anteriores, generalmente en el segundo o tercer mes de embarazo por debilidad de la matriz"; para lo cual se macera la cáscara de un fruto y se prepara su cocimiento en 0.5 litros de agua, se le agrega un vaso de vino tinto y el jugo proveniente de la maceración de un riñón de res; se ingiere un vaso diario desde el inicio del embarazo (18)

Hemorragia postparto:

Para "cuando la hemorragia es abundante después del parto porque la matriz no queda en su lugar"; para lo cual se macera un fruto y se prepara su cocimiento en 0.5 litros de agua; se ingiere un vaso tres veces al día por 5 días (20).

Usos Orales:

Infusión para enjuagues: Para reforzar las encías, preparar una infusión de medio litros de agua hirviendo y 25 gramos de flores. Enjuagar la boca varias veces al día con esta infusión hacer gargarismos en las inflamaciones de garganta (18).

Composición Química:

La corteza contiene alcaloides derivados de la piperidina, como peletierina, isopeletierina, metil-isopeletierina, pseudo-peletiesina, , ácido gálico y 22% de taninos. Las hojas contienen 2-(2-propenil)-piperidina (20).

El análisis proximal de 100 gr de fruto fresco contiene: 72 calorías, 80.0 gramos de agua, 1.0 gramos de proteína, 0.6 gramos de grasa, 17.7 gramos de carbohidratos totales, 1.1 gramos de fibra, 0.7 gramos de ceniza, 13 miligramos de calcio, 23 miligramos de fósforo, 0.7 miligramos de hierro, 7 miligramos de sodio, 379 miligramos de potasio, 0.07 miligramos de tiamina, 0.01 miligramos de riboflavina, 0.3 miligramos de niacina, 7 miligramos de ácido ascórbico. 10 gramos de semilla fresca contienen: 35 gramos de agua, 9.4 gramos de proteína, 6.9 gramos de grasa, 35 gramos de carbohidratos totales y 1.5 gramos de ceniza.(15,18)

Otros usos:

El fruto es comestible principalmente por los niños. La industria artesanal utiliza la corteza para fabricar tintes (20).

Partes Utilizables:

Se usan las flores, la corteza y cáscara del fruto (15).

OBJETIVOS

GENERAL

1. Encontrar nuevas alternativas de tratamientos y prevención de caries dental que beneficien a la población guatemalteca.
2. Aumentar la información o conocimiento acerca de la efectividad de las plantas o comprobar conocimientos de quienes han utilizado la medicina naturista.
3. Continuar con el estudio de plantas que poseen efectos inhibitorios sobre los microorganismos cariogénicos.

ESPECÍFICOS

1. Determinar si la infusión de flores de granado (*Púnica granatum L.*), posee efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los agentes cariogénicos *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.
2. Determinar si el efecto inhibitorio de la infusión de flores de Granado (*Púnica granatum L.*) varía al utilizar diferentes concentraciones de la misma.

VARIABLES

Independiente: La infusión. (obtenida de la decocción de las flores de Granado [Púnica granatum L.] en agua a ebullición).

Independiente: Bacterias *S. mutans* y *L. acidophilus*. (componentes cariogénicos de la flora bucal normal).

Dependiente: Inhibición del crecimiento. (Disminución del número total de UFC de *S. mutans* y *L. acidophilus*, en el medio experimental).

Indicadores: Inhibición del crecimiento:

La disminución en el recuento de número de UFC en el medio experimental. Con el objeto de determinar si existe inhibición en el crecimiento de UFC en el medio tratado con la infusión..

Infusión:

Obtenida al llevar a ebullición 100 ml. de agua destilada, conteniendo el extracto de las flores de granado y a las concentraciones deseadas (5, 10, 20%), por 15 minutos.

Cepas de *Streptococcus Mutans* y *Lactobacillus acidophilus*:

Del cepario de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos.

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

1. Cepas: Núcleo alrededor del cual se desarrolla una familia de microorganismos.
2. Infusión: Producto que se obtiene 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.
3. Inhibición: Mecanismo por medio del cual se detiene la manipulación de un proceso o función.
4. In Vitro: Que se produce u ocurre dentro de un envase de vidrio; observable en un tubo de ensayo; que ocurre o se produce en un ambiente artificial.
5. Microaerofilia: (Microaerophilia) Que requiere oxígeno para crecer, pero a concentración menor que la que se encuentra en la atmósfera; se dice de la bacteria.
6. U.F.C.: Unidades Formadoras de Colonias.

METODOLOGÍA

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE FLORES DEL GRANADO

Para este estudio se utilizaron las Flores del granado, estas fueron obtenidas en Guatemala en lugares donde normalmente crece este fruto.

La planta se llevó a clasificar al herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad San Carlos de Guatemala, para confirmar que era la especie ha utilizar.

Se emplearon 3 infusiones (5,10,20% p/v), para lo cual se utilizarán 20 gr. de las flores secas.

Se colocaron en 100ml de agua destilada y se cocinaron, dejándolas hervir durante 15 minutos, las infusiones obtenidas fueron filtradas, para eliminar partículas grandes de la infusión. Posteriormente se esterilizaron por medio de autoclaves, y se almacenaron en frascos color ámbar debidamente rotulados (5,10,20% p/v), guardándose en un lugar fresco y seco.

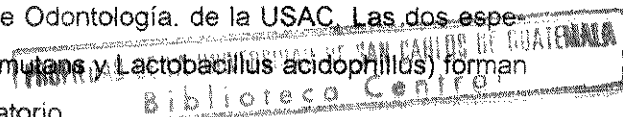
PROCEDIMIENTO:

1. Refrescamiento de las cepas.

Las cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* se encontraban en estado latente en un medio llamado Stock y para activarlas se introdujeron a un caldo nutritivo reformado para *Lactobacillus acidophilus* y en medio de Hewitt para *Streptococcus mutans*.

2. Cepario, almacenamiento.

Los dos pasos anteriores fueron llevados a cabo previamente por el laboratorio microbiológico y bioquímico de la Facultad de Odontología. de la USAC. Las dos especies microbianas en estudio (*Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*) forman parte del cepario con que cuenta dicho laboratorio.



3. Medios de Cultivo:

Se procedió a inocular las dos especies microbianas en estudio, utilizando para el efecto un medio sólido y uno líquido que fueron:

- Todd Hewitt como medio líquido para el *Streptococcus mutans*.
- Para *Lactobacillus* se utilizará un caldo nutritivo reformulado.
- Agar Rogosa- Medio sólido selectivo para *Lactobacillus acidophilus*.
- Agar - Mitis - Salivarius medio sólido para *Streptococcus mutans*.

PROCEDIMIENTO:

Para la realización de este estudio los microorganismos se encontraban en un medio de cultivo llamado STOCK, y se refrescó el cultivo, a continuación se colocaron los microorganismos en los caldos. Para el *Streptococcus mutans* se utilizó el Todd Hewitt y también se contó con un caldo nutritivo reformador para *Lactobacillus acidophilus*.

El siguiente paso fue el control de calidad y; para ello se observó la forma de las colonias de los microorganismos dentro de las cajas de petri en una forma macroscópica. Posteriormente se hizo un recuento para determinar la cantidad de (U.F.C.s), y estos valores tanto del control como los obtenidos en las distintas concentraciones de la infusión se comparó y se determinó si existía efecto inhibitorio sobre los microorganismos.

Materiales:

Mechero

Frascos con rosca

Servilletas de Papel

Micropipetas Pasteur

Cajas de Petri

Rodo de vidrio

Medio de control:

En un frasco se agregó 9.9 ml de agua tridestilada y 0.50 microlitros de microorganismos (*S. mutans* y *L. acidophilus*), luego se procedió a agitar.

De esta dilución que está al 1:100 se tomó un microlitro y se depositó en un vial que contenía 0.9 ml de agua tridestilada, se agitó nuevamente y así se obtuvo una dilución al 1:1,000.

De esta dilución al 1:1,000 se tomó con la pipeta 0.1 ml y se sembró en las cajas de Petri que ya tienen el medio de cultivo; con un rodo de vidrio se dispersó en el medio de cultivo respetando las orillas de la caja de Petri.

Medio experimental:

En tres frascos se agregaron 9.9 ml de la infusión en sus distintas concentraciones (una concentración por frasco) 20, 10 y 5% y 0.50 microlitros de microorganismos (*S. mutans* y *L. acidophilus*) en cada frasco luego se procedió a agitar.

De estas diluciones que estaban al 1:100 se tomó un microlitro de cada una y se depositó en tres viales que contienen cada uno 0.9 ml de infusión, se agitó nuevamente y así se obtuvieron tres diluciones al 1:1,000 (una por cada concentración de la infusión).

De estas diluciones al 1:1,000 se tomó con la pipeta una pequeña cantidad y se sembró en las cajas de Petri que ya tenían el medio cultivo; con un rodo de vidrio se dispersó en el medio de cultivo respetando las orillas de la caja de Petri.

El procedimiento para el medio experimental se realizó dos veces para tener un parámetro comparativo y determinar si existían factores externos, además de la infusión, que pudieran influir en el crecimiento de las colonias. Se marcaron las cajas correspondientes con las literales A y B

Luego las cajas de Petri se colocaron a una temperatura de 37 grados Centígrados dentro de una lata y esta dentro de una incubadora.

El conteo de las colonias de *S. mutans* se hizo con el contador de colonias y el estereoscopio de luz incidente, después de haber permanecido 48 horas en la incubadora y 24 horas en temperatura ambiente.

El conteo de las colonias de *L. acidophilus* se hizo después de haber permanecido 24 horas en la incubadora.

Se tabularon los resultados para los experimentos A y B, con los distintos medios de cultivo y se elaboraron graficas y cuadros que se presentan en la sección correspondiente de este trabajo.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS**CUADRO 1**

**RECuento de UFC'S DE S. mutans y L. acidophillus, CULTIVO CONTROL
DILUIDO 1/1000 EN AGUA TRIDESTILADA.**

Microorganismo	Control A	Control B
Streptococcus mutans	3258 UFC's	3276 UFC's
Lactobacillus acidophillus	522 UFC's	536 UFC's

INTERPRETACIÓN:

El crecimiento de S. mutans y L. acidophillus en los medios de control A y B no variaron significativamente, con lo que se comprueba que no se presentaron factores externos en la realización de los cultivos, que afectarán los datos obtenidos. Es necesario establecer que el promedio del crecimiento de ambos controles para cada uno de los microorganismos, en este estudio se tomó como el crecimiento máximo que pudieron presentar las cepas.

CUADRO 2

RECUEENTO DE UFC's DE *S. mutans*, EN EL MEDIO CONTROL Y EN LA INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A DISTINTAS CONCENTRACIONES.

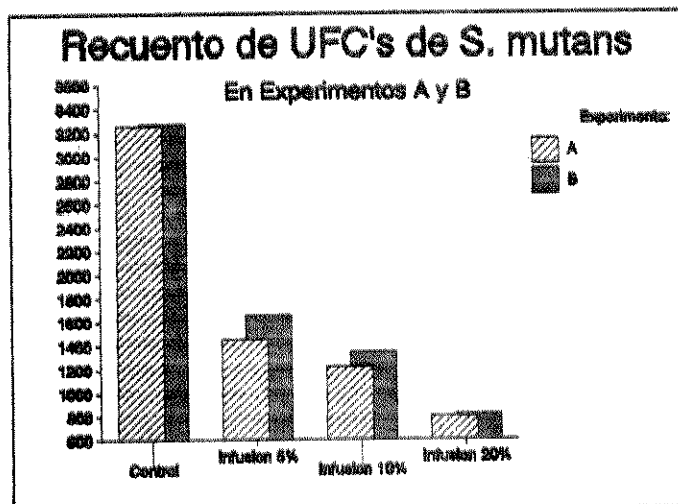
MEDIO DE CULTIVO:		EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
INFUSION:*	5%	1452 UFC's	1660 UFC's
	10%	1227 UFC's	1344 UFC's
	20%	801 UFC's	822 UFC's
CONTROL:**		3258 UFC's	3276 UFC's

* Dilución de *S. mutans* al 1:1000 en infusión de flores de granado a sus distintas concentraciones..

** Dilución de *S. mutans* al 1:1000 en Agua Tridestilada.

INTERPRETACIÓN:

No se presentaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los experimentos A y B. En los resultados obtenidos con la infusión se puede observar que a más concentración menor fue la cantidad de microorganismos en comparación con el Control.



Gráfica # 1

CUADRO 3

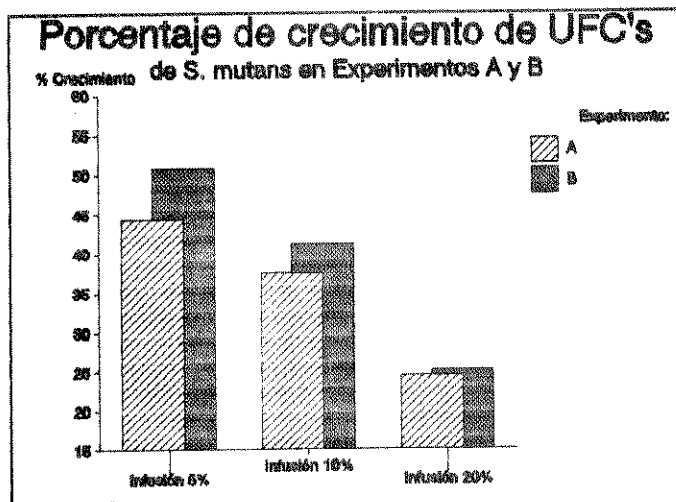
PORCENTAJE DE CRECIMIENTO DE UFC's DE *S. mutans*, EN LA INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES RESPECTO AL MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
5%	44.4 %	50.8%
10%	37.5%	41.2%
20%	24.5%	25.2%

*: El crecimiento en el medio de control se tomo como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión.

INTERPRETACIÓN:

Se puede observar que considerando que el crecimiento obtenido en el medio control que se presenta en el cuadro 1, fue el 100% del crecimiento viable para esas cepas, se observan los porcentajes de crecimiento en la infusión a sus distintas concentraciones. El cuadro muestra que a mayor concentración de la infusión menor fue el crecimiento de las cepas.



Gráfica #2

CUADRO 4

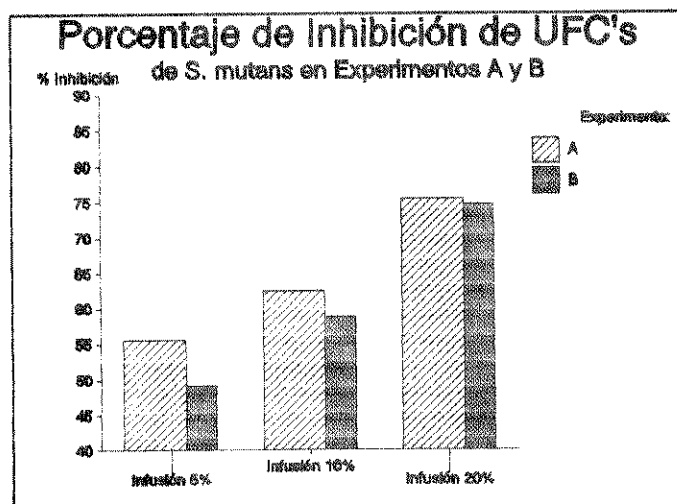
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE UFC's DE *S. mutans*, EN LA INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES CON RESPECTO AL MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
5%	55.6 %	49.2%
10%	62.5%	58.8%
20%	75.5%	74.8%

*: El crecimiento en el medio de control se tomó como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión y el porcentaje de inhibición como 0%.

INTERPRETACIÓN:

En este cuadro se observa que con respecto al crecimiento de control, la inhibición de crecimiento de las cepas de *S. mutans* fue mayor en la infusión con mayor concentración y en las otras concentraciones también se observó una relación directamente proporcional.



Gráfica #3

CUADRO 5

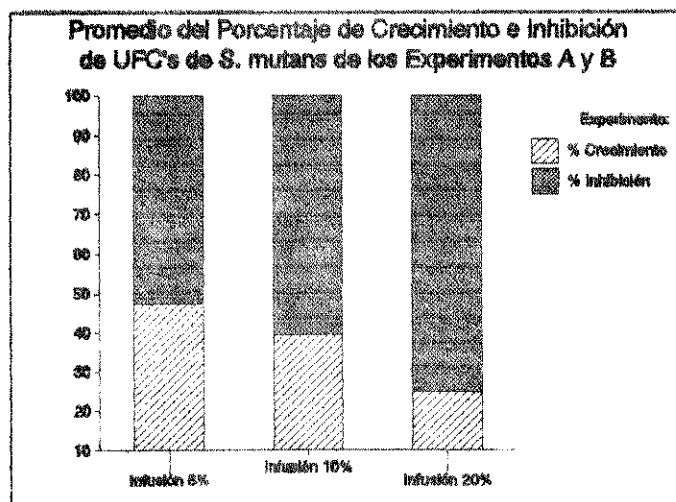
PROMEDIO DE CRECIMIENTO E INHIBICIÓN DE UFC's DE *S. mutans*, EN LA INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES CON RESPECTO AL MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	PORCENTAJE PROMEDIO DE CRECIMIENTO	PORCENTAJE PROMEDIO DE INHIBICIÓN
5%	47.6%	52.4%
10%	39.4%	60.6%
20%	24.8%	75.2%

*: El crecimiento en el medio de control se tomó como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión y el porcentaje de inhibición como 0%.

INTERPRETACIÓN:

En el cuadro anterior se puede observar que la relación entre el crecimiento y la concentración de la infusión fue inversamente proporcional y por lo tanto directamente proporcional entre la concentración de la infusión y la inhibición del crecimiento.



Gráfica #4

CUADRO 6
RECuento DE UFC's DE *L. acidophillus*, EN EL MEDIO CONTROL Y EN LA
INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A DISTINTAS CONCENTRACIONES.

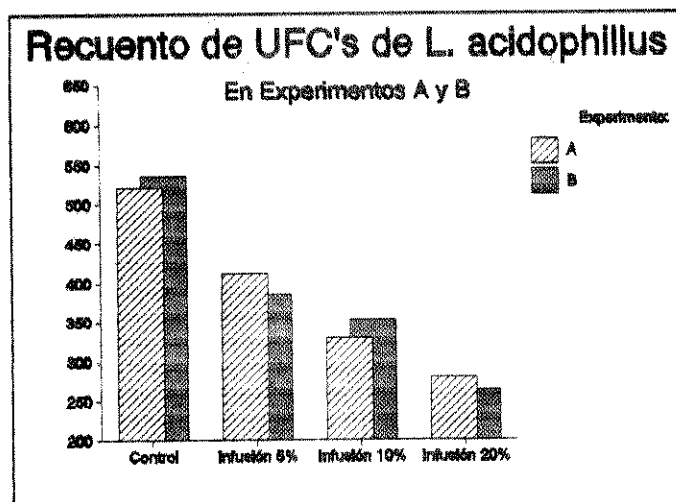
MEDIO DE CULTIVO:		EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
INFUSION:*	5%	412 UFC's	385 UFC's
	10%	330 UFC's	352 UFC's
	20%	280 UFC's	264 UFC's
CONTROL:**		522 UFC's	536 UFC's

* Dilución de *L. acidophillus* al 1:1000 en infusión de flores de granado a sus distintas concentraciones..

** Dilución de *L. acidophillus* al 1:1000 en Agua Tridestilada.

INTERPRETACIÓN:

No se presentaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los experimentos A y B. En los resultados obtenidos con la infusión se puede observar que a más concentración menor fue la cantidad de microorganismos en comparación con el Control.



Gráfica #5

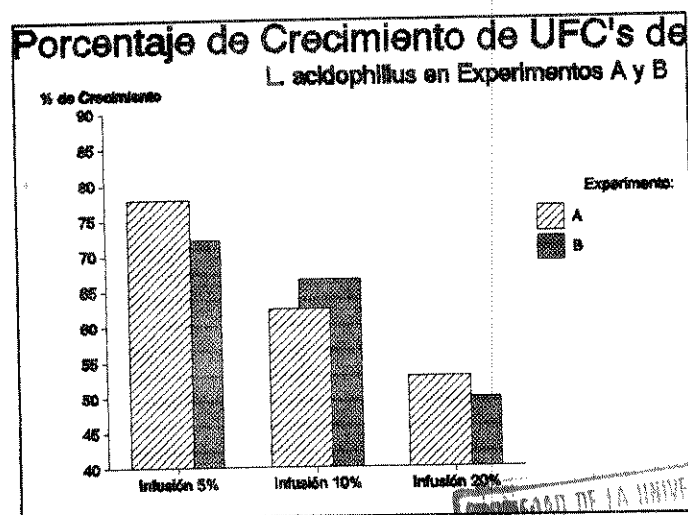
CUADRO 7
PORCENTAJE DE CRECIMIENTO DE UFC's DE L. acidophilus, EN LA INFUSIÓN
DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES RESPECTO AL
MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
5%	77.8 %	72.7%
10%	62.4%	66.5%
20%	53.9%	49.9%

*: El crecimiento en el medio de control se tomo como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión.

INTERPRETACIÓN:

Se puede observar que considerando que el crecimiento obtenido en el medio control que se presenta en el cuadro 1, fue el 100% del crecimiento viable para esas cepas, se observan los porcentajes de crecimiento en la infusión a sus distintas concentraciones. El cuadro muestra que a mayor concentración de la infusión menor fue el crecimiento de las cepas.



Gráfica #6

CUADRO 8

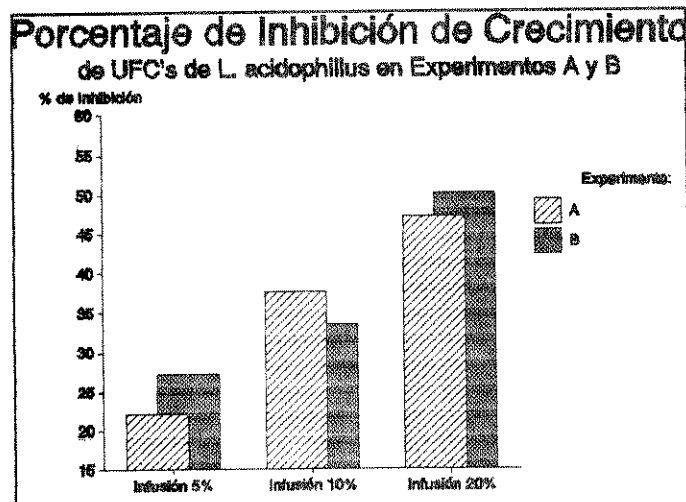
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE UFC's DE *L. acidophilus*, EN LA INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES CON RESPECTO AL MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	EXPERIMENTO A	EXPERIMENTO B
5%	22.2%	27.3%
10%	37.6%	33.5%
20%	47.1%	50.1%

*: El crecimiento en el medio de control se tomó como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión y el porcentaje de inhibición como 0%.

INTERPRETACIÓN:

En este cuadro se observa que con respecto al crecimiento de control, la inhibición de crecimiento de las cepas de *S. mutans* fue mayor en la infusión con mayor concentración y en las otras concentraciones también se observó una relación directamente proporcional.



Gráfica #7

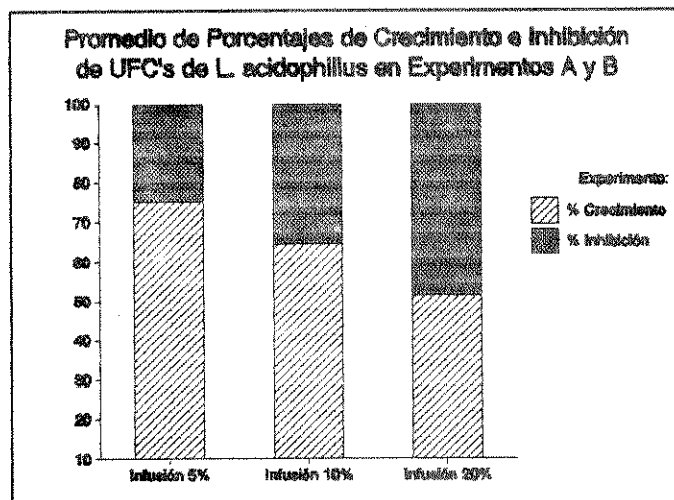
CUADRO 9
PROMEDIO DE CRECIMIENTO E INHIBICIÓN DE UFC's DE L acidophilus, EN LA
INFUSIÓN DE FLORES DE GRANADO A SUS DISTINTAS CONCENTRACIONES CON
RESPECTO AL MEDIO DE CONTROL*.

CONCENTRACIÓN DE LA INFUSIÓN:	PORCENTAJE PROMEDIO DE CRECIMIENTO	PORCENTAJE PROMEDIO DE INHIBICIÓN
5%	75.2%	24.8%
10%	64.4%	35.6%
20%	51.4%	48.6%

*: El crecimiento en el medio de control se tomó como el 100% para hacer la comparación de valores con los de la infusión y el porcentaje de inhibición como 0%.

INTERPRETACIÓN:

En el cuadro anterior se puede observar que la relación entre el crecimiento y la concentración de la infusión fue inversamente proporcional y por lo tanto directamente proporcional entre la concentración de la infusión y la inhibición del crecimiento.



Gráfica #8

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según diversos centros de medicina natural y literatura consultados, a la flor del granado (*Púnica granatum* L.) se le confieren múltiples propiedades medicinales, sobresaliendo entre ellas, su poder tenífugo, astringente y antiinflamatorio, utilizándola la población para el tratamiento de cólicos, diarreas, teniasis y diversas inflamaciones bucales (7,15,20).

Informes acerca del granado no refieren inhibición de microorganismos periodontopáticos o cariogénicos. Siendo este el primer estudio que se realiza con microorganismos cariogénicos en el cual se pudo observar que hubo una inhibición de crecimiento del *S. mutans* de hasta un 75.5%, con la infusión de la planta al 20% p/v y para el *L. acidophilus* fue de hasta un 53.9% con la infusión a la misma concentración.

Otro hallazgo de gran relevancia es que el efecto inhibitorio del crecimiento de ambos microorganismos es directamente proporcional a la concentración de la infusión de las flores de granado.

La inhibición observada en el crecimiento de los microorganismos, posiblemente se deba a que los principios activos de la planta maten a las células de los microorganismos por algún mecanismo no conocido, o posiblemente afecten el ADN, o algunas enzimas entre otras, la glucosil transferasa¹.

En estudios anteriores, la forma de poner en contacto las células bacterianas con la infusión se logró combinando el medio líquido con la infusión, mezclándolos simultáneamente. A esta mezcla se le agregaron las células microbianas y se observó que no hubo formación de polímeros, siendo este el criterio utilizado para afirmar que

¹ Padilla, A. E. Efecto inhibitorio de la infusión de hierba del cancer (*A. calypha guatemalensis*), sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos (*S. mutans* y *L. acidophilus*), in vitro. Tesis (Cirujano Dentista). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1996. p. 47.

había inhibición de crecimiento¹. Observaciones posteriores realizadas en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, permitió establecer que algunos componentes del medio interactúan con algunos principios de la planta, ya sea anulando o afectando el efecto antimicrobiano²

Con el procedimiento utilizado en este estudio se elimina la interferencia del medio de cultivo y se obtiene un contacto directo de la infusión con los microorganismos y se logró de esta manera que se pudiera realizar la cuantificación del efecto antimicrobiano, pudiendo ser lo más similar a lo que podría suceder en la cavidad oral, al utilizar estos principios en forma de colutorios.

Los resultados de este estudio, comparados con investigaciones anteriores, son mucho más confiables, debido a que pudo ser cuantificado el efecto microbiano de la infusión, sobre las cepas de los microorganismos; al mismo tiempo todo el experimento se realizó en duplicado para obtener una mayor consistencia y reproductibilidad de los resultados.

Una de las razones por la cual la planta debe ser sometida a más estudios de laboratorio es que la inhibición del crecimiento de ambos microorganismos, se logró con la mayor concentración de la infusión, lo que podría ocasionar algún posible efecto no deseable sobre los tejidos bucales, si se usara a esta concentración como enjuagatorios.

¹ Milian, E. E. Efecto del extracto de corteza de encino sobre la formación de la placa bacteriana. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1988. p. 42.

² Padilla, A. E. Efecto inhibitorio de la infusión de hierba del cancer (A. calypha guatemalensis), sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos (S. mutans y L. acidophilus), in vitro. Tesis (Cirujano Dentista). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1996. p. 47.

CONCLUSIONES

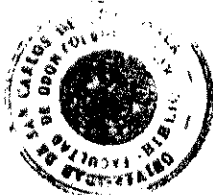
- La infusión de flores de granado posee efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*.
- La infusión de flores de granado posee efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*.
- El efecto inhibitorio de la infusión de flores de granado presentado sobre el *S. mutans* fue mayor que el presentado sobre el *L. acidophilus*.
- La relación entre el efecto inhibitorio de la infusión de flores de granado a sus distintas concentraciones y la inhibición del crecimiento de ambos microorganismos fue directamente proporcional.
- El procedimiento empleado en este estudio, lo hace más confiable que los procedimientos utilizados en el pasado, debido a que posee la característica de ser reproducible, mostrando consistencia en los hallazgos y principalmente porque permite cuantificar el fenómeno.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios que determinen y cuantifiquen los principios activos de las flores de granado, responsables de la inhibición del crecimiento de ambos microorganismos.
- Continuar con los estudios para determinar la concentración mínima ideal de la infusión de flores de granado capaz de inhibir a los microorganismos estudiados.
- Que se continúe con el apoyo a la línea de investigación científica de la Facultad de Odontología dirigida hacia todas aquellas recetas de uso odontológico, para encontrar nuevas alternativas en la prevención de enfermedades bucales.
- Mantener los esfuerzos para encontrar nuevas alternativas de prevención de enfermedades bucales que sean efectivas y de bajo costo adecuados para la mayoría de la población guatemalteca.
- *Continuar con este tipo de estudios preliminares, debido a la alta variedad de plantas existentes en el país.*
- Unificar esfuerzos con otras facultades, para la posible elaboración de fórmulas farmacológicas, a partir de los principios activos de la *Púnica granatum L.*, para ser utilizada como preventiva de la caries dental.

BIBLIOGRAFIA

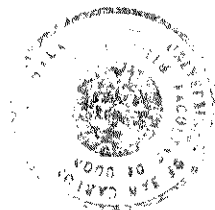
1. Bayley, S. Diagnóstico microbiológico. 6a. ed. Buenos Aires, Panamericana, 1973. pp. 16, 314.
2. Bral, M. y C.N. Brownstein. Antimicrobianos en la prevención y tratamiento de las enfermedades periodónticas. Traducido por: José A. Ramos. México, Nueva Editorial Interamericana, 1988. pp. 227-252. (Clínicas Odontológicas de Norteamérica, v. 32 No. 2)
3. Buron, K.y R. William. Microbiología. México, Universal, 1976. pp. 525-531.
4. Burnett. G. Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca. México, Limusa, 1986. pp 21, 22, 43, 277, 289, 306.
5. Campos Rodríguez, H. Cuantificación simplificada de la placa bacteriana. Tesis (Cirujano Dentista). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1982. p. 87.
6. Carranza, F.A. Periodontología clínica de Glickman. 6a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp. 386-389.
7. Cecchini. T. Enciclopedia de las hierbas y plantas medicinales. Barcelona, Editorial de Vecchi, 1973. pp.422-425.
8. Cemat- Farmaya. Fichas populares sobre plantas medicinales. 2a .ed. Guatemala, 1990. pp 38-42.
9. Cuenca, E., C. Manau, y Ll. Serra. Manual de odontología preventiva y comunitaria. Madrid, Masson, 1991. pp. 124, 135, 261-262.
10. Fernández, H. Etnobotánica de los recursos fitogenéticos de uso medicinal presentes en ocho municipios del área de influencia étnica mam, del departamento de Huehuetenango. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1992. pp. 110-111.
11. Hardie, J. M. Silverstone y R.A. D. Williams. Caries dental etiología, patología y etiología. Traducido por María del Rosario Carsolio Pacheco. México, Manual Moderno, 1985. pp 227, 232, 236.
12. Hill, A. Economic botany. 2nd. ed. Philadelphia, Mc Graw Hill, 1974. pp 432, 514.



13. Jawetz, E. Microbiología médica. 14a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1983. pp. 2-6, 314-341.
14. Lindhe, J. Periodontología clínica. Buenos Aires, Editorial Médico Panamericana, 1986. pp 87-89.
15. Nash, D. Flora of Guatemala. Philadelphia, Mc Graw Hill, 1976. pp 260.
16. Newburn, E. Cariología. Traducido por: Ana Pérez Calderón. México, Limusa, 1984. pp. 23-35, 77, 104-106, 361-362.
17. Nolte, W. Oral microbiology. St. Louis, Mosby, 1977. pp. 33, 119, 309-310.
18. Nuñez, E. Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore. 2da. ed. Costa Rica, Universidad de Costa Rica, 1978. pp. 214.
19. Regezzi, J. A. y J. Sciubba. Patología bucal. Traducido por Sonia Scheider Rivas y Manuel Antonio Palacios. México, Nueva Editorial Interamericana, 1991. pp 93, 511-523..
20. Ronquillo, F. Colecta y descripción de especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y/o medicina de las zonas semiáridas del nor-oriente de Guatemala. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1988. p. 111.
21. Ross, P. y P. Holbrook. Microbiología bucal y clínica. Traducido por María del Rosario Corsolio Pacheco. México, Nueva Editorial Científica, 1987. p.p. 5, 6, 81-85.
22. Steele, P. F. Dimension of dental hygiene. 3rd. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1992. p. 549.
23. Shafer, W. G. y B. M. Levy. Tratado de patología bucal. 4a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp. 415-419.
24. Zinsser, H. Microbiología. 18a. ed. Buenos Aires, Editorial Hispanoamericana, 1987. pp. 711-713.

Vo Bu

Lido Glenez
 7-20-9-96



Rosa María Ordoñez

Br. Rosa María Ordoñez Quinto.
Sustentante

Alfonso de León Godoy

Dr. Alfonso de León Godoy
Asesor

Raúl Ralón Carranza

Dr. Raúl Ralón Carranza
Asesor

Guillermo Rosales Escribá

Dr. Guillermo Rosales Escribá
Comisión de Tesis

Axel Popol Oliva

Dr. Axel Popol Oliva
Comisión de Tesis



Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

Imprimase:
Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo
Secretario



PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca C.