

**EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE APAZOTE
(Chenopodium ambrosioides L)
SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS
CARIOGENICOS,
Lactobacillus acidophilus y Streptococcus mutans. IN VITRO**

Tesis presentada por:

ROSA MARIA SOLARES SOLARES

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

CIRUJANO DENTISTA

Guatemala, Noviembre de 1996.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

09
T(1302)
C-4

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

- DECANO: Dr. Danilo Arroyave Rittscher
- VOCAL PRIMERO: Dr. Eduardo Abril Gálvez
- VOCAL SEGUNDO: Dr. Luis Alberto Barillas Vásquez
- VOCAL TERCERO: Dr. Victor Manuel Campollo Zavala
- VOCAL CUARTO: Br. Franklin Aaron 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. Luis Alberto Barillas Vásquez
- VOCAL SEGUNDO: Dr. Alfonso de León Godoy
- VOCAL TERCERO: Dr. Raúl Ralón Carranza
- SECRETARIO: Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo

ACTO QUE DEDICO

- A Dios:** Mi luz, mi guía y mi apoyo en todo momento.
- A mis padres:** Jorge Solares y Rosalinda de Solares como recompensa a sus esfuerzos durante todos estos años y por todo el apoyo que me han brindado siempre.
- A mi abuela:** Rosa Laura Montenegro por todo su amor y por ser en vida mi más grande ejemplo de fortaleza y voluntad.
- A mis hermanos:** Por acompañarme en mi camino y brindarme su cariño.
- A mi familia:** Muy especialmente a la familia Aguilar Solares que tan incondicionalmente me abrió las puertas de su casa y me brindó su cariño y apoyo.
- A mis amigos:** Karla Vielman, Clemen Ramos, Carolina Girón, Jorge Véliz y Mario Morales.
Gracias por ser como son.

TESIS QUE DEDICO

A Guatemala: Con profundo compromiso moral de contribuir a su desarrollo como una persona de bien y útil a la sociedad.

A la Universidad de San Carlos.

A la Facultad de Odontología.

A mis Maestros y Compañeros.

Y muy especialmente a usted que me acompaña hoy.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los estatutos establecidos por 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:

EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE APAZOTE (Chenopodium ambrosioides L) SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS.

Lactobacillus acidophillus y Streptococcus mutans. IN VITRO.

Agradezco la orientación de mis asesores, Dr. Alfonso de León, Dr. Francisco Valdéz, Dr. Raúl Ralón.

A los distinguidos miembros del Honorable Tribunal Examinador mi respeto y agradecimiento.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
Sumario	1
Introducción	2
Planteamiento del Problema	3
Justificaciones	4
Objetivos	5
Hipótesis	6
Variables	6
Definición de términos	7
Revisión de Literatura	8
Recursos	32
Metodología	34
Comprobación de trabajo	43
Presentación de Resultados	45
Discusión de Resultados	62
Conclusiones	66
Recomendaciones	67
Bibliografía	68

SUMARIO

El presente estudio evaluó el efecto inhibitorio que la infusión de Apazote en distintas concentraciones, tiene sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* in vitro.

Se realizaron dos procedimientos denominados I y II, en los cuales se utilizó infusión pura o infusión mezclada con medio de cultivo respectivamente.

Previo a la fase experimental del estudio se realizó el aislamiento de la cepa *Streptococcus mutans*, a partir de placa bacteriana de niños con edad escolar.

La cepa *Lactobacillus acidophilus* fue proporcionada por el cepario del Laboratorio Microbiológico y Bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos, donde fue llevada a cabo esta investigación.

Los microorganismos fueron puestos en contacto directo con infusiones de Apazote en concentraciones de 10, 5 y 0.5 % peso/volumen, y posteriormente se evaluó la cantidad de unidades formadoras de colonias que crece en medio sólido, comparándola con la cantidad promedio de colonias que se produce en una situación similar sin contacto con infusión de Apazote.

El efecto inhibitorio de la infusión en las tres concentraciones evaluadas resultó positivo sobre las dos cepas en estudio; alcanzándose el mayor índice inhibitorio al utilizar la infusión pura y en concentración de 5% peso/volumen.

Los resultados obtenidos son alentadores, aunque es necesario profundizar en varios aspectos del tema en próximas investigaciones para poder avalar la utilización de este recurso en beneficio de la población guatemalteca.

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 sobre la superficie dental y los tejidos de soporte (5, 7, 17, 20, 21, 27 30)

La utilización del Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), como parte de la medicina popular se ha venido empleando desde hace mucho tiempo con bastante éxito para la prevención y tratamiento de varias enfermedades de la cavidad oral. Dependiendo de las diferentes regiones del país donde se encuentre pueden utilizarse diversidad de plantas como medidas curativas, lo que ha propiciado la realización de estudios para darle validez científica a estos recursos.

La presente investigación pretende demostrar de una forma clara y sencilla las posibilidades y alternativas que se tiene en el uso de infusiones del Apazote (*Chenopodium ambrosioides* 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 del Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), 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 de San Carlos, pretendiendo continuar 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 afectado por varios tipos de enfermedades bucales, dentro de las cuales la caries dental y la enfermedad periodontal son las de mayor prevalencia (17, 20, 23).

La caries dental y la enfermedad periodontal están determinadas por varios factores, siendo uno de ellos y tal vez el más importante, el desconocimiento que se tiene sobre una higiene oral adecuada ocasionando la deficiente eliminación de la placa bacteriana, la cual 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, basadas en vegetales que se han utilizado en forma empírica para la prevención y tratamiento curativo de las enfermedades bucales. (1,8,18,24,25,32)

La odontología actual ofrece una serie de tratamientos que proporcionan la rehabilitación bucal ante la presencia de enfermedades bucales, sin embargo, no están al alcance de la mayor parte de la población guatemalteca cuya situación socioeconómica es sumamente precaria. Debido a esta situación se busca alternativas que solucionen los problemas de salud bucal a menor costo.

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 del Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, siendo estos los principales patógenos, relacionados con las enfermedades bucales de mayor prevalencia, la caries dental y la enfermedad periodontal.

JUSTIFICACIONES

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

2. 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 éstos se obtienen del extranjero, los tratamientos dentales quedan fuera del alcance económico de la población. 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 tratamientos de enfermedades bucales, que sean efectivas, fáciles de obtener, de bajo costo, accesibles a la mayoría de la población guatemalteca y culturalmente aceptadas.

3. 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 existen en nuestro país, de las afecciones bucales más generalizadas como lo son las caries 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.

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 Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, in vitro.

ESPECÍFICOS

1. Determinar si el Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), posee efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los agentes cariogénicos *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.
2. Determinar si el efecto de la infusión de Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), varía al utilizar diferentes concentraciones de la misma.
3. Determinar la concentración mínima ideal de Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), para obtener el efecto inhibitorio deseado.
4. Aumentar la información científica sobre los usos populares de especies vegetales, que contribuyan a la prevención o curación de enfermedades que afectan la cavidad bucal.
5. Efectuar un estudio de los recursos que proveen las plantas con propiedades curativas, por medio del cual se pueda beneficiar a la población de escasos recursos, brindando una alternativa de tratamiento a menor costo.

HIPÓTESIS

La infusión de Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), inhibe el crecimiento de microorganismos cariogénicos *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, in vitro.

VARIABLES

Independiente: Estudio de infusión de Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Dependiente: Bacterias *S. mutans* y *L. acidophilus*.

Indicadores: Crecimiento: Se observa crecimiento por el número de colonias en medio sólido, siendo Agar Rogosa para *L. acidophilus* y Agar Mitis Salivarius para *S. mutans*.

Infusión de Apazote (*Chenopodium ambrosioides* L.) Acción de extras de las sustancias orgánicas generalmente vegetales, las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente.

Producto líquido así obtenido.

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.

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.

(5, 7, 16)

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 y 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. (16, 21).

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

La presencia de placa bacteriana no presenta, en forma obligada la condena 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 muy rápido, ácidos láctico, fórmico y otros) y aciduricidad (capacidad para sobrevivir en un medio con pH bajo). (29)

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 hiperprotéica y baja en sacarosa, discrimina en forma selectiva contra el crecimiento de microorganismos odontolíticos en especial cuando es frecuente la ingestión de alimentos, dentro de la placa, en tanto la dieta hipoprotéica y alta en sacarosa predispone al crecimiento de los microorganismos odontolíticos, en especial cuando la ingesta de alimentos es frecuente. (22).

COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LA PLACA

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

MICROBIOTA SUPRAGINGIVAL

Contiene principalmente, anaerobios, facultativos grampositivos. *S. sanguis* predomina y *A. viscosus* se encuentra constantemente. Otras especies grampositivas que regularmente se detecta incluyen a *S. mitis* *S. mutans* (sumamente localizado), *A. naeslundii*, *A. israelii*, *Rothia dentocariosa*, *Peptostreptococcus* especies, *Staphylococcus epidermidis*. Las especies gramnegativas encontradas incluyen *Veillonella alcalescens*, *V. parvula*, *Fusobacteria*, y *Bacteriodes 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 de fusobacterias como de filamentos, y aproximadamente 2% de espiroquetas. Los *Actinomyces* y el *Streptococcus* sp., son los componentes principales de la flora cultivable. *Bacterioides melaninogenicus* se aísla más frecuentemente del surco gingival que de cualquier otra parte de la boca, representa aproximadamente 5% de los aislados. Las espiroquetas pertenecientes a los géneros *Treponema* y *Barrelia* son nativas del área del surco gingival, no obstante que se observe con frecuencia en micrografías electrónicas de la placa gingival, sólo ocasionalmente se les ha cultivado. Estos microorganismos son altamente sensible al oxígeno y crece únicamente en condiciones de un bajo potencial de oxidorreducción.

Las espiroquetas rara vez encuentran en los niños que tiene encías saludables, se aumentan con el paso de los años. Los pacientes jóvenes que sufren de periodontitis de progreso rápido, tiene flora subgingival significativamente diferente. Los bastoncillos gramnegativos representan entre 40 y 78% 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: Vibrios anaerobios, Coprocaryophaga (bacteroides ochraceus), Bastoncillos anaerobios delgados, organismos parecidos a bacteroides, y organismos de superficies ectópicas.

La microbiota de periodontitis avanzada se caracteriza por la presencia de grandes cantidades de microorganismos acarolíticos, entre los que se incluye Fusobacterium nucleatum, Bacteroides melaninogénicus, Eikenella rodens, Bacteroides capillosus y Vibriones anaeróbicos. (3, 7, 16, 22,28).

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. (33)

La etiología de la Enfermedad Periodontal es multifactorial. (3, 5, 7, 16, 23,30).

Las sustancias bacterianas de la placa han sido consideradas primarias en la producción de Enfermedad Periodontal. (3, 5, 7, 16, 23, 30).

No se amplía el tema de enfermedad periodontal por no tener relevancia con ese 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. (5, 21, 27,30).

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. (21).

TEORÍA SOBRE LA ETIOLOGÍA DE LAS 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 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 dentinas 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. (5, 21).

2. TEORÍA PROTEOLÍTICA

Describe la caries como un proceso proteolítico que incluye la despolarización y licuefacción del esmalte (su matriz orgánica). Por 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. (21).

3. TEORÍA PROTEOLISIS-QUELACIÓN

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, tiene propiedades quelantes y, por lo tanto, disuelven los minerales del esmalte. (21).

MEDIOS PARA PREVENIR LA CARIES

La caries dental es una enfermedad muy compleja que 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 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. (21).

HIGIENE BUCAL:

El método más difundido y socialmente aceptado para la higiene bucal sobre todo en el mundo occidental. (13).

Existen variedad de técnicas tipos de cepillo y pastas dentales, muchas de las cuales cuentan con una forma de fluoruro como medida terapéutica.

El punto más importante acerca del cepillado de dientes independientemente de la técnica utilizada, tipo de cepillo o pasta dental, consiste en la eficiente y real eliminación de la placa bacteriana o erosionar los tejidos duros. (13).

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, (13).

MÉTODOS QUÍMICOS PARA COMBATIR PLACA BACTERIANA

- **Antibióticos.**
- **Clorohexidina.**
- **Enzimas.**

AUMENTO DE LA RESISTENCIA DEL DIENTE

Uso del ion flúor: Se considera que la mayor parte del efecto del ion flúor 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 varias enzimas incluyendo algunas que intervienen en la formación de ácido 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 superficies oclusales y exactamente en los hoyos y fisuras de estas superficies en los molares y premolares; que son las áreas 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 polimerización es necesario añadir el paso de fotopolimerización. (9).

MODIFICACIÓN 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 conveniente en algunos pacientes y ciertamente reducir la caries, tal como se ha observado 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. (21).

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 manuales y cerdas.
- Dentífricos.
- Seda dental.
- Limpiadores interdientales.
- Sustancias reveladoras de placa. (6, 7).

STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS

Streptococcus:

Célula esféricas y 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 superficies, 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 las proteínas, para producir gases y malos olores. Se encuentran regularmente en la boca y el intestino de hombres. (4, 14, 28,33,34).

El Streptococcus mide de 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 sanguíneo, 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 éste para lisar los glóbulos rojos.

Los Streptococcus suelen desarrollarse a un mejor pH entre 7.4 y 7.6. Aunque el desarrollo ocurre entre 15°C y 40°C, 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° suelen hacerse visibles, en dieciocho o veinticuatro horas, pequeñas colonias delicadas, grisáceas y opalescentes, con bordes lisos o muy ligeramente rugosos y sobre la superficie del medio tiene el aspecto de pequeñas gotitas de líquido.

En caldo alcalino a 37°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 lácteo inhibe el desarrollo ulterior y los organismos pueden morir al menos que se traspasen pronto. (32).

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. (2, 4, 5, 14, 22, 27,30).

Ha sido aislado en poblaciones de diversos orígenes étnicos y socioeconómicos. 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 le considera como el principal agente etiológico en la caries dental humana.

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

Se considera que esta enzima tiene importancia especial en el 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. (21, 27).

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 reminiscente característica finamente granular de vidrio escarchado. (5).

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 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. (5).

La proporción de Streptococcus 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. (5, 21).

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), Baumgarther (1910, 1913), Nierdergesass (1915) y Herici y Hartzell (1919) postularon que el Streptococcus era importante en la caries dental. Dichos postulados se basaron principalmente en la abundancia del Streptococcus oral, su presencia en la caries dentinal profunda, y su consistencia como un agente casual de pulpitis acompañado a la caries dentinal profunda sin exposición de la pulpa. (5)

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 dorso de la lengua, como a cuarta parte de las cuentas viables de las placas dentales y de surcos gingivales. (5).

Se ha 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 niños así como de adultos. Los Streptococcus han sido aislados más frecuentemente de placa precariosa, transicional y cariada 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 el invasor de los dientes cariados, siendo su ruta de invasión a lo largo o entre los túbulos dentinales. (5).

Otra característica de los Streptococcus orales relacionada con su cariogenicidad, en su rango de crecimiento y producción de ácidos, observándose que exceden a los de cualquier microorganismo oral, incluyendo a los Lactobacillus, los cuales alcanzan sólo alrededor de 1/2,000 del total de la flora oral. La mayoría de los Streptococcus orales incluyendo a Streptococcus mutans, crecen rápidamente y producen su acidez terminal (pH alrededor 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 oral. (5).

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 su 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 sus ácidos cariogénicos. (5).

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 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*. (5).

LACTOBACILLUS

El género *Lactobacillus*, constituye un componente importante de la flora humana natural; son bacilos grampositivos no esporulados, clasificados en la familia *Lactobacillaceae*, generalmente inmóviles, microaerófilos y catalasa negativos. Forman ácidos lácteos como principal producto de fermentación de la glucosa. (2, 14).

Habitan en boca, tracto gastrointestinal y vagina de humanos. Varían en su forma desde bastoncillos cortos y rollizos aislados o dispuestos en cadenas o palizada, hasta los bastoncillos largos y delgados que se presentan aislados o en cadenas. (2, 5).

Tienden a hacerse grampositivos en los cultivos más antiguos, algunas especies producen un pigmento anaranjado, rojizo o de color ladrillo. Tiene necesidades nutritivas complejas. 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 45°C). Son acidúricos con un pH óptimo de 5.5. a 5.8. (5, 14).

En la superficie del 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 *Lactobacillus* orales se facilita enormemente mediante los 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, no reducen el nitrato y son catalasa negativos. La fermentación de los Carbohidratos por los *Lactobacillus* es variable con la especie aunque generalmente es bastante activa.

En realidad casi desde la época en que los *Lactobacillus* se descubrieron por primera vez en la cavidad oral hasta hace poco, ha existido la tendencia a 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 admitido que la diferenciación 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 causantes de la caries dental. Parece que se han establecido correlaciones entre el estado de caries activa y la cantidad de *Lactobacillus* en la saliva. (5, 14).

Se han comprobado que en un medio de agar-suero en condiciones anaeróbicas y en atmósferas de CO estimula el crecimiento y desarrollo de las cepas de la boca.

Lactobacillus acidophilus

Pertenecen a la clasificación de Lactobacillus.

Homofermentativos microaerófilos.

Lactobacillus acidophilus

Fue aislado por primera vez por Moro en el año 1900 a partir de 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 puede llegar a ser predominante cuando se tiene una dieta láctea, son bastante gruesos y longitud variable, se disponen aislados a pares ligeramente flexionados en la unión y en cadenas largas. Las cadenas largas tiene formas filamentosas, y las formas en maza 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 aplanada traslúcida 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 llegan a coagular la leche en 48 horas. (5).

RELACIÓN DE LOS LACTOBACILLUS CON CARIES

Cuando O.B. Miller formuló la teoría parasitoquímica de la caries dental hacia 1800, llegó a creer que cualquiera de la bacterias orales acidogénicas 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. (5).

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 encontrará 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 la lesiones de caries.
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 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 proceso de la caries. Si están presentes, deben comprobarse que no pueden producir una lesión cariosa. (5).

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 Gles (1915), y Howe y Hatch (1917) sobre la flora oral indica su naturaleza su función en productora de ácidos, licuefactores, 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 Hatch fueron los primeros en postular que los Lactobacillus pudieran intervenir en la fase descalcificante de la caries dental. (5)

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-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 en los ácidos que producen. También producen lesiones semejantes a la de caries en dientes esterilizados mediante su exposición a los Lactobacillus en caldos de cultivo. (5).

Numerosas investigaciones en *Lactobacillus* de la saliva revelaron que: (5).

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 presente en muy pequeñas cantidades.
2. Los *Lactobacillus* no pueden implantarse en la boca de animales o humanos que se encuentran relativamente libre 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 de caries.
4. El incremento de los *Lactobacillus* de la saliva precede a la aparición de las lesiones visibles de las caries por 3 o 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 la 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, incrementan 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.

Por lo que a los *Lactobacillus* concierne, alcanzar 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 la caries, aumentando en respuesta a factores dietéticos tales como los carbohidratos refinados cariogénicos y disminuyendo en respuesta a factores tales como la fluoración que evita la caries dental. (5).

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. (5).

Sus fuertes características acidogénicas y acidúricas los hace capaces de producir ácidos cariogénicos cuando otros son incapaces de hacerlos y sobrevivir. Aunque los *Lactobacillus* por sí solos son incapaces de localizar y establecer en una placa dental de una superficie lisa en 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. (5)

INTRODUCCIÓN A LA MEDICINA POPULAR

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 padecimientos de las personas que la han utilizado. (11).

Una rama de la medicina popular se relaciona con las enfermedades y padecimientos de la cavidad bucal. A ésta se le ha llamado "Dentistería u Odontología Popular". (11). A este respecto, se han efectuado 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 las plantas o extractos de las mismas, hasta procedimientos complejos y radicales. (11)

Todo este 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, dolor de muelas y mal olor en la boca. (11).

APAZOTE

Nombre Común: Apazote

Nombre científico: *Chenopodium ambrosoides* L.

Familia: Chenopodiaceae.

Nombres Populares: Apazote, Achich, Ambrosia, Epazote, Epasote, Ipasote, Pasote, Té de México, Quenopodio, American Wormseed, Amush, (1, 24).

Descripción Botánica:

Hierba de fuerte olor fétido, ramosa, arbustífera, tallo acanalado, rojizo, 60 a 150 cm de alto. Hojas alternas, casi sin tallo de 2-9 cm de largo, oblogolanceoladas, superiores por glóbulos de aceite. Flores pequeñas, amarillas, en espigas largas, delgadas, axiales y terminales. Semillas pequeñas, lentiformes y brillantes y contenidas en un cáliz que huele al secarse, estambres de 3 a 5 con fruto pequeño. (1, 8, 18, 24, 25,32).

Distribución de la planta:

Nativa y común de la América Tropical. Diseminada en climas ligero templados del mundo, así como subtropical y tropical hasta 2,700 m.s.n.m. En Guatemala se ha descrito en: Petén, Alta Verapaz, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Huehuetenango, Guatemala, Sacatepéquez, Quetzaltenango, Quiché, Chimaltenango, Totonicapán y San Marcos.

Usos Orales:

La decocción de las hojas se utiliza para dolor de muelas. (25,32).

Para las encías inflamadas y sangrantes según encuesta realizada entre la población.

Usos medicinales:

Antidearréico, antirreumático, contra el asma, emenagogo, para que se combatan los parásitos intestinales en especial el *Ascaris*, dolencias del hígado y dolores menstruales; en Guatemala y El Salvador existe una preparación vermífuga de aceite de semillas de Apazote con aceite de semillas de castor que se venden bajo el nombre de tiro seguro. En Norte y Sur América, las indígenas hacen baños con decocción de la planta junto con *Lipidium* y es tomada la decocción como un tónico para el estómago y también aplicado en quemaduras, en Trinidad la planta es usada para conseguir el aborto y para aliviar el dolor post-parto. los supositorios son compuestos pulverizados de tierra, hierbabuena apendicitis. Las hojas molidas son extensamente aplicadas en cataplasmas en golpes, piquetes de insectos así como úlceras. En México la raíz es usada para detener el sangrado rectal y es reportada como vermífugo antimicrobiano y antihelmíntico. (1,8,18,24,25,32).

El aceite es antibacteriano, antihelmíntico, antimalárico, carcinógeno, depresor cardíaco, hipotensor, relajante muscular y estimulante respiratorio.

Estudios realizados en Guatemala demuestran que la decocción de la planta tiene ligera actividad diurética en un modelo experimental en ratas. (1, 8, 18, 25).

Otros usos:

Es muy usado para condimentar varios alimentos, entre los cuales están caldo de huevos, frijoles y jutes. (8)

EFFECTOS TOXICOS

El aceite de Apazote es sumamente tóxico, los animales lo evitan y existen reportes de muerte de humanos al utilizar grandes cantidades.(1,8).

Acción Farmacológica:

La planta contiene Saponinas, Aceites esenciales, taninos, sulfato y fosfato de magnesio, saponagina de quenopodio y ureasa.

En 100 gramos de la planta se encuentra: calcio (342 mg), hierro (8.6 mg) caroteno (3.5 mg), riboflavina (0.29 mg) y ácido ascórbico (99 mg). (8, 24, , 32).

Aceites Esenciales:

Son componentes vegetales de olor intenso, salvo excepciones agradables.

Todas las plantas que los contienen tienen las siguientes propiedades curativas en común:

- Anti-inflamatorios en las irritaciones cutáneas
- Expectorantes
- Diuréticos
- Combaten agentes patógenos, bacterias y posiblemente virus(24).

Saponinas:

Glucósidos vegetales que junto con el agua dan espuma permanente, emulsionan el aceite y el agua y poseen un efecto emolítico que explica el efecto tóxico de algunas plantas que lo contienen. Muchas plantas que lo contienen poseen también efecto diurético y se las utiliza con frecuencia en curas de depuración de la sangre. Muchas de estas especies curan los edemas y

actúan como anti-inflamatorios. Las Saponinas influyen en las plantas medicinales de un modo decisivo sobre la resorción de otros principios vegetales activos y es muy frecuente que pequeñas cantidades produzcan grandes resultados.

Es necesario mencionar que la planta en fresco o seca puede tener efecto tóxico por lo que las dosis deben ser cuidadosamente controladas.(24)

Taninos:

Sustancia cuya composición química es variable. Tiene un carácter común::

Capacidad para coagular albúminas, metales pesados, y alcaloides, su interés medicinal radica principalmente en su carácter astringente. (24).

Partes utilizables:

Se usan hojas y semillas en infusión, se reporta también el uso de las flores. (1, 8, 18, 24, 25, 30, 32)

RECURSOS

1. RECURSOS HUMANOS:

Estudiante responsable de la investigación:

Br. Rosa María Solares Solares.

Asesores del proyecto:

Dr. Alfonso De León Godoy.

Dr. Francisco Valdéz Marckwordt.

Dr. Raúl Ralón Carranza

2. RECURSOS INSTITUCIONALES:

Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3. RECURSOS MATERIALES:

Material botánico seco y pulverizado.

Medios de cultivo utilizados:

Para *S. mutans*: Todd Hewith (líquido)

Agar Mitis Salivarius (medio sólido).

Medios utilizados para *L. acidophilus*: Caldo Nutritivo Reformulado (líquido)

Agar Rogosa (sólido)

Caldo Nutritivo Reformulado (medio líquido)

Agar Rogosa (medio sólido).

4. EQUIPO:

Cristaleria

Balanza semi-analítica

Agitador Vortex

Estufa

Autoclave

Refrigerador

Contador de Colonias

Microscopio

Campana

Incubadora

Papel filtro

METODOS

El estudio se realizó en cinco etapas:

1. Aislamiento de los agentes cariogénicos (*Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*).
2. Dilución de los cultivos de *S.mutans* y *L.acidophilus*.
3. Preparación de la infusión de Apazote.
4. Fase Experimental.
5. Comprobación de trabajo.

1. AISLAMIENTO DE AGENTES CARIOGENICOS.

AISLAMIENTO DE STREPTOCOCCUS MUTANS:

Para este propósito se tomaron muestras de placa bacteriana de áreas de lesiones cariosas supragingivales a siete niños escolares con edades comprendidas en el rango de 9 a 11 años.

Las muestras de placa bacteriana fueron colocadas en viales que contenían agua desmineralizada estéril y perlas de vidrio; los viales fueron colocados en el agitador vortex durante un minuto.

Posterior a la agitación ,muestra del contenido de los viales fue sembrada en medio sólido, Agar Mitis Salivarius,el cual es un medio selectivo para S.mutans, S.salivarius y S.sanguis. Las cajas sembradas fueron colocadas en la incubadora durante 48 hrs. en condiciones de microaerofilia.

Transcurridas las 48 hrs. en la incubadora se verificó que existía crecimiento de colonias en las cajas y se procedió a caracterizar microbiológicamente a éstas, aplicando los criterios que corresponden a S. mutans:

Características macroscópicas de S. mutans:

Colonias altas,convexas de 0.5 a 1mm de diámetro,color azul,de bordes ondulados y superficie finamente granular, semejante a vidrio esmerilado con una gota de exudado en su superficie.

Algunas de las colonias que presentaban las características antes mencionadas fueron transferidas a medio líquido (Todd Hewith). La turbidez en los tubos al cabo de 24 hrs. de

microaerofilia en la incubadora, fue manifestación de crecimiento en medio líquido. Se realizaron entonces tinciones de gram, donde se observaron las características microscópicas que corresponden a *S. mutans*:

Cocos inmóviles de color violeta, formadores de cadenas largas y cortas.

Posteriormente se aplicaron pruebas de fermentación de azúcares, Manitol Sorbitol y Sacarosa, las cuales resultaron positivas en todos los casos.

En la prueba de fermentación de Sacarosa se observó la formación de polisacáridos extracelulares.

La prueba de fermentación de Manitol constituyó el tamizaje final del aislamiento, ya que este azúcar es fermentado exclusivamente por el *Streptococcus mutans*.

AISLAMIENTO DE LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS:

Este procedimiento no fue efectuado por la investigadora ya que este microorganismo fue proporcionado por el cepario del Laboratorio Microbiológico y Bioquímico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos.

Los criterios aplicados en la caracterización de la cepa son:

Macroscopicamente en medio sólido:

Colonias invariablemente lisas, en forma de cúpulas con textura semejante a la cáscara de naranja.

Microscópicamente :

Bastones inmóviles que se dividen en un sólo plano sin ramificarse,color violeta,formando colonias cortas.

2. DILUCIONES DE LOS CULTIVOS DE STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS.

La siembra de cultivo madre puro en medio sólido produce un número de UFC'S (Unidades formadoras de colonias) difícil de establecer.

Diluir el cultivo madre en medio líquido permite reducir el número de UFC'S por unidad de volumen , de manera que al sembrar en medio sólido se obtenga una cantidad de colonias que sea posible de contar.

Con este propósito se realizaron diluciones de los cultivos de *S. mutans* y *L. acidophilus*, hasta encontrar una que proporcionara resultados adecuados para el conteo de colonias,este número de colonias obtenido será utilizado posteriormente en la fase experimental del estudio como parámetro comparativo de crecimiento para determinar la existencia de inhibición.

Se realizaron diluciones para cada una de las cepas del estudio y se sembró en medio sólido muestras de ellas , hasta encontrar la que produjera un número adecuado de colonias.

Primera dilución: De un cultivo madre de 24 horas de crecimiento,fue tomado 0.1 ml. Esta cantidad de cultivo madre fue trasladada a otro tubo de ensayo que contenía 0.9 ml. de medio líquido adecuado para la cepa ; esto produjo una dilución de 1/10 partes, de la cual se sembraron dos cajas en el correspondiente medio sólido y se incubaron durante 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Segunda dilución: Del tubo conteniendo la primera dilución se extrajo 0.1 ml. que fue colocado en otro tubo con 0.9 ml de medio líquido ; para producir una dilución de 1/100 partes .

De esta dilución fueron sembradas dos cajas de medio sólido las cuales fueron colocadas en la incubadora durante 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Tercera dilución: De nuevo se repitió el proceso anterior en este caso utilizando 0.1 ml. de la segunda dilución en 0.9 ml. de medio líquido, lo que produjo una dilución de 1/1000 partes; de la misma manera que para los casos anteriores, se sembraron dos cajas de medio de cultivo que se incubaron durante 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Al realizar las diluciones se estandarizó un tiempo de 2 minutos de contacto de los microorganismos con el medio de cultivo; para luego ser sembrado en medio sólido, en este tiempo de contacto se incluye un minuto que corresponde a la agitación y otro minuto en el procedimiento de siembra.

La cantidad de cultivo sembrada en cada caja fue de una gota.

Durante el proceso se realizaron siembras en medio sólido de los cultivos madres puros, las cuales actuaron como cajas control.

El procedimiento fue realizado en duplicado para verificar que los resultados fueran constantes.

Las diluciones seleccionadas para tomar como parámetro comparativo del estudio fueron:

Para *S. mutans*: Tercera dilución, con un promedio de crecimiento de 568 colonias por caja.

Para *L. acidophilus*: Segunda dilución, con un promedio de crecimiento de 960 colonias por caja.

3. PREPARACION DE LA INFUSION DE APAZOTE.

Previo a la preparación de la infusión, fue recolectada cierta cantidad de la planta, la cual fue llevada al Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se determinó que se trataba de la especie en estudio.

Posteriormente la planta fue puesta a secar y pulverizada; se utilizaron sus hojas y semillas.

Las infusiones se realizaron en porcentajes de 10, 5 y 0.5 % peso/volumen, para lo que se utilizó cantidades de 10, 5 y 0.5 gramos del material botánico pulverizado, colocados en una cantidad de 100 ml. de agua destilada respectivamente, luego fue puesto a cocer durante 15 minutos. Las infusiones obtenidas fueron filtradas para eliminar partículas grandes, y el volumen perdido durante la ebullición fue repuesto con agua destilada, para poder mantener la concentración estipulada.

Posteriormente las infusiones fueron esterilizadas en el autoclave, almacenadas en frascos color ámbar y guardadas en un lugar fresco y seco.

4. FASE EXPERIMENTAL

El resultado del contacto de los microorganismos con las infusiones de Apazote al 10, 5, y 0.5 % fue evaluado por medio de dos procedimientos diferentes que se denominaron I y II, cada procedimiento con dos series cada uno que fueron "A" (Para *S. mutans*), y serie "B" (Para *L. acidophilus*).

PROCEDIMIENTO I

Cada uno de los tubos de ensayo contiene:
Medio de cultivo + infusión + inóculo.

SERIE A (S. mutans)

TUBO 1: Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95ml. de infusión de Apazote 10% + 0.1 ml. de inóculo de dilución de cultivo madre 1/10 - 24 hrs. microaerofilia - observación.

TUBO 2 : Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95 ml. de infusión de Apazote 5% +0.1 ml. de inóculo de cultivo madre 1/10 - 24 hrs. microaerofilia-observación.

TUBO 3 : Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95 ml. infusión de Apazote 0.5%+0.1ml. de inóculo de cultivo madre 1/10.- 24 hrs. microaerofilia - observación.

TUBO CONTROL: 9.9 ml. medio de cultivo + 0.1 ml. de inóculo de dilución de cultivo madre 1/10 + 24 hrs. microaerofilia - observación.

Medio sólido de los tubos anteriores se procedió a:

Tubo 1 - Caja de Petri - 48 hrs. microaerofilia - observación.

Tubo 2 - Caja de Petri - 48 hrs. microaerofilia - observación.

Tubo 3 - Caja de Petri - 48 hrs. microaerofilia - observación.

SERIE B (*L. acidophilus*)

TUBO 1: Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95 ml. de infusión de Apazote 10% + 0.1 ml. de cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia - observación.

TUBO 2: Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95 ml. de infusión de Apazote 5% + 0.1 ml. de cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia - observación.

TUBO 3 : Medio de cultivo 4.95 ml. + 4.95 ml. de infusión de Apazote 0.5% + 0.1 ml. cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia - observación.

Tubo Control: 9.9 ml. de medio de cultivo + 0.1 ml cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia - observación.

Medio sólido de los cultivos anteriores se procedió a :

Tubos inoculados + Caja de Petri + 48 hrs. microaerofilia - observación.

PROCEDIMIENTO II

Evalúa el contacto directo de los microorganismos con la infusión de Apazote en ausencia de medio de cultivo, para evitar la interacción o posible alteración de la infusión al entrar en contacto con el medio de cultivo.

SERIE A (S. mutans)

TUBO 1 : 9.9 ml. de infusión de Apazote 10% + 0.1 ml. dilución de cultivo madre 1/10 + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO 2 : 9.9 ml. de infusión de Apazote 5% + 0.1 ml dilución de cultivo madre 1/10 + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO 3 : 9.9 ml. de infusión de Apazote 0.5 % + 0.1 ml dilución de cultivo madre 1/10 + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO CONTROL: 9.9 ml. de medio de cultivo + 0.1 ml. de inóculo de cultivo madre 1/10 + 24 hrs. microaerofilia + observación.

Medio sólido de los tubos anteriores se procedió a :

Tubos inoculados + Caja de Petri + 48 hrs. microaerofilia + observación.

SERIE B (*L. acidophilus*)

TUBO 1 : 9.9 ml. de infusión de Apazote 10% + 0.1 ml. de cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO 2 : 9.9 ml. de infusión de Apazote 5% + 0.1 ml. de cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO 3: 9.9ml. de infusión de Apazote 0.5% + 0.1 ml. de cultivo madre de 24 hrs. + 24 hrs. microaerofilia + observación.

TUBO CONTROL: 9.9 ml de medio de cultivo + 0.1 ml de inóculo de cultivo madre. + 24 hrs. de microaerofilia + observación.

Medio sólido de los tubos anteriores se procedió a :

Tubos inoculados - Cajas de Petri- 48 hrs. microaerofilia + observación.

En todos los procedimientos y en ambas series (A y B) , se trabajó con un tiempo de dos minutos, incluyendo en este tiempo un minuto de agitación de los tubos en el agitador vortex.

COMPROBACION DE TRABAJO

El número de UFC'S (Unidades formadoras de colonias) producidas por la siembra de cada una de las concentraciones de las infusiones de Apazote fueron comparadas con el número promedio de UFC'S que produjeron las diluciones de cultivos madres en medio

líquido , anteriormente seleccionadas como parámetro comparativo de crecimiento para cada una de las cepas en estudio.

En el caso de *S. mutans* se comparó con una dilución 1/1000 que en promedio produce un número de 568 colonias.

Para *L. acidophilus* la dilución seleccionada 1/100 establece un resultado de 960 colonias en promedio.

Según la hipótesis se esperaba que las cajas con las siembras de cada una de las concentraciones de la infusión creciera un número menor de colonias, que las que se producían en las siembras de las diluciones con que se compararon.

PRESENTACION DE RESULTADOS

PRESENTACION DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente estudio

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

CUADRO No.1

RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE TAMIZAJE DURANTE EL PROCEDIMIENTO DE AISLAMIENTO DE *Streptococcus mutans*.

Muestras de <i>S. mutans</i>	Crecimiento en medio selectivo	Coloración en Tinción de gram	Formación de polisacárido extracelular en sacarosa 2%	Fermento en azúcar Sorbitol.	Fermento en azúcar Manitol.
muestra 1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
muestra 2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
muestra 3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

EXPLICACION CUADRO No. 1

El crecimiento positivo de *S. mutans* se evidencia al observar unidades formadoras de colonias (ufc's) con sus características específicas. En medio líquido el crecimiento positivo se evidencia como turbidez generalizada 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*.

Al realizar tinciones de gram a partir de muestras de el cultivo de *S. mutans* aislado, se observó al microscopio: Cocos inmóviles, formando cadenas ramificadas, largas y cortas que retienen la tinción positiva (violeta) de la tinción de gram. Las características anteriores corresponden a las descritas en la literatura para la cepa de *S. mutans*.

El resultado positivo de la formación de polisacáridos extracelulares se evidenció con la formación de masas de aspecto gelatinoso y blanquecino adheridas a las paredes del tubo y suspendidas en el medio de cultivo.

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 de dos azúcares, de éstos, Manitol es fermentado exclusivamente por el *Streptococcus mutans*, por lo que constituye una prueba bastante específica para identificación de dicha 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 de *S. Mutans*.

CUADRO No. 2 y 3.

RESULTADOS OBTENIDOS AL REALIZAR DILUCIONES DE CULTIVO MADRE DE Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophilus

CUADRO No. 2
DILUCIONES PARA S. mutans

DILUCION	CAJA 1	CAJA 2	PROMEDIO
1a.DILUCION 1:10	Resultado no posi- ble de cuantificar.*	Resultado no posi-ble de cuantificar.*	Resultado no posi-ble de cuantificar.*
2a.DILUCION 1:100	Resultado no posi- ble de cuantificar.*	Resultado no posi- ble de cuantificar.*	Resultado no posi- ble de cuantificar.*
3a.DILUCION 1:1000	550	586	568

* En algunos casos no fue posible determinar el número de Unidades Formadoras de Colonias, debido a la alta densidad de crecimiento en medio sólido.

EXPLICACION DEL CUADRO No. 2

Se tomaron dos muestras de cada dilución y se sembró en medio sólido ; los resultados obtenidos de las cajas denominadas uno y dos fueron promediados, tomando como parámetro comparativo de crecimiento en este estudio para la cepa de S. mutans, la cantidad de 568 unidades formadoras de colonias (ufc's) .

CUADRO No.3

DILUCIONES PARA L. acidophilus

DILUCION	CAJA 1	CAJA 2	PROMEDIO
1a. DILUCION 1:10	Resultado no posi- ble de cuantificar.*	Resultado no posi- ble de cuantificar.*	Resultado no posi- ble de cuantificar.*
2a. DILUCION 1:100	1010	910	960

* En algunos casos no fue posible cuantificar el número de Unidades Formadoras de Colonias debido a la alta densidad de crecimiento en medio sólido.

Se tomaron dos muestras de cada dilución y se sembró en medio sólido, los resultados obtenidos de las cajas denominadas 1 y 2, fueron promediadas, tomando como parámetro comparativo de crecimiento en este estudio para la cepa de L. Acidophilus, la cantidad de 960 unidades formadoras de colonias (ufc's).

CUADRO No.4

RESULTADOS DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS EN MEDIO SOLIDO DURANTE LA REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO I ,EN LAS SERIES A (Streptococcus mutans) Y LAS SERIES B (Lactobacillus acidophillus). DETERMINACION DE INHIBICION Y SUS PORCENTAJES.

SERIE "A" S.mutans	Crecimien- to en me-dio sólido	No. de UFC'S control.	No. de UFC'S en el experi- mento.	Inhibición	% de Inhi- bición.
TUBO CONTROL		*	*	*	*
TUBO 1 Infusión 10%	Positivo	568	473	Positivo	16%
TUBO 2 Infusión 5%	Positivo	568	318	Positivo	44%
TUBO 3 Infusión 0..5%	Positivo	568	441	Positivo	22%
SERIE "B" L. acidophillus					
TUBO CONTROL	Positivo	*	*	*	*
TUBO 1 Infusión 10%	Positivo	960	800	Positivo	16%
TUBO 2 Infusión 5%	Positivo	960	716	Positivo	25%
TUBO 3 Infusión 0,5%	Positivo	960	844	Positivo	12%

*Estos procedimientos no fueron realizados en el tubo control, puesto que este se utilizó exclusivamente para verificar el crecimiento de la cepa en medio líquido.

EXPLICACION CUADRO No. 4

En todas las cajas se determinó existencia de unidades formadoras de colonias utilizando los criterios respectivos para la cepa *S. mutans* que se reportan en la revisión de literatura, estableciéndose si era positivo o negativo para cada muestra utilizada.

La cantidad de colonias que creció en cada caja, posterior al contacto de los microorganismos con las infusiones de Apazote en las diferentes concentraciones, se determinó realizando la cuantificación con el contador de colonias

La existencia de inhibición se determinó al comparar el crecimiento de colonias producto del procedimiento Y con la cantidad de colonias que se obtuvo como parámetro comparativo para cada cepa.

En el caso de *S. mutans* existió inhibición cuando el número de UFC'S que creció en cada caja sembrada con microorganismos en contacto con infusiones de Apazote era menos de 568 unidades formadoras de colonias.

Para *L. acidophilus* se estableció que existía inhibición cuando el número de UFC'S de las cajas del experimento produjo un número menor de 960 unidades formadoras de colonias.

El porcentaje de inhibición fue establecido tomando como cien por ciento el número de unidades formadoras de colonias control de cada cepa y determinando a qué porcentaje de esta cifra correspondía el número de colonias en que el crecimiento se había reducido.

CUADRO No.5

RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS EN MEDIO SOLIDO DURANTE LA REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO II ,EN LAS SERIES "A" (STREPTOCOCCUS. mutans) y SERIE "B" (L. acidophilus).

DETERMINACION DE INHIBICION Y SUS PORCENTAJES.

PROCEDIMIENTO II

INFUSION + INOCULO

S.mutans	Crecimiento en medio sólido.	No. de UFC'S control.	No. De UFC'S en el experimento	Inhibición.	% de Inhibición
TUBO CONTROL	Positivo	*	*	*	*
TUBO 1 Infusión 10%	Positivo	568	482	Positivo	15%
TUBO 2 Infusión 5%	Positivo	568	71	Positivo	87%
TUBO 3 Infusión 0.5%	Positivo	568	325	Positivo	42%
L. acidophilus					
TUBO CONTROL	Positivo	*	*	*	*
TUBO 1 Infusión 10%	Positivo	960	708	Positivo	26%
TUBO 2 Infusión 5%	Positivo	960	560	Positivo	41%
TUBO 3 Infusión 0.5%	Positivo	960	642	Positivo	33%

*Estos procedimientos no se realizaron en el tubo control, puesto que éste se utilizó exclusivamente para verificar el crecimiento de las cepas en medio líquido.

EXPLICACION CUADRO 5

En todas las cajas se determinó existencia de UFC'S utilizando criterios antes mencionados; estableciéndose si era positivo o negativo en cada caso.

La cantidad de colonias que creció en cada caja , posterior al contacto de los microorganismos con las infusiones de Apazote en las diferentes concentraciones, se determinó realizando la cuantificación con el contador de colonias.

La existencia de inhibición se determinó al comparar el crecimiento de colonias producto del procedimiento II, con la cantidad de colonias que se obtuvo como parámetro comparativo para cada cepa.

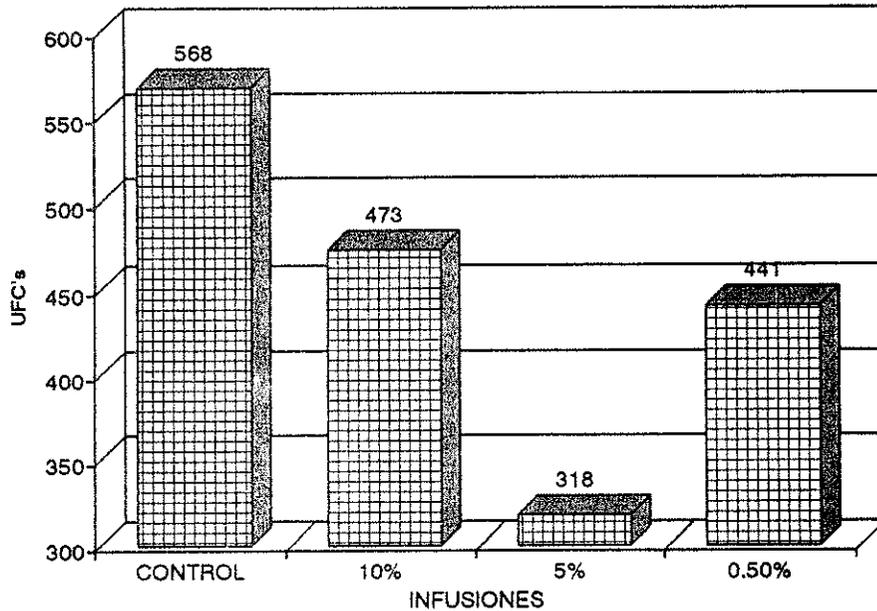
En el caso de *S. mutans* existió inhibición cuando el número de UFC'S que creció en una caja sembrada con microorganismos en contacto con infusiones, era menor de 568 unidades formadoras de colonias.

Para *L. acidophilus* se estableció que existía inhibición cuando el número de UFC'S de las cajas del experimento II produjo un número menor de 960 UFC'S control.

El porcentaje de inhibición fue establecido tomando como cien por ciento el No. de UFC's de control de las diluciones seleccionadas para cada cepa y determinando a qué porcentaje de esta cifra correspondía el número de colonias en que el crecimiento se había reducido.

GRAFICA 1

RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS DE S.mutans DURANTE EL PROCEDIMIENTO I (medio + infusión + inóculo). ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS. LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.



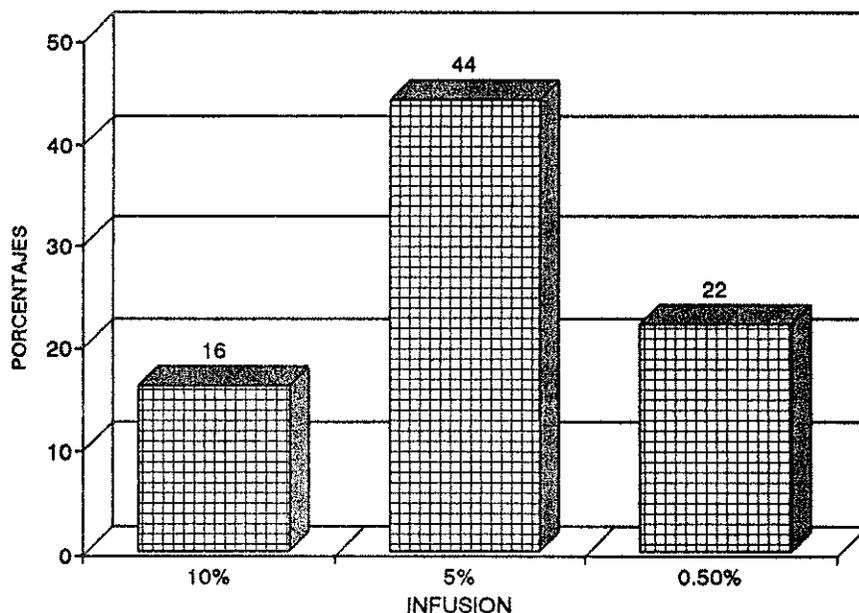
Fuente: Trabajo de campo realizado de junio a agosto de 1995.

Los datos observados en la gráfica reflejan el crecimiento de colonias encontrado para cada una de las infusiones y las obtenidas para el control que se determinaron como 568 UFC's, cuando la infusión de Apazote fue 10% el crecimiento de UFC's fue de 473, al 5% crecieron 318 UFC's y para la infusión .5% fue de 441 UFC's.¹

¹ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 2

PORCENTAJES DE INHIBICION DE COLONIAS DE S.mutans DURANTE EL PROCEDIMIENTO I (medio + infusión + inóculo). ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS. LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.



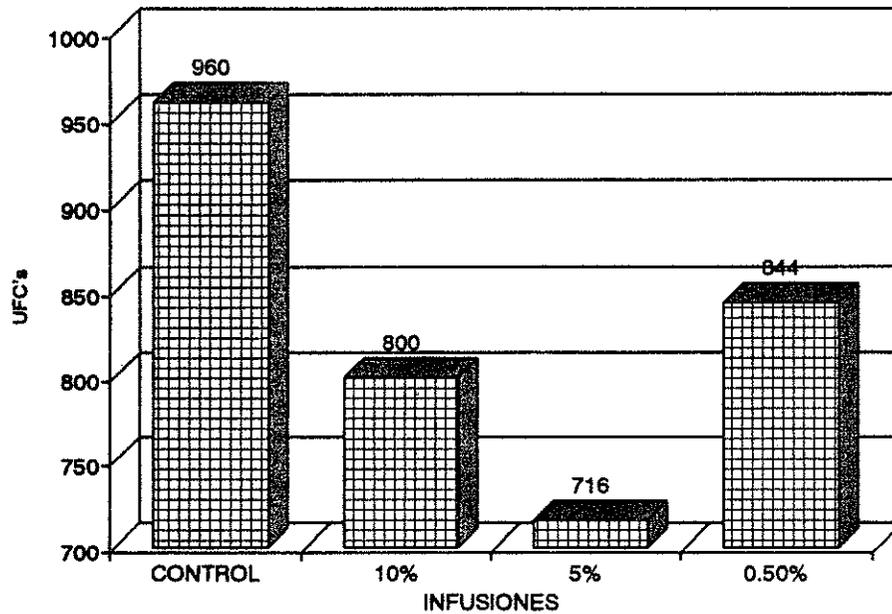
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

Durante el Procedimiento I (infusión+medio+inóculo), la infusión al 10% produjo un porcentaje de inhibición del 16%, la infusión al 5% fue la de mayor efectividad en este caso alcanzando un nivel de inhibición del 44%, por último la infusión al 0.5% produjo una inhibición del 22%, en todos los casos se consideró como 100% la cantidad de 568 UFC's, que fueron la cantidad control de este estudio para la cepa de S. mutans.²

² UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 3

**RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS DE L.acidophilus
DURANTE EL PROCEDIMIENTO I (medio + infusión + Inóculo).
ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS.
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.**



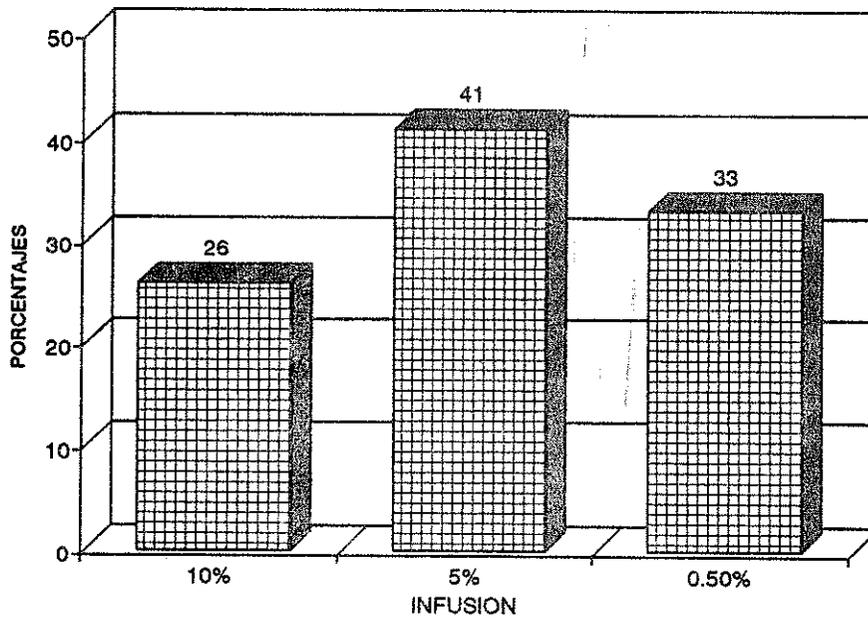
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

La cantidad de UFC's control de crecimiento para L. acidophilus determinada para este estudio fue 960. La cantidad de UFC's producidas por la infusión al 10% fue de 800 UFC's, en el caso de la infusión al 5% el crecimiento fue de 716 UFC's el menor en este caso y la infusión 0.5% produjo una cantidad de 844 UFC's.³

³ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 4

PORCENTAJES DE INHIBICION DE CRECIMIENTO DE COLONIAS DE *L. acidophilus* DURANTE EL PROCEDIMIENTO I (medio + infusión + inóculo) ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS. LABORATORIO MICROBIOLOGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.



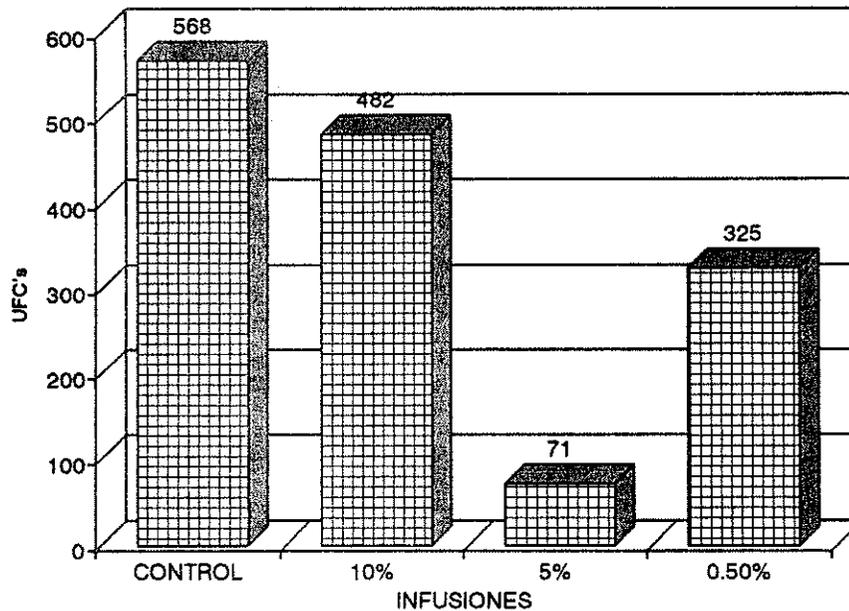
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

En el Procedimiento I, la infusión al 10% produjo una inhibición del 26%, la infusión al 5% inhibió el crecimiento en el 41% y la de 0.5% inhibió el crecimiento de colonias de *L. acidophilus* en el 33%, la inhibición se determinó tomando como 100% 960 UFC's parámetro control de crecimiento de esta cepa.⁴

⁴ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 5

RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS DE S. mutans DURANTE EL PROCEDIMIENTO II (medio + inóculo). ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS. LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.



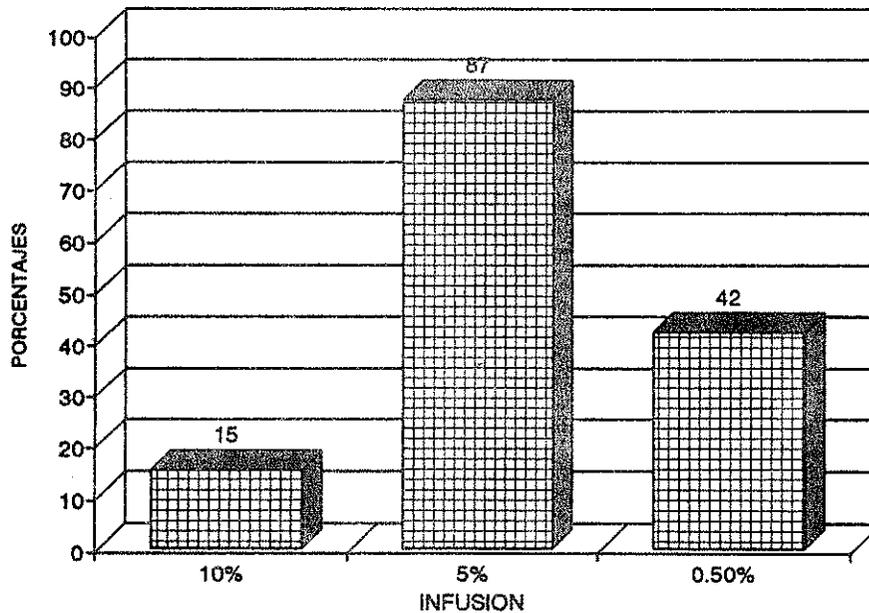
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

El número de UFC's control de crecimiento de S. mutans fue 568, la infusión al 10% produjo 482 UFC's, la infusión al 5% produjo 71 UFC's, la menor cantidad de crecimiento para esta cepa durante todo el estudio, la infusión 0.5% mostró un crecimiento de 325 UFC's.⁵

⁵ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 6

PORCENTAJES DE INHIBICION DE COLONIAS DE S. mutans DURANTE EL PROCEDIMIENTO II (medio + inóculo). ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE. LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.



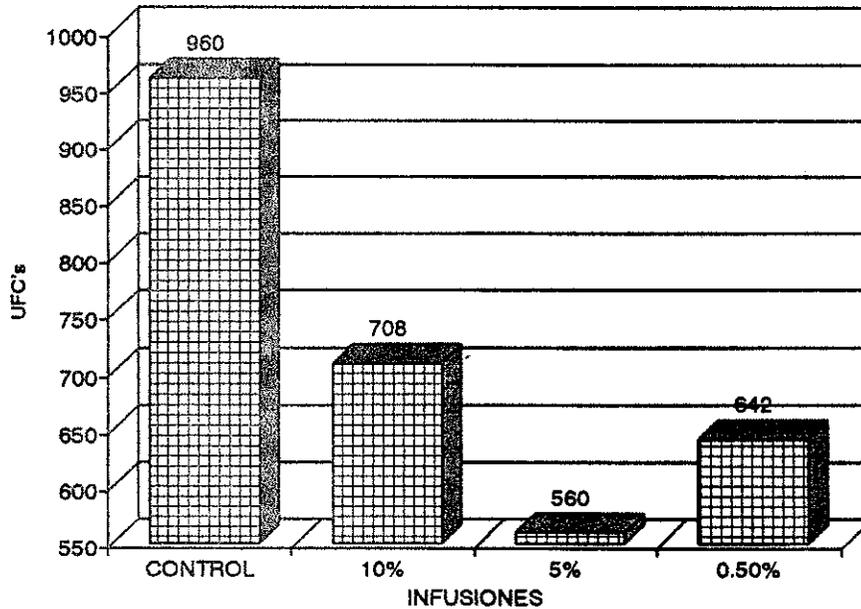
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

La infusión en concentración 10% reflejó un 15% de inhibición, la infusión al 5% fue la de mayor efectividad sobre esta cepa durante los procedimientos del estudio y alcanzó durante el Procedimiento II el mayor índice inhibitorio correspondiente al 87%, la infusión 0.5% tuvo un 42% de inhibición.⁶

⁶ UPC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 7

**RESULTADO DEL CRECIMIENTO DE COLONIAS DE *L. acidophilus*
DURANTE EL PROCEDIMIENTO II (medio + inóculo).
ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE
MICRORGANISMOS CARIOGENICOS.
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.**



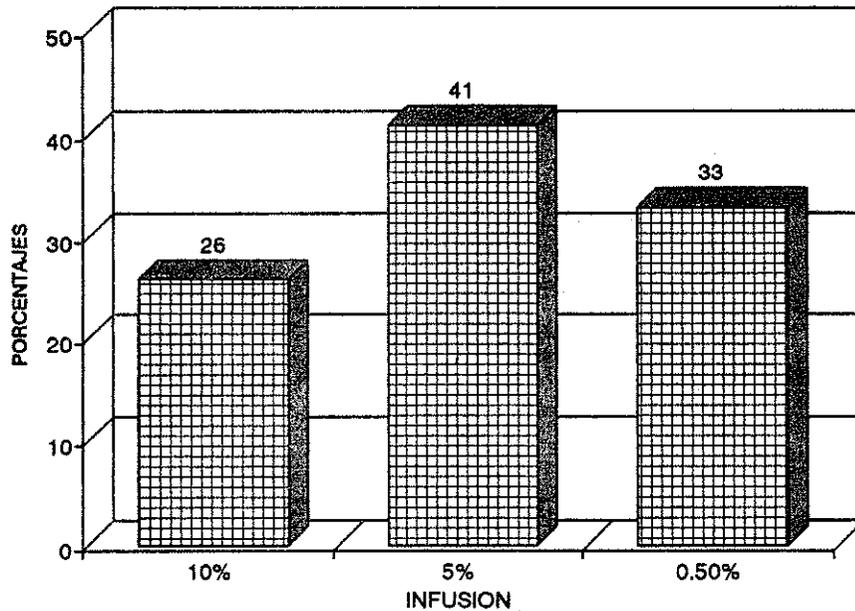
Fuente: Trabajo de Campo realizado de junio a agosto de 1995.

El número de UFC's control para esta cepa fue 960. La infusión al 10% produjo el crecimiento de 708 UFC's, al 5% 560 UFC's y al 0.5% un crecimiento de 642 UFC's, como en otros casos la mayor efectividad se obtuvo con la infusión al 5% seguido por el efecto de la infusión 0.5% y en último lugar la infusión al 10%.⁷

⁷ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 8

**PORCENTAJES DE INHIBICION DE COLONIAS DE *L. acidophilus*
DURANTE EL PROCEDIMIENTO II (medio + inóculo).
ESTUDIO DEL EFECTO INHIBITORIO DE INFUSIONES DE APAZOTE SOBRE
MICROORGANISMOS CARIOGENICOS.
LABORATORIO MICROBIOLOGICO, FACULTAD DE ODONTOLOGIA, USAC.**



Fuente: Trabajo realizado de junio a agosto de 1995.

Estos porcentajes fueron determinados considerando 960 UFC's como 100% (control), los resultados obtenidos demuestran que la infusión al 10% inhibió a la cepa en un 26%, la infusión al 5% como en anteriores casos la de mayor efectividad, alcanzó un 41% de inhibición y la infusión al 0.5% un 33% de inhibición.⁸

⁸ UFC's: Unidades formadoras de colonias.

DISCUSION DE RESULTADOS

El Apazote es una planta con una amplia variedad de usos en medicina popular. Se le atribuyen propiedades curativas dentro de las cuales se mencionan: Antidearréico, antirreumático, contra el asma, emenagógo, vermífugo, para dolores post-parto, antiinflamatorio, antihelmíntico, antimalárico y otros más. (1,8,18,24,25,32)

Respecto a sus usos en cavidad bucal se reporta su utilización en casos de dolor de muelas y en caso de encías sangrantes e inflamadas.

La literatura refiere que el Apazote tiene propiedades bactericidas, aunque no se encontró información específica de su efecto sobre una bacteria en particular.

En este estudio se determinó la existencia de inhibición sobre el crecimiento de colonias de *S.mutans* y *L.acidophilus* in vitro, al utilizar infusión de Apazote en tres distintas concentraciones (10%, 5%, y 0.5% peso/volumen) y aplicando dos procedimientos diferentes, resultando positiva la inhibición en todos los casos sobre las dos cepas de estudio.

La inhibición encontrada en este estudio sobre el crecimiento de colonias de microorganismos altamente cariogénicos plantea la necesidad de proseguir con la investigación de este potencial recurso de la odontología preventiva.

El mecanismo de acción que determina la existencia de la inhibición encontrada no fue determinado en este estudio y puede ser motivo para próximas investigaciones. A pesar de ello se pueden hacer algunas sugerencias buscando la respuesta en las propiedades de las principales sustancias activas que componen el Apazote, dentro de las cuales se encuentran los aceites esenciales asociados con ascaridol, saponinas y taninos. (1,8)

Los aceites esenciales son componentes vegetales de olor intenso ,salvo excepciones agradable; todas las plantas que contienen aceites escenciales tienen las siguientes propiedades en común ;

-Antinflamatorios

-Expectorantes

-Diuréticos

-Combaten agentes patógenos bacterias y posiblemente virus , respecto a lo anterior se recalca que combatir no significa necesariamente matar. (24)

El efecto podría ser bacteriostático o virustático no necesariamente bactericida.

El hecho de que los aceites escenciales le atribuyan a las plantas que los poseen cierta actividad antimicrobiana es de sumo interés para este estudio pues puede encontrarse aquí la razón de la efectividad del Apazote, actuando los aceites de manera individual o bien combinando sus propiedades con las de los otros principios activos.

Las Saponinas son otro de los principios activos que se encuentran en el Apazote y aunque las propiedades que se le atribuyen no lo señalan como responsable de causar la inhibición de bacterias no se descarta la posibilidad. Las propiedades más comúnmente adjudicadas a estos compuestos son:

-Aumentar la resorción de otros principios activos.

-Efecto hemolítico.

El efecto hemolítico de las Saponinas es el responsable de la toxicidad que produce el Apazote. (24)

Dentro de la composición química del Apazote se encuentran tambien las sustancias conocidas como Taninos; estos compuestos poseen las características siguientes: son astringentes y coagulan albúminas, metales pesados, y alcaloides , todas las propiedades anteriores les confieren a los Taninos la capacidad de alterar la estructura celular de los microorganismos y posiblemente algunos procesos bioquímicos y de esa manera producir la destrucción o daño celular que encamine a la inhibición.

Todas las propiedades de los principios activos antes mencionados actuando de manera individual o conjunta son los responsables de la producción de inhibición causada por las infusiones de Apazote.

De las dos cepas utilizadas en este estudio, la más susceptible a la inhibición fue la de *S. mutans* y la menos susceptible la de *L. acidophilus*. Lo anterior definitivamente causado por las diferencias existentes entre ambas cepas microbianas; diferencias estructurales, químico-biológicas, metabólicas y otras más, ocasionan la diferencia de los índices inhibitorios.

El efecto inhibitorio de las infusiones sobre las dos cepas se presentó invariablemente al utilizar tres concentraciones distintas de la infusión, sin embargo no existió relación directa entre la concentración y el efecto inhibitorio, pues el efecto inhibitorio aumentó al incrementar la concentración de 0.5% a 5%, alcanzándose en esta última concentración los índices inhibitorios más altos del estudio, sin embargo al incrementar la concentración al 10% el efecto al contrario de incrementarse disminuyó.

La causa probable de este fenómeno puede radicar en la disminución de la permeabilidad de la membrana de la célula bacteriana causada por el bloqueo que algún sedimento de los componentes del Apazote provoque y que interfiera en el paso de sustancias activas hacia la célula.

Durante este estudio se realizaron dos procedimientos diferentes, en el primero la infusión de Apazote estuvo en contacto con los microorganismos en presencia de medio de cultivo líquido y en el segundo procedimiento, las infusiones entraron en contacto con los microorganismos exclusivamente, sin la presencia de medio de cultivo.

La realización de estos dos procedimientos tenía como propósito evidenciar la posibilidad de la interferencia del medio de cultivo en el fenómeno de inhibición producido por las infusiones de Apazote; esto fue comprobado pues aunque el efecto inhibitorio que se presentó en todos los casos, disminuyó considerablemente cuando estuvo presente el medio de cultivo.

Por último la necesidad de continuar con el proceso de esta investigación se hace evidente con los resultados positivos obtenidos en este estudio , la determinación de dosis y concentraciones adecuadas es de suma importancia en el caso del Apazote a causa de su conocido efecto tóxico en concentraciones elevadas.

CONCLUSIONES

1. La infusión de Apazote al 10, 5 y 0.5 % peso/volumen tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S.mutans* y *L.acidophilus*.
2. Durante el estudio la cepa *Streptococcus mutans* resultó ser más sensible a la inhibición con infusiones de Apazote que la cepa *L.acidophilus*.
3. La infusión de Apazote resultó ser más efectiva cuando se usa pura que cuando está en contacto con medio de cultivo.
4. El medio de cultivo interactúa con la infusión reduciendo sus propiedades inhibitorias.
5. La infusión de Apazote en concentración 5% es la más efectiva sobre ambas cepas.
6. El incremento de la concentración de solutos en la infusión no siempre incrementa los niveles de inhibición.
7. Es posible efectuar este tipo de investigaciones con la infraestructura disponible en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Odontología de la USAC.
8. Con estudios de esta índole se podrían llegar a establecer nuevos métodos de prevención de caries y enfermedad periodontal aplicables a la población.

RECOMENDACIONES

1. Los resultados positivos de este estudio in vitro, presentan el uso de infusiones de Apazote como posible alternativa en la prevención de la caries dental, por lo anterior, es conveniente desarrollar nuevas investigaciones de tipo biológico y clínico encaminados a ofrecer este recurso a la población guatemalteca.
2. Realizar este tipo de investigación, con otras especies microbianas, asociadas a enfermedad periodontal, donde probablemente se podrían obtener beneficios.
3. 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.
4. Que el estudiante de Odontología que realice este tipo de investigación, tenga relación con los procedimientos de laboratorio previo a la realización del trabajo de campo, para evitar tropiezos y pérdida de tiempo en el mismo.
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 caries y así beneficiar a la población guatemalteca.

REVISION BIBLIOGRAFICA

1. Balbachas, A., y H. Rodríguez. Las plantas curan. 4a. ed. Buenos Aires, La Verdad Presente, 1958. pp. 392..
2. Bayley, S. Diagnóstico microbiológico. 6a. ed. Buenos Aires, Panamericana, 1973. pp. 16, 314.
3. 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).
4. Buron, K. y R. William. Microbiología. México, Universal, 1976. pp. 525-531.
5. Burnett, G. Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca. México, Limusa, 1986. pp. 21, 22, 43, 277, 289, 306.
6. Campos Rodríguez, H. Cuantificación simplificada de la placa bacteriana. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1982. p. 87.
7. Carranza, F.A. Periodontología clínica de Glickman. 6a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp. 386-389.
8. Cemat-Farmaya. Fichas populares sobre plantas medicinales. 2a. ed. Guatemala, 1990. 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. Donado Rodríguez, D. E. Efecto del extracto de Cimbopongon citratus (té de limón) sobre la formación de placa bacteriana por estudio in vitro. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos. Facultad de Odontología, 1991, p. 46.
11. Donado Torres, J. S. Efecto del extracto de semilla de aguacate (Persea americana) en la inhibición de la placa bacteriana. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. p. 54.



12. González Rodas, M. S. Efecio del extracto de nance sobre la formación in vitro de la placa dentobacteriana. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. p. 52.
13. Hardie, J. M. , N. W. Jhonson, L. M. Silverstone y R. A. D. Williams. Caries dental etiología, patología y prevención. Traducido por: María del Rosario Carsolio Pacheco, México, El 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, Editorial Médica Panamericana, 1975. p. 451.
16. Lindhe, J. Periodontología clínica. Buenos Aires, Editorial Médico Panamericana, 1986. pp. 87-89.
17. López Acevedo, C. Manual de patología oral. Guatemala, Editorial Universitaria, 1984. pp. 207, 211-215. (Colección Aula, # 16).
18. Méndez, J. A. y Batrez, B. Listado Itzarná, recopilación sobre investigación científica y validación farmacológica en plantas medicinales en Guatemala. Guatemala, CEGIMED, 1992. 47 p.
19. Milián Rojas, 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. 45.
20. Morán Yanez, M. Prevalencia de inflamación gingival en adolescentes escolares de 12 a 14 años con dentición permanente, investigación recopilada de investigaciones realizadas por los estudiantes de E.P.S. En diferentes regiones de Guatemala correspondiente a los años 1983,1984, 1985, 1986. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1990. 45 p
21. Newburn, E. Cariología. Versión española: Ana Pérez Calderón, México, Limusa, 1984. pp. 23-35, 77, 104-106, 361-362.
22. Nolte, W. Oral microbiology. St. Louis Mosby, 1977. pp. 33, 119, 309-310.
23. Noriega, C. Estudio epidemiológico de la enfermedad periodontal de tres grupos distintos de escolares de la población guatemalteca. Tesis (Cirujano Dentista) Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1990. 50 p.

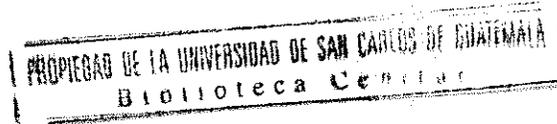


24. Pahlow, M. Plantas Medicinales. Traducción: J, Tola y J, Herrero. 6a. ed. España, Editorial Evergráficas, 1991. pp. 24,25,436.
25. Palomo Robles, P . Monografía sobre usos de plantas medicinales. Informe final de E.P.S., Guatemala Universidad de San Carlos Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química y Farmacia, CEGIMED, 1992.
26. Raión 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. 38 p.
27. Regezzi, J. A. y J. J. Seiubba. Patología Bucal. Traducido por: Sonia Scheider Rivas y Manuel Antonio Palacios, México, Nueva Editorial Interamericana, 1991. pp. 93, 511-523.
28. Ross, P. y P. Holbrook, Microbiología bucal y clínica Traducido por: María del Rosario Corsolio Pacheco. México, Editorial Científica, 1987. pp. 5, 6, 81-85.
29. Steele, P. F. Dimensión of dental hygiene. 3rd. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1982. p. 549.
30. Shafer, W. G. y B. M. Levy. Tratado de patología bucal. 4a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp. 415-419.
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. p. 48.
32. Weniger, B. y L. Robineau. Elementos para una farmacopea caribeña, investigación científica y uso popular de plantas medicinales en el caribe. Seminario Tramil 3. La Habana, Cuba, 1988. pp. 149-153.
33. Zinsser, H. Microbiología. 18a. ed. Buenos Aires, Editorial Hispanoamericana, 1987. pp. 711-713.
34. Zinsser, H. Bacteriología. 18a. ed. México, Editorial Hispanoamericana, 1960. pp. 455-459.

No. Bo.

Del Est...

73-x-96



Br. Rosa María Solares Solares

SUSTENTANTE

Dr. Alfonso De León Godoy

ASESOR

Dr. Raúl Vitelio Ralón Carranza

ASESOR

Dr. Servio Tulio Interiano Cario

COMISION DE TESIS



Dr. Luis Manuel Alvarez Segura

COMISION DE TESIS

IMPRIMASE



Dr. Carlos Guillermo Alvarado Cerezo.
SECRETARIO FAC. DE ODONTOLOGIA

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central