EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE MANZANILLA (Matricaria chamomilla L.) SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS CARIOGENICOS (Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus), IN VITRO". FACULTAD DE ODONTOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

TESIS PRESENTADA POR

LUISA MARIA MIRON CARCAMO

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

CIRUJANO DENTISTA

GUATEMALA, JUNIO DE 1997

6101010CG CG

1 (N.)

II

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Decano:

Dr. Danilo Arroyave Rittscher.

Vocal Primero:

Dr. Eduardo Abril Gálvez.

Vocal Segundo:

Dr. Luis 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 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 Alvarado Cerezo

Biblioteco Central

DEDICO ESTE ACTO

A Jesús y a la Virgen María: Por concederme siempre tantas bendiciones.

A mis padres: Ing. Luis A. Mirón Peña y Grisela de Mirón, porque gracias a su esfuerzo, apoyo e infinito amor alcanzo hoy esta meta.

A mi esposo: Dr. Miguel Rodríguez Anaya, quien siempre me da su amor, paciencia y comprensión.

A mi hermano: Luis Pedro Mirón, por brindarme cariño y ánimo.

A mi abuelita: Lidia Inés De León, por su gran cariño.

TESIS QUE DEDICO

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Odontología.

A mis asesores y revisores.

A mis amigos y compañeros.

A usted que la recibe, especialmente

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de someter a consideración mi trabajo de tesis titulado "EFECTO INHIBITORIO DE LA INFUSION DE MANZANILLA (Matricaria chamomilla 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

Quiero expresar mi agradecimiento a mis asesores de tesis: Dr. Héctor A. De León Godoy y Dr. Raúl Ralón Carranza, por su gran ayuda en la realización de este trabajo.

Y ustedes distinguidos miembros del tribunal examinador reciban mis más altas muestras de consideración y respeto.

HE DICHO

INDICE

SUMARIO1
INTRODUCCION3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA5
JUSTIFICACIONES
OBJETIVOS9
HIPOTESIS11
DEFINICION DE TERMINOS12
REVISION DE LITERATURA13
METODOLOGIA40
PRESENTACION DE RESULTADOS44
DISCUSION DE RESULTADOS63
CONCLUSIONES66
RECOMENDACIONES67
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

SUMAR10

El presente trabajo tuvo por objeto realizar un estudio del efecto inhibitorio de la infusión de flores secas de Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus con el fin de buscar nuevas alternativas de tratamiento y prevención de caries dental que beneficien a la población guatemalteca.

Este estudio se realizó in vitro en el laboratorio microbiológico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala; donde las tres distintas concentraciones de la infusión anteriormente mencionada (5, 10 y 20% p/v), fueron puestas en contacto con los microorganismos de estudio y así poder observar el efecto inhibitorio de crecimiento de los mismos.

La inhibición de ambos microorganismos estudiados fue evidente en la concentración de la planta al 10%, aunque al 20% también hubo efecto inhibitorio, éste fue menor. Al 5% hubo inhibición (también menor que en la de 10%, pero mayor que al 20%) del Lactobacillus acidophillus. Para el Streptococcus mutans esta última concentración estimuló su crecimiento.

Este hallazgo permite situar a esta planta como una de las posibles alternativas en el campo de la Odontología Preventiva para Guatemala, dado el bajo costo y accesibilidad de la planta.

INTRODUCCION

Las enfermedades de mayor prevalencia en la cavidad bucal son la caries dental y la enfermedad periodontal, siendo el principal factor etiológico de estas enfermedades la formación de placa dentobacteriana sobre la superficie dental y los tejidos de soporte. (6,8,18,20,21, 25,28).

La utilización de la Manzanilla (Matricaria chamomilla 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 bucal. 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 de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) para la inhibición del crecimiento del Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus, ambos microorganismos importantes en la formación de la caries dental.

Este estudio se realizó en una forma experimental in vitro, utilizando la infusión de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) sobre el crecimiento de los microorganismos Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus. La

investigación se realizó con los recursos del laboratorio microbiológico y bioquimico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos, pretendiendo continuar con la linea de investigación que desde hace un tiempo se viene realizando en el mismo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Guatemala 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. (26,34)

La caries dental y la enfermedad periodontal estan determinados por varios factores, siendo uno de ellos y talvez
el más importante, el desconocimiento que se tiene sobre una
higiene bucal 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 numero de recetas terapéuticas populares, basadas en vegetales que se han utilizado en forma empírica para la prevención y tratamiento curativo de las enfermedades bucales.

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 buscan alternativas que solucionen los problemas de salud bucal a menor costo.

La falta de antecedentes científicos y de literatura re-

lacionada con la medicina popular utilizada en Odontologia plantea la necesidad de evaluar in vitro la efectividad inhibitoria de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus, siendo estos los principales patógenos relacionados con la caries dental.

JUSTIFICACIONES

- 1. El amplio y variado uso de la medicina popular tradicional y en especial el uso de plantas curativas, están ampliamente ligadas a la cultura guatemalteca, las enfermedades de la cavidad bucal han sido tratadas 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 pretende 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 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 tratamiento de enfermedades bucales, que sean efectivas, fáciles de obtener, de bajo costo, accesibles a la mayoria 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 al-

ta incidencia que existe en el pais, de las afecciones bucales más generalizadas como lo son la caries y la enfermedad periodontal.

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

OBJETIVOS

GENERALES:

- Buscar nuevas alternativas de tratamiento y prevención de la caries dental que beneficien a la población guatemalteca.
- 2. Determinar el efecto de la infusión de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus, in vitro.

ESPECIFICOS:

- 1. Determinar si la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.)

 posee efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los
 agentes cariogénicos Streptococcus mutans y Lactobacillus
 acidophillus.
- Determinar si el efecto de la infusión de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.), varía al utilizar diferentes concentraciones de la misma.
- 3. Determinar la concentración mínima ideal de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.), para obtener el efecto inhibitorio deseado.
- 4. Aumentar la información científica sobre los usos populares de especies vegetales, que contribuya a la preven-

ción o curación de enfermedades que afectan la cavidad bucal.

HIPOTESIS

La infusión de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) inhibe el crecimiento de microorganismos cariogénicos Streptococcus mutans y Lactobacillus acidophillus, in vitro.

VARIABLES

Independiente: Estudio de infusión de Manzanilla (Matricaria chamomilla L.).

Dependiente: Bacterias S. mutans y L. acidophillus.

Indicadores:

- Crecimiento: Se observa crecimiento por el número de colonias en medio sólido, siendo el Agar Rogosa para L. acidophillus y Agar Mitis Salivarius para S. mutans.
- Infusión de la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.): Acción de extraer de las sustancias orgánicas generalmente vegetales, las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente.

 Producto líquido así obtenido.

DEFINICION DE TERMINOS

- Cepas: Núcleo alrededor del cual se desarrolla una familia de microorganismos.
- 2. Infusión: Producto que se obtiene de extraer de las sustancias organicas generalmente vegetales, las partes solubles en agua, a una temperatura mayor que la del ambiente. Producto liquido asi 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 medio artificial.
- 5. Microaerofilia: (Microaerophilio). Que requiere oxígeno para crecer, pero a concentración menor que la que se encuentra en la atmósfera; se dice de la bacteria.

PLACA DENTOBACTERIANA:

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

Está firmemente adherida a los dientes lo que hace difícil removerla una vez formada. El aspecto clínico habitual de la placa dentobacteriana es de color blanco, adherido a la superficie del diente y parecido a una película.

Algunos de los factores notables que determinan el caracter cualitativo de la placa son el tipo y frecuencia de introducción del sustrato (composición y frecuencia de la dieta). (17, 21, 22). Entre los que determinan su carácter cuantitativo, se encuentran eficiencia y frecuencia de las diversas maniobras de higiene bucal. (25).

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 presenta, en forma obligada, la condena de la integridad en la superficie dentaria. La capacidad de los microorganismos bucales para iniciar la caries depende de diversas características bacterianas, como la capacidad para adherirse a las superficies dentarias, acidogenicidad (capacidad para formar, muy rápido, ácidos láctico, fórmico y otros) y aciduricidad (capacidad



para sobrevivir en un medio con pH bajo). (25).

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 dentro de la placa, en tanto la dieta hipoproteica y alta en sacarosa, predispone al crecimiento de microorganismos odontolíticos. (24).

COMPOSICION 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 detecta incluyen a S. mitis, S. mutans (sumamente localizado). A. naeslundii, A. israelii, Rothis dentocariosa, Peptostreptococcus especies, 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 bastoneillos grampositivos pequeños, 8% tanto de fusobacteria como de filamentos y aproximadamente 2% de espiroquetas. Los Actinomyces y el Streptococcus sp. son los componentes principales de la flora cultivable. Bacteroide melaninogenicus se aisla 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 Borrelia son nativas del área del surco gingival, no obstante que se observan con frecuencia en micrografías electrónicas de la placa gingival, solo ocasionalmente se les ha cultivado. Estos microorganismos son altamente sensibles al oxigeno y crecen únicamente en condiciones de un bajo potencial de oxidorreducción.

Las espiroquetas rara vez se encuentran en los niños que tienen encías saludables, pero aumentan con el paso de los años. Los pacientes jóvenes que sufren de periodontitis juvenil, o los adultos que padecen una forma de periodontitis de progreso rápido, tienen 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: Vibriones a-

naeróbicos, Capnocytophaga (Bacteroides ochraceus), Bastoncillos anaeróbicos 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 asacarolíticos, entre
los que se incluyen Fusobacterium nucleatum, Bacteroides melaninogenicus, Eikenella crodens, Bacteroides capillosus y
Vibriones anaeróbicos. (3,8,17,26)

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. (30)

La etiología de la Enfermedad Periodontal es multifactorial. (3,6,8,17)

Las sustancias bacterianas de la placa han sido consideradas primarias en la producción de Enfermedad Periodontal. (3,6,8,17,23,28)

No se amplia el tema de enfermedad periodontal por no tener relevancia en este estudio.

CARIES DENTAL:

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

Definición: Es una enfermedad que afecta los tejidos duros del diente y se manifiesta por la degradación focal de éstos.

Las lesiones cariosas resultan de la disolución mineral de los productos finales del metabolismo ácido de bacterias acidogénicas y proteolíticas capaces de fermentar a carbohidratos, en especial azúcares. (6,21,25,28)

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 sistemáticas.
- b) Saliva
- c) Flúor, etc. (21)

TEORIAS SOBRE LA ETIOLOGIA DE LA CARIES:

1. TEORIA ACIDOGENICA:

En la actualidad es la teoría que más se acerca a explicar la etiología de la caries. Propuesta por Miller en 1890, quien determinó que en el proceso intervenía un microorganismo bucal 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 comienza con una decoloración y destrucción de la cutícula del esmalte por

un grupo de organismos predominantemente filamentoso. La destrucción del cuerpo del esmalte y la dentina, fue primariamente una desmineralización, lo cual él confirmó por análisis clínicos de dentinas con caries. Alguna cantidad de acido 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. (6,21)

2. TEORIA PROTEOLITICA:

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.

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, disuelven los minerales del esmalte. (21)

MEDIOS PARA PREVENIR LA CARIES:

La caries dental es una enfermedad muy compleja que se

manifiesta en función de la acción simultánea de tres facfactores 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 edulcorantes no cariogénicos y aditivos de fosfato). (24)

HIGIENE BUCAL

El método más difundido y socialmente aceptado para la higiene bucal, sobre todo en el mundo occidental, es el cepillado. (17) Existen variedad de técnicas, tipos de cepillos y pastas dentales, muchas de las cuales cuentan con una forma de fluoruro como medida terapeútica.

El punto más importante acerca del cepillado de dientes es independientemente de la técnica utilizada, tipo de cepillo o pasta dental, consiste en la eficiencia y real eliminación de la placa bacteriana de todas las superficies accesibles, sin dañar lo tejidos blandos o erosionar los

tejidos duros. (17)

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.

METODOS QUIMICOS PARA COMBATIR LA PLACA BACTERIANA:

- Antibióticos
- Clorhexidina
- 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 sellantes de fosas y fisuras constituyen un método eficaz y seguro en la prevención de la caries. Los sellantes se aplican a las superficies oclusales, exactamente en los hoyos y fisuras de estas superficies en los molares y premolares, que son las areas más susceptibles a la caries que el resto de superficies dentarias. (10)

El procedimiento de colocación implica varios pasos a seguir, los cuales son:

- Profilaxis previa
- Aislamiento
- Acondicionamiento con ácido
- Lavado y secado
- Y por último la colocación del sellante, que en caso de selladores de polimerización es necesario añadir el paso de fotopolimerización. (10)

MODIFICACION DE LA DIETA:

El control dietético en la prevención 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. (24)

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.
- Dentifricos.
- Seda dental.
- Limpiadores interdentales.
- Sustancias reveladoras de placa. (7,8)

STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS ACIDOPHILLUS. Streptococcus:

Células esféricas u ovoides, rara vez alargadas en bastoncillos; se presentan apareadas o encadenadas cortas o largas, nunca en paquetes. A veces los cultivos producen una coloración rojiza de herrumbre por picadura en agar, se desarrollan en medios artificiales; las colonias en agar son pequeñas y translucidas las superficiales, pueden ser veladas, convexas o mucoides. En su mayoría son anaerobios facultativos, con escasa vegetación superficial en cultivos por picadura, unos pocos son anaerobios estrictos y algunos de ellos atacan las proteinas, para producir gases y malos olores. Se encuentran generalmente en la boca y el intestino de los hombres. (5,15,26,30,31)

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 o trasudados tales como líquidos de ascitis o pleurales. La adición de glucosa a la concentración de 0.5% aumenta la velocidad de desarrollo del or-

ganismo, pero ocasiona un cambio en la facultad de este para lisar los glóbulos rojos.

Los Streptococcus suelen desarrollarse mejor a un pH entre 7.4 y 7.6. Aunque el desarrollo ocurre entre 15°C y 40°C la temperatura óptima de cultivo para la mayor parte de los Streptococcus es de 37.5 °C. (34)

En placas de agar-sangre a 37°C suelen hacerse visibles, en dieciocho a veinticuatro horas, pequeñas colonias delicadas, grisáceas y opalescentes, con bordes lisos o muy ligeramente rugosos y sobre la superficie del medio tienen 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 a menos que se traspasen pronto.

Streptococcus mutans:

Pertenecen a la categoría de Streptococcus viridans, que son los miembros más importantes de la flora normal de la cavidad bucal. El Streptococcus mutans sintetiza polisacáridos de moléculas grandes (por ejemplo dextranos), y desempeñan un papel importante en la formación de caries dental. (2,5,6, 15,22,25,28) Ha sido aislado en poblaciones de diverso origen étnico y socioeconómico. Se encuentra en grandes canti-

dades 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 tienen la capacidad de metabolizar la sacarosa dietética y de sintetizar glucanos mediante una glucosil transferasa extracelular y superficial de la célula.

Se considera que esta enzima tiene importancia especial en el establecimieno 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 nueva sintesis de glucano a partir de la sacarosa exógena con la subsecuente adherencia a la super ficie del esmalte. (21,25)

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 margenes ondulados y una estructura
interna reminiscente 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, puede 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 al lado de la colonia. Estos Streptococcus crecen en medios que contengan cloruro de sodio al 4%, aunque no al 6.5%, la mayoría no produce amonio a partir de arginia, no hidrolizan el almidón, aunque fermenten la insulina, rafinosa, manitol, y sorbitol. En caldos y sacarosa se produce dextrano precipitable por un volumen de etanol. (4)

La proporción de <u>Streptococcus mutans</u> en los dientes humanos se ha reportado en correlación con el grado de actividad de la caries y los organismos pueden aislarse de lesiones de caries en los humanos. (6,21)

Relación de Streptococcus y Caries:

Miller (1890) encontró Streptococcus en la cavidad bucai. 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. Niedergesass (1905) y Kligler y Gies (1915) encontraron que el Streptococcus era el microorganismo predominante de la boca. Sieberth (1900), Baumgartner (1910,1913), Niedergesass (1915) y Heirici y Hartzel (1919) postularon que el Streptococcus era importante en la caries dental. Dichos postulados se basaron principalmente en la abundancia del Streptococcus bucal, su presencia en la caries dentinal profunda,

flora bucal. La mayoría de los Streptococcus bucales incluyendo al Streptococcus mutans, crecen rapidamente 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 bucal.

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 hamsters, mediante estudios de las causas de variabilidad de la caries dental en animales de experimentación y por el establecimiento de un agente transmisible.

La patogenicidad potencial de <u>Streptococcus mutans</u> se debe a su capacidad para producir moléculas pesadas, glucanos extracelulares (dextrano) el cual se adhiere a la superficie lisa del esmalte conduciendo a la formación de una placa dental en la cual los Streptococcus bucales y otros microorganismos cariogénicos y no cariogénicos colonizan para formar sus ácidos cariogénicos. Los diferentes Streptococcus cariogénicos varian 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 <u>Streptococcus</u> mutans.

Lactobacillus:

El género Lactobacillus, constituye un componente importante de la flora humana natural, son bacilos grampositivos no esporulados, clasificados en la familia Lactobacilacea, generalmente inmóviles, microaerófilos y catalasa negativos. Forman acido lácteo como principal producto de fermentación de la glucosa. (2,15)

Habitan en boca, tracto gastrointestinal y vagina de humanos. Varian su forma desde bastoncillos cortos y rollizos aislados o dispuestos en cadena o palizada, hasta los bastoncillos largos y delgados que se presentan aislados o en cadenas. (2,6)

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

En la superficie del agar conteniendo un agente reductor de la tensión superficial, las colonias son invariablemente

lisas y en forma de cupula, con una textura que semeja la cáscara de naranja, en agar de jugo de tomate también existen los Lactobacillus bucales, se facilita enormemente mediante los medios selectivos de Agar Rogosa, el cual suprime practicamente el crecimiento de todos los demás microorganismos bucales 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, licúan la gelatina, ni reducen el nitrato y son catalasa negativos. La fermentación de los Carbohidratos por los Lactobacillus es variable con las especies aunque generalmente es bastante activa.

En realidad casi desde la época en que los Lactobacillus se descubrieron por primera vez en la cavidad bucal hasta hace poco, ha existido la tendencia de asignar a todos los Lactobacillus bucales a la especie Lactobacillus acidophillus, 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 la caries activa y la cantidad de Lactobacillus en la saliva. (6,15)

Se ha comprobado que en medio agar-suero en condiciones

anaeróbicas y en atmósfera de ${\rm CO_2}$, estimula el crecimiento y desarrollo de las cepas en la boca.

Lactobacillus acidophillus:

Pertenecen a la clasificación de Lactobacillus Homofermentativos microaerófilos.

Fue aislado por primera vez por Moro en el año de 1900 a partir de heces de lactantes y se encuentra en el intestino de casi todos los vertebrados mamíferos y algunos invertebrados. Su cantidad aumenta en relación al aumento de la ingesta de Carbohidratos en la dieta y pueden llegar a ser predominantes cuando se tiene una dieta láctea, son bastante gruesos y su longitud es variable, se disponen aislados a pares ligeramente flexionados en la unión y en cadenas largas. Las cadenas largas tienen formas filamentosas y las formas en masa no son raras. Los cultivos jóvenes se tiñen uniformemente grampositivos, los cultivos viejos a menudo muestran coloración listada o bipolar y pueden decolorarse fácilmente. Las colonias generalmente pequeñas pueden variar en su forma opaca redonda y lisa aplanada, translucida e irregular con aspecto de cristal. Poseen reacciones de fermentación variables, aunque la mayoría producen ácido pero no gas. A partir de la glucosa, lactosa, maltosa, y sacarosa y ilegan a coagular la leche en 48 horas. (6,15)

Relación de los Lactobacillus con Caries:

Cuando O.B. Miller formuló la teoria parasitoquímica de

la caries dental hacia 1880, llegó a creer que cualquiera de las bacterias bucales 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. (6,15)

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

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

lesión cariosa.

Durante el periodo 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 (1903), Kleiger y Gies (1915), y Howe y Hatch (1917), sobre la flora bucal, indica su naturaleza compleja; el que la flora bucal se pueda dividir de acuerdo con su función productora de acidos, licueficantes, proteolítica y productora de pigmento; el que los Streptococcus y los Lactobacillus eran los más abundantes en las especies acidogénicas residentes, y que los Lactobacillus eran los más acidúricos. Howe y Hath fueron los primeros en postular que los Lactobacillus pudieran intervenir en la fase descalcificante de la caries dental. (6,15)

Se le dio un impetu 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 caries en dientes esterilizados mediante su exposición a los Lactobacillus en caldo de cultivo.

Numerosas investigaciones en los Lactobacillus de la saliva revelaron que: (6)

1. Los Lactobacillus de la saliva estuvieron raras veces,

si es que alguna, completamente ausentes de la cavidad bucal de un adulto con dientes, aunque pudieran estar presentes en muy pequeñas cantidades.

- 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 de caries.
- 4. Un incremento de los Lactobacillus de la saliva precede a la aparición de las lesiones visibles de 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 lenes de la caries, se observan, 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 sa-

liva 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, alcanzan el requerimiento de un agente causante de caries dental humana, siendo bastante acidogénico y acidúrico, estando presente en todas las etapas de las lesiones de 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.

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 de superficies lisas.

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

Sus fuertes características acidogénicas y acidúricas los hace capaces de producir ácidos cariogénicos cuando otros son incapaces de hacerlo y sobrevivir. Aunque los Lactobacillus por si solos son incapaces de localizar y establecerse en una placa dental de una superficie lisa en un animal gno-



tobiótico. en 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.

INTRODUCCION A LA MEDICINA POPULAR

Es así como la mayoría de la población busca solucionar sus problemas de salud en la Medicina Popular, que no es más que la medicina que se ha practicado con aparente eficacia, de manera indiscriminada, durante generaciones, brindando una alternativa de alivio a las personas que la han utilizado. (12).

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. (12). 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 plantas o extractos de las mismas, hasta procedimientos complejos y radicales. (12).

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 siguiente tratamientos: debilidad de la dentadura, dolor de muelas y mal olor en la boca. (12)

MANZANILLA:

NOMBRE CIENTIFICO: Matricaria chamomilla L.

FAMILIA: Asteraceae

NOMBRE COMUN: Manzanilla dulce, romana, chiquita, común,

camomilla, flores chamomillae. (1,4,14)

DESCRIPCION:

Es una hierba anual. (4.13,14,16,27) Las cabezas florales son recolectadas cuando están maduras o expandidas. (2,3)
Alcanza una altura de 15-60 cms. (13,14,16) Es una hierba
aromática al estrujarse, glabra o casi glabra, de tallos
ramificados y liso. Sus hojas miden hasta 7 cms. de largo,
bi a tripinnadas. (14.16) Las cabezuelas florales cónicas,
3 a 10 mm. en ancho estrecho y receptáculo vacío, y un pequeño pedúnculo, involucionados de 20 a 30 olacioladas, pubescentes, escasas, cafés con márgenes blancos. Flores de 10 a
20 pistiladas rayadas de 12 mm. de extensión con 3 dientes
blancos, corola de 4 venas, numerosas flores en disco de 2 a
5 mm. de extensión, anchas y ovoides desde 15 mm. en extensión, de 3 a 5 rayas débiles. Ovarios con pelos glandulares,
anteras, flores con ligadura, ovario con estigma bífido.

(2,3). Florece de abril a agosto. (13)

DISTRIBUCION:

Nativa del Mediterráneo Europeo, cultivada y naturalizada desde el oeste de los E.E.U.U. hasta América Central, Norte y Sur América. (27) En Guatemala crece en terrenos cultivados, abonados y soleados, principalmente en región de las verapaces y el altiplano central y occidental del país. (13,27)

COMPOSICION QUIMICA:

0.25% de aceite esencial rico en camazulenos y bisabolol, de un intenso color azul por el azuleno. Dicloroéter
poliínico, flavonoides: luteolol, apigenol, quercetol; cumarinas: umbiliferona, herniarina; mucílago urónico (10%),
principio amargo, sales minerales. (1)

Acido antémico, una flavona glucosida, antimidina, ácido málico y taninos. (4,27) Acido salicílico, apigenina, colina, clorofila, esteroides, fenoles.(27) Guajazuleno, sepiroéter, matricina, mucinas, ácidos grasos y azúcar. (16)

Resinas, ácido fósforico, alcaloides (14) y vitamina C. (9)

ACCION FARMACOLOGICA:

Antiinflamatoria, espasmolítica y ligeramente sedante. (1,4,13,16,27) Además carminativa, antiséptica (1,4,13,27) digestiva, (1,13,16) anticatarral, actividad aperitiva y colestésica. (1,16) Antimicrobiana (1). De uso externo: oftálmica, vulneraria y antiséptica. (1)

PARTES UTILIZABLES:

Flores secas, hojas y tallos frescos. Las flores tienen propiedades calmantes, desinflamantes, digestivas, emenagogas y espasmolíticas.

INDICACIONES:

MEDICINALES:

Uso interno: Gastritis, ulcus gastroduodenal, colitis, espasmos gastrointestinales, inapetencia, vómitos, digestiones lentas, flatulencia, disquinesia biliar, nerviosismo, insomnio, dolor de cabeza y menstrual. (1,4,13,14,16,27,33)

Diarrea nerviosa, (4,13,27) parasitismo intestinal, (16) y asma bronquial. (9)

Uso Externo: Blefaritis, conjuntivitis, eczemas, heridas, contusiones, inflamaciones, vaginitis. (1)
Hemorroides, úlceras en piernas y mastitis. (4,27)
USOS EN CAVIDAD BUCAL:

Inflamaciones, (1,13) estomatitis, (1), irritación de la boca y garganta. (4)

USOS NO MEDICINALES:

El cocimiento de las flores es muy usado para enjuagar el cabello y darle sedosidad y claridad. Aromatiza vinos y licores. (4)

CONTRAINDICACIONES:

No se reportan (13,27)

TOXICIDAD:

Se ha reportado que en Costa Rica la excesiva ingestión de té puede causar aborto, especialmente si la mujer está to-

mando otro poderoso arbústo en té también. (27)
PREPARADOS Y DOSIS:

Uso externo: Infusión de capítulos florales (50 a 60 gramos por litro de agua). Aplicar en forma de compresas, lociones, lavados, baños oculares, colutorios, irrigaciones vaginales o enteroclismas. (1)

Uso interno: Infusión, vertir una taza de agua hirviendo sobre 1 a 2 cucharaditas de flores. Dejar reposar tapado por 10 minutos. Hacer gárgaras, para estomatitis. Para trastornos digestivos, como desinflamante, calmar el dolor por indigestión y dolor menstrual, esta infusión se deja enfriar y se cuela; se toma 1 taza después de cada comida. Cocimiento: Hervir durante 5 a 10 minutos, una cucharadita de flores en una taza de agua. Enfríar, colar y endulzar con miel, tomar una taza después de cada comida y antes de acostarse. Sirve para nerviosismo, dolor de cabeza e insomnio. (13,27)

Vapor: Remojar 20 a 30 gramos de flores y hojas en un litro de agua hirviendo. Inhalar, sirve para catarro crónico obstructivo. (9)

Tintura: Macere 30 a 50 gramos de flores y hojas en un litro de alcohol a 60° durante 7 días. Filtre, guarde en recipiente hermético, coloque 10 a 15 gotas en una taza de agua tibia, beba después de comer. Para el dolor de cuerpo, renal y es diurético.

METODOLOGIA

La planta Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) fue comprada en un puesto de venta de plantas medicinales de uso
popular del mercado La Placita, ubicado en la zona 4 de la
ciudad capital. Su clasificación fue realizada en el Herbario
de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos
de Guatemala.

La planta se compró ya deshidratada, quienes la venden, la dejan secar a la sombra en el medio ambiente. Se utilizaron únicamente las flores de la misma, posteriormente se trituraron hasta reducirlas al menor volumen posible, quedando completamente pulverizadas. Se pesaron 20 gramos de la planta pulverizada, a los que se le agregaron 80 ml.de agua destilada, se llevó a ebullición, sin dejar que perdiera volumen de agua por la evaporación. Después de hervir 15 minutos, se virtió la infusión a través de papel filtro, para impedir el paso de partículas mayores a la misma.

Se obtuvo así 100 ml. de solución madre, la que se encuentra a una concentración al 20% p/v. Para la obtener la concentración al 10% p/v se tomaron 10 ml. de la solución madre (20%) y se le agregaron 10 ml. de agua tridestilada. La concentración al 5% p/v se obtuvo tomando 5 ml. de la solución madre, a los cuales se le agregó 15 ml. de agua tridestilada.

Dichas concentraciones p/v se colocaron en frascos de

vidrio color ámbar, esterilizándose por 30 minutos en el autoclave.

Los medios líquidos de cultivo utilizados en el estudio fueron dos. El Todd Hewitt, (T.H), para cultivar Streptococcus mutans. Y el Caldo Nutritivo Reformulado (CNR), para cultivar Lactobacillus acidophillus. Estos medios de cultivo se llevaron a ebullición, se virtieron en tubos de ensayo ligeramente desenroscados y se autoclavearon por 30 minutos. Deben prepararse el mismo día en que se refrescan los cultivos.

Ambos microorganismos utilizados se obtuvieron del cepario del Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, siendo trasladados de un medio stock a un medio de cultivo líquido. (T.H. para S. mutans y CNR para L. acidophillus). Se dejaron en microaerofilia, dentro de la incubadora, a 37 grados centígrados durante 24 horas, para que su crecimiento fuera óptimo.

Después de las 24 horas, se realizó la tinción de Gram para ambas cepas, verificándose microscópicamente que fueran las bacterias a utilizar en el estudio. También se realizó una siembra en medios sólidos contenidos en cajas de Petrí, estos fueron el Agar Mitis Salivarius para el S. mutans y Agar Rogosa para el L. acidophillus. Ambos microorganismos crecieron y formaron colonias características, se verificó así una vez más que las cepas de ambos microorganismos se

encontraban en óptimas condiciones y que eran las deseadas.

Los medios de cultivo líquido conteniendo ya a su respectivo microorganismo inoculado fueron homogenizados en el vibrador Vortex. Se extrajeron dos gotas (0.1 ml.) del cultivo líquido que contenía al S. mutans y se colocaron en un vial que contenía 0.9 ml. de agua tridestilada, logrando así la dilución 1:10, luego de la dilución anterior se tomó 0.1 ml. y se agregó a 0.9 ml. de agua tridestilada logrando una dilución 1:100. De esta dilución se tomó 0.1 ml. y se le agregó a 0.9 ml. de agua tridestilada logrando una dilución de 1:1000. Se realizó la siembra control con dos gotas de la dilución 1:1000, colocadas en el medio de cultivo sólido correspondiente, contenido en cajas de Petrí.

Las diluciones de las tres diferentes concentraciones de la planta Manzanilla, se diluyeron de la forma anteriormente descrita, sustituyéndose el agua tridestilada por las infusiones (5, 10 y 20%). Se realizó entonces la siembra en medio sólido. El mismo procedimiento fue empleado para el L. acidophillus.

Las siembras de cada microorganismo fueron cuatro, una control con agua tridestilada y las otras tres con cada una de las concentraciones de la infusión de Manzanilla.

El inóculo diluido 1:1000 estuvo en contacto con la infusión de Manzanilla durante un minuto, luego se sembró en el medio sólido respectivo para cada microorganismo dentro de las cajas de Petrí, se incubó a 37° centígrados durante 24 horas, en condiciones de microaerofilia. Se realizó un recuento de unidades formadoras de colonias (UFC's) en cada caja de Petrí.

El conteo de UFC's se realizó en el estereoscopio, colocando una plantilla cuadriculada divida en cuatro cuadrantes por debajo de la caja de cultivo sólido, que coincidía con el diámetro de las cajas de Petrí utilizadas en el estudio.

Todo el procedimiento se realizó con instrumental, materiales y ambientes estériles; la campana del Laboratorio de Microbiología, disminuye el riesgo de contaminación, además se empleó el método de flameado para abrir y cerrar los viales y tubos de ensayo.

Este trabajo se realizó en duplicado para obtener consistencia de los valores encontrados, al final se contó con 16 cultivos de ambos microorganismos en contacto con las diferentes concentraciones de la infusión, incluyendo el control con agua tridestilada, en medios sólidos contenidos en cajas plásticas de Petrí desechables.

PRESENTACION DE RESULTADOS

Se utilizaron cuadros y gráficas para ordenar los datos que a continuación se presentan.

Dado que este trabajo se realizó en duplicado, se muestran los resultados obtenidos de los estudios A y B efectuados con el <u>Streptococcus mutans</u> y el <u>Lactobacillus</u> acidophillus.

Se puede observar el crecimiento de UFC's con las tres diferentes concentraciones de la infusión de Manzanilla (5, 10 y 20% P/V), así como el porcentaje de crecimiento e inhibición encontrados. Al final se incluyen los promedios de los estudios A y B de cada microorganismo.

Cuadro 1

(Estudio A, S. mutane)

Conteo de UFC's* de <u>Streptococcus mutans</u>, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

•		State of the state	
	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1764	100	O
Concentra- ción de la infusión manzanilla			
5%	1847	104.70	-4.70
10%	1198	67.91	32.09
20%	1338	75.85	24.15

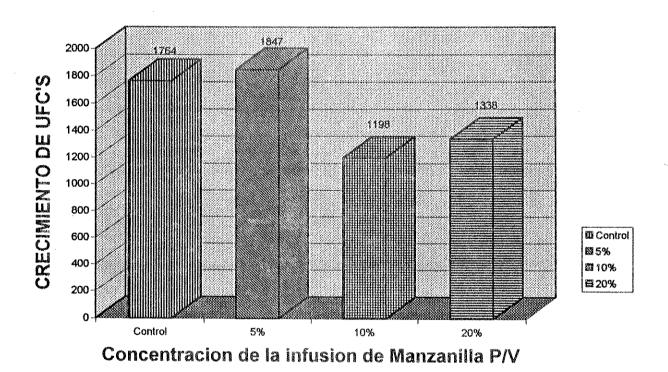
Se observó un crecimiento de 1764 UFC's en la siembra control. Hubo un crecimiento de 1847 UFC's con la infusión de Manzanilla al 5%. Al 10% se tuvo un crecimiento de 1198 UFC's. Y al 20% hubo un crecimiento de 1338 UFC's.

*UFC's: unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 1

(Estudio A, S. Mutans)

Conteo de UFC's de Streptococus mutans, cultivo control diluido 1: 1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

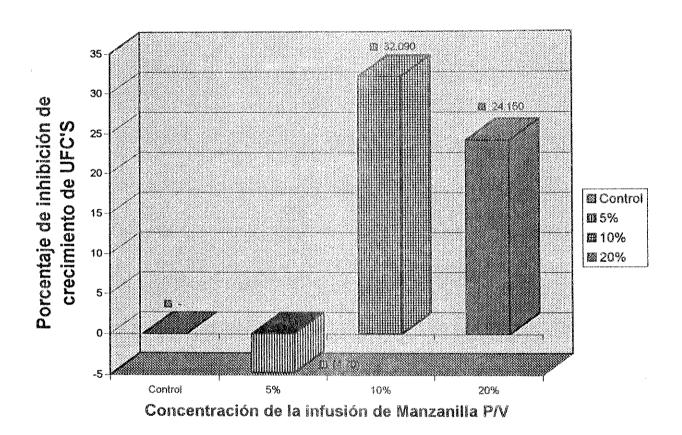


Se puede observar que la siembra control tuvo un crecimiento de 1764 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue 1847 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 1198 UFC's. Al 20% hubo un crecimiento de 1338 UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 2 (Estudio A, <u>S. Mutans</u>)

Porcentaje de inhibición de crecimiento de UFC's de Streptococcus mutans, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



Se observa que con el cultivo control tuvo un 0% de inhibición de crecimiento de UFC's. Con la concentración al 5%, la inhibición de crecimiento fue de -4.70%. Al 10% se tuvo una inhibición de crecimiento de 32.09% UFC's y al 20% una inhibición de crecimiento de 24.15%.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

Cuadro 2

(Estudio B, S. mutans)

Conteo de UFC's* de <u>Streptococcus mutans</u>, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

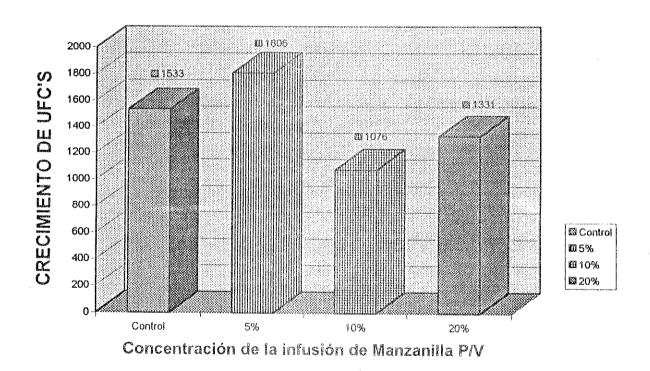
	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1533	100	0
Concentra- ción de la infusión manzanilla			
5%	1806	117.81	-17.81
10%	1076	70.19	29.81
20%	1331	86.82	13.18

Se observó un crecimiento de 1533 UFC's en la siembra control. Hubo un crecimiento de 1806 UFC's con la infusión de Manzanilla al 5%. Al 10% se tuvo un crecimiento de 1076 UFC's. Y al 20% hubo un crecimiento de 1331 UFC's.

*UFC's: unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 3 (Estudio B, <u>S. Mutans</u>)

Conteo de UFC's de Streptococcus mutans, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

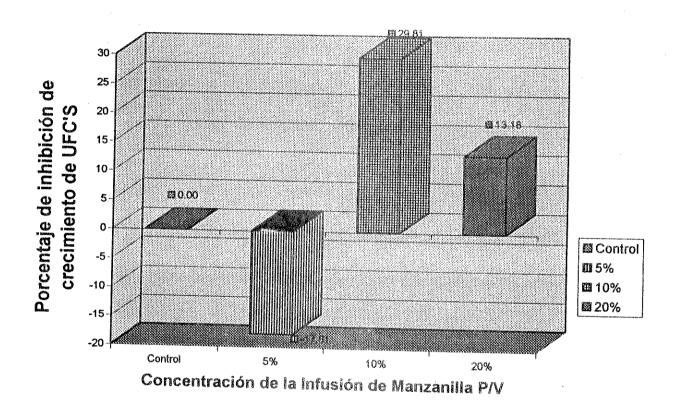


Se puede observar que la siembra control tuvo un crecimiento de 1533 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue de 1806 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 1076 UFC's y al 20% hubo un crecimiento de 1331 UFC's.

^{*}UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 4 (Estudio B, <u>S. Mutans</u>)

Porcentaje de inhibición de crecimiento de UFC's de Streptococcus mutans, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



Se observa que con el cultivo control tuvo un 0% de inhibición de crecimiento de UFC's. Con la concentración al 5%, la inhibición de crecimiento fue de -17.81%. Al 10% se tuvo una inhibición de crecimiento de 29.81% UFC's y al 20% una inhibición de crecimiento de 13.18% UFC's.

^{*}UFC's: Unidades formadoras de colonias.

Cuadro 3

(Ketudio A, L. acidophillus)

Conteo de UFC's* de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1582	100	0
Concentra- ción de la infusión manzanilla			
5%	873	55.18	44.82
10%	834	52.72	47.28
20%	1005	63.53	36.47

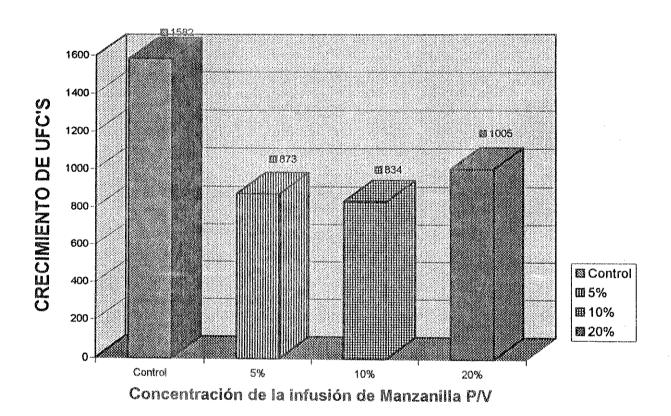
Se observó un crecimiento de 1582 UFC's en la siembra control. Hubo un crecimiento de 873 UFC's con la infusión de Manzanilla al 5%. Al 10% se tuvo un crecimiento de 834 UFC's. Y al 20% hubo un crecimiento de 1005 UFC's.

*UFC's: unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 5

(Estudio A, L. acidophillus)

Conteo de UFC's de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



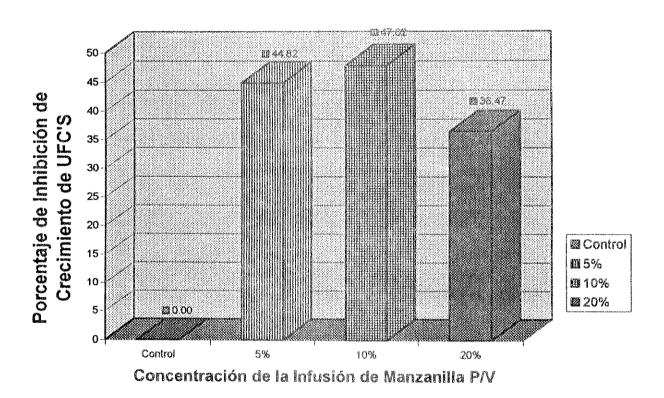
Se puede observar que la siembra control tuvo un crecimiento de 1582 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue de 873 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 834 UFC's. Al 20% hubo un crecimiento de 1005 UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias

GRAFICA 6

(Estudio A, L. acidophillus)

Porcentaje de inhibición de crecimiento de UFC's de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



Se observa que con el cultivo control tuvo un 0% de inhibición de crecimiento de UFC's. Con la concentración al 5%, la inhibición de crecimiento fue de 44.82%. Al 10% se tuvo una inhibición de crecimiento de 47.28% UFC's. Y al 20% una inhibición de crecimiento de 36.47%.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

Cuadro 4

(Estudio B, L. scidophillus) .

Conteo de UFC s* de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1893	100	0
Concentra- ción de la infusión manzanilla		reconstruction (and the control of t	
5%	895	47.28	52.72
10%	850	44.90	55.10
20%	1063	56.15	43.85

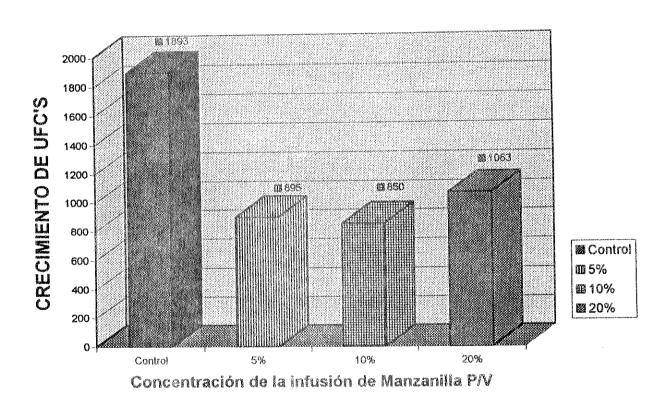
Se observó un crecimiento de 1893 UFC's en la siembra control. Hubo un crecimiento de 895 UFC's con la infusión de Manzanilla al 5%. Al 10% se tuvo un crecimiento de 850 UFC's. Y al 20% hubo un crecimiento de 1063 UFC's.

*UFC's: unidades formadoras de colonias.



GRAFICA 7 (Estudio B, <u>L. acidophillus</u>)

Conteo de UFC's de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



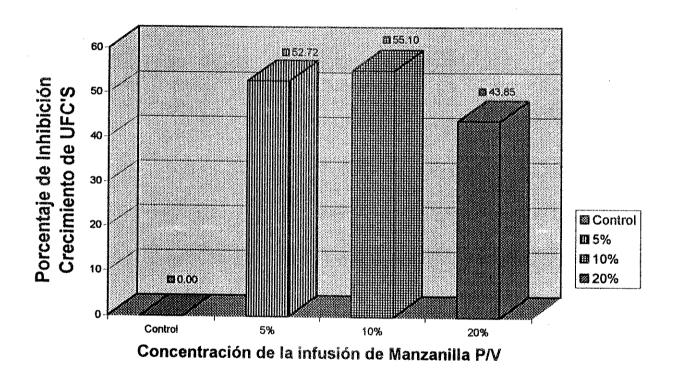
Se puede observar que la siembra control tuvo un crecimiento de 1893 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue de 895 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 850 UFC's. Al 20% hubo un crecimiento de 1063 UFC's.

^{*}UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 8

(Estudio B, L. acidophillus)

Porcentaje de inhibición de crecimiento de UFC's de Lactobacilius acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



Se observa que con el cultivo control tuvo un 0% de inhibición de crecimiento de UFC's. Con la concentración al 5%, la inhibición de crecimiento fue de 52.72%. Al 10% se tuvo una inhibición de crecimiento de 55.10% UFC's y al 20% una inhibición de crecimiento de 43.85% UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

Cuadro 5

(Promedio de estudios A y B de S. mutans)

Promedio del conteo de UFC's de Streptococcus mutans de los estudios A y B. Cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1648	100	O
Concentra- ción de la infusión manzanilla			
5%	1826	110.80	,-10.80
10%	1137	68.99	31.01
20%	1334	80.95	19.05

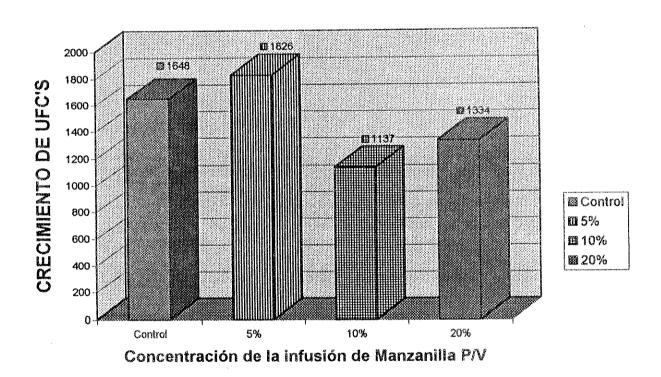
Los promedios de crecimiento fueron para la siembra control 1648 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, 1826 UFC's.
Al 10 % fue de 1137 UFC's y al 20% de 1334 UFC's.

*UFC's: unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 9

(Promedio de crecimiento de UFC's de <u>S. mutans</u>, de los estudios A y B.)

Promedio del conteo de UFC's de Streptococcus mutans, de los estudios A y B. Cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

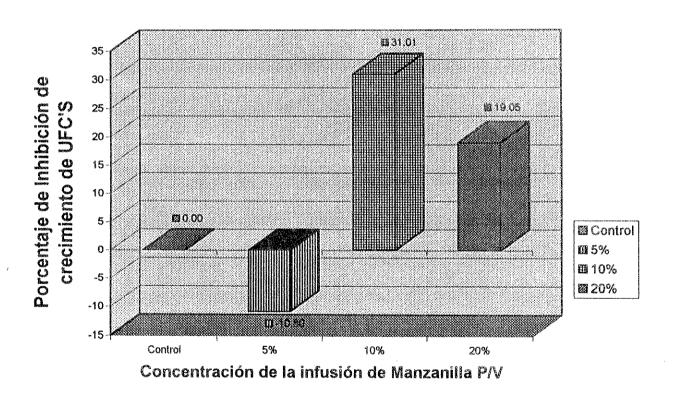


En la gráfica se observa que el promedio de siembra control fue de 1648 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue de 1826 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 1137 UFC's. Al 20% hubo un crecimiento de 1334 UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 10 (Promedio de estudios A y B, <u>S. Mutans</u>)

Promedio de porcentajes de inhibición de crecimiento de UFC's de Streptococcus mutans, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



El promedio de porcentaje de inhibición de crecimiento para el cultivo control fue 0%. Para la concentración al 5% fue de -10.8% UFC's. Para la concentración al 10% fue de 31.01% y la de 20% fue de 19.05% UFC's.

^{*}UFC's: Unidades formadoras de colonias.

Cuadro 6

(Promedio de estudios A y B de L. acidophillus)

Promedio del conteo de UFC's de Lactobacillus acidophillus de los estudios A y B. Cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

	Crecimiento de No. de UFC'S	Porcentaje de creci- miento	Porcenta- je de in- hibición
Siembra con- trol	1738	100	0
Concentra- ción de la infusión manzanilla			
5%	884	50.86	49.14
10%	842	48.44	51.56
20%	1034	59.49	40.51

Los promedios de crecimiento fueron para la siembra control 1738 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, 884 UFC's. Al 10 % fue de 842 UFC's y al 20% de 1034 UFC's.

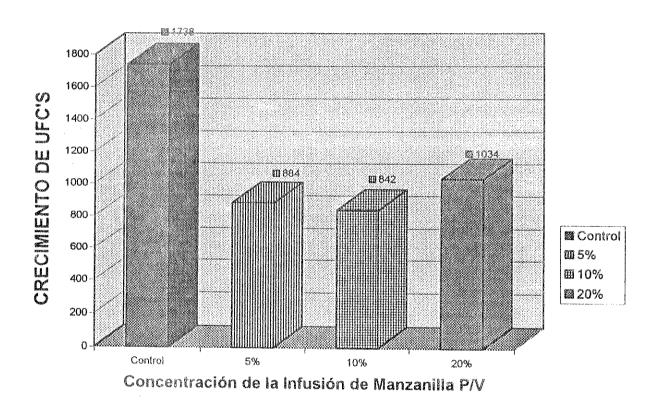
*UFC's: unidades formadoras de colonias.



GRAFICA 11

(Promedio de crecimiento de UFC's de <u>L. acidophillus</u>, estudios A y B)

Promedio de conteo de UFC's de Lactobacillus acidophillus, de los estudios A y B. Cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.

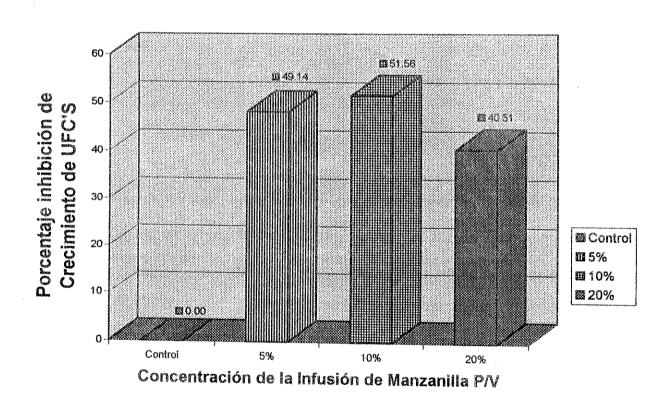


En la gráfica se observa que el promedio de siembra control fue de 1738 UFC's, con la infusión de Manzanilla al 5%, el crecimiento fue de 884 UFC's. Al 10% se tuvo un crecimiento de 842 UFC's. Al 20% hubo un crecimiento de 1034 UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

GRAFICA 12 (Promedio de Estudios A y B, <u>L. acidophillus</u>)

Promedio de porcentajes de inhibición de crecimiento de UFC's de Lactobacillus acidophillus, cultivo control diluido 1:1000 en agua tridestilada; los demás valores reflejan la misma dilución pero hecha con la infusión de Manzanilla.



El promedio de porcentaje de inhibición de crecimiento para el cultivo control fue de 0% UFC's. Para la concentración al 5% fue de 49.14%. Para la concentración al 10% fue de 51.56% UFC's y la de 20% fue de 40.51% de UFC's.

*UFC's: Unidades formadoras de colonias.

DISCUSION DE RESULTADOS

La planta Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) según la literatura revisada, posee una diversidad de acciones farmacológicas, entre ellas puede mencionarse que es antiinflamatoria, carminativa, espasmolítica, ligeramente sedante, antiséptica y antimicrobiana entre otros. Tiene diversidad de usos medicinales, se recomienda para gastritis, ulcus gastroduodenal, colitis, espasmos gastrointestinales, inapetencia, vómitos, digestiones lentas, disquinesia biliar, nerviosismo, insomnio, dolor de cabeza, dolor menstrual, diarrea nerviosa, parasitismo intestinal y asma bronquial. El principio amargo es responsable de su actividad aperitiva, digestiva y colerética. En uso externo es oftálmica y antiséptica.

Específicamente para la cavidad bucal se ha utilizado para inflamaciones (1,13), estomatitis (1) e irritación de la boca y garganta (4). De acuerdo al procedimiento empleado, en este estudio, se encontró que efectivamente posee acción antimicrobiana. En la literatura consultada se reportó su acción antimicrobiana, pero no específicamente contra agentes de la cavidad bucal, lo cual es importante hacer notar, ya que los resultados obtenidos demuestran dicha acción contra los microorganismos que causan la caries dental.

De los dos microorganismos que fueron objeto de este estudio, el <u>Lactobacillus acidophillus</u> fue mucho más susceptible al efecto antimicrobiano de la planta. El <u>Streptococcus</u> mutans fue más resistente, ya que el crecimiento de colonias

del mismo fue mayor.

En lo que respecta al Lactobacillus acidophillus con la concentración al 5% y al 10%, hay una relación directa entre la concentración de la planta y el efecto inhibitorio. Es decir a mayor concentración, mayor inhibición, por lo que la concentración al 10% fue la más efectiva. Con la concentración al 20% la inhibición decreció, siendo esta la menos efectiva ya que se obtuvo mayor crecimiento de colonias del que se obtuvo con la concentración al 5%.

Es interesante mencionar que con la concentración al 5% se estimuló el crecimiento del Streptococcus mutans. superando al de la siembra control con agua tridestilada. A partir de la concentración al 10% hay una relación inversamente proporcional, es decir a mayor concentración hay menor inhibición del microorganismo, ya que con la concentración al 20% se obtuvo menor inhibición que con la concentración al 10%. Se puede notar que existe una marcada diferencia en el efecto de la planta entre las concentraciones al 5% y al 10%.

Estos resultados obtenidos demuestran que los componentes de la planta a diferentes concentraciones no tienen el mismo efecto para cada uno de los microrganismos estudiados, la concentración al 10% fue la más efectiva al inhibir el crecimiento de ambos microorganismos, por lo que se acerca a lo que sería la concentración mínima ideal para su aplicación clínica.

No se puede explicar con exactitud el efecto antimicrobiano observado con esta planta, ya que no se hicieron estudios de esta índole.

No se cree que exista algún efecto mutagénico ya que las características macroscópicas de las colonias de las bacterias utilizadas no sufrieron ninguna variación, aunque esto todavía será un motivo de estudio en el futuro.

Las colonias de <u>Streptococcus mutans</u> que se utilizaron no muestran las características que se refirieron en la literatura (3,6), ya que se trata de especies diferentes del mismo tipo de género de Streptococcus.

Los estudios realizados con anterioridad se basaron en la ausencia de formación de polímero en un medio líquido combinado con la infusión, lo cual demostraba la inhibición del crecimiento. También se comprobó que el medio de cultivo puede interferir con los principios de la planta, anulando o afectando su efecto antimicrobiano.

Con este estudio los microorganismos tuvieron un contacto directo con la infusión, la cual si se utilizara en colutorios en la cavidad bucal, probablemente tendría un contacto directo similar con los microorganismos ahí contenidos.

Es importante mencionar que el efecto antimicrobiano pudo ser cuantificado, lo cual da una mayor consistencia y reproducibilidad, que si sólo se obtuvieran resultados descriptivos.

CONCLUSIONES

- 1. La concentración al 5% estimula el crecimiento del <u>Streptococcus</u> mutans e inhibe el crecimiento del <u>Lactobacillus</u> acidophillus.
- Se demostro que la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados.
- 3. La concentración al 20% para el Lactobacillus acidophillus, tuvo el menor efecto inhibitorio de las tres concentraciones empleadas. Al Streptococcus mutans logró inhibirlo pero no tan efectivamente como con la concentración al 10%.
- 4. Los <u>Streptococcus</u> mutans demostraron tener una mayor resistencia al efecto antimicrobiano de la infusión, comparado con el <u>Lactobacillus</u> acidophillus.
- 5. Por ser un recurso natural y de fácil acceso, la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) podría convertirse en un futuro un método para la prevención de la caries dental, económico y al alcance de la población guatemalteca.
- 6. Los resultados obtenidos en este estudio son más exactos que los procedimientos usados en el pasado, ya que se realizó en duplicado para obtener más consistencia y pudo ser cuantificado con precisión.

RECOMENDACIONES

- Investigar los principios activos contenidos en la Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) que causan la inhibición observada en este estudio.
- 2. Encontrar la concentración mínima ideal de la infusión con flores de Manzanilla (Matricaria chamomilla L.) que logre la inhibición de crecimiento de los microorganismos que fueron objeto de este estudio.
- 3. Seguir realizando estudios con plantas medicinales para la prevención de enfermedades bucales que sean eficaces y al alcance de la población guatemalteca.
- 4. Trabajar en conjunto con otras facultades universitarias sobre un posible proyecto de elaboración de fórmulas farmacológicas con los principios activos de plantas medicinales que causen inhibición de microorganismos causantes de la caries dental.
- 5. Dar a conocer a la población guatemalteca el contenido de estos trabajos de investigación de tesis, cuando estos estudios se hayan terminado y esté demostrada su efectividad, así como que no causen efectos secundarios ni reacciones tóxicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1. Arteche G, Alex. <u>Fitoterapia</u>, <u>vadecum de preescripción</u>. Bilbao, Cita, 1992. pp 212-213.
- 2. Bayley, S. <u>Diagnóstico microbiológico</u>. 6a. ed. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1973. pp 16,314.
- 3. Bral, M. y C.N. Brownstein. Antimicrobianos en la prevención y tratamiento de las enfermedades periodontales. en: Periodontología. México, Nueva Editorial Interamericana, 1988. pp 227-251. (Clínicas Odontológicas de Norte América, v.32, n.2)
- 4. British Herbal Medicine Association. British herbal pharmacopeia. 3a. ed. Londres, 1989. pp 139.
- 5. Buron, K. y R. William. <u>Micribiología</u>. México, Universal, 1976. pp 525-531.
- 6. Burnett, G. <u>Microbiología y enfermedades infecciosas</u>
 de la boca. México, Limusa, 1986. pp 21,22,43,46,
 277,289,306,308.
- 7. Campos Rodríguez, H. <u>Cuantificación simplificada de la placa bacteriana</u>. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1982. 87p.
- 8. Carranza, F.A. <u>Periodontología clínica de Glickman.</u> 6a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1986. pp 386-389.
- 9. CEMAT. Fichas populares sobre plantas medicinales. 2a. ed. Guatemala, CEMAT, 1988. pp 45-47.
- 10. Cuenca, E., C. Manau y Ll. Serra. Manual de odontología preventiva y comunitaria. Madrid, Masson, 1991. pp 124-135, 261-262.
- 11. Donado Rodríguez, D.E. Efecto del extracto de Cimbopongon citratus (Te de limón) sobre la formación de
 placa bacteriana por estudio In vitro. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San
 Carlos, Facultad de Odontología, 1991. 46p.

- 12. Donado Torres, J.S. <u>Efecto del extracto de semilla de</u> aguacate (<u>Persea americana</u>) en la inhibición de la <u>placa bacteriana</u>. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. 54p.
- 13. Fichas populares sobre plantas medicinales. 2a. ed. Guatemala, Farmaya, S.A., 1990. pp 103-106.
- García B, H. <u>Flora medicinal de Colombia</u>. Bogotá, Universidad Nacional, Instituto de Ciencias Naturales. 1975. N. 3, pp 45.
- 15. González Rodas, M.S. <u>Efecto del extracto de nance sobre la formacion In Vitro de la placa dentobacteriana.</u>
 Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1991. 52p.
- 16. Guatemala, Universidad de San Carlos, Dirección General de Investigación. Tamizade de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Guatemala, 1989. pp 75-77. (Cuadernos de Investigación, DIGI, N. 6-89.
- 17. 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.
- Jawetz, E. <u>Microbiología médica</u>. 14ava. ed. México, Nueva Editorial Interamericana, 1983. pp 2-6, 314-341.
- 19. Katz, S. Odontología preventiva en acción. Buenos Aires. Médica Panamericana, 1975. 451p.
- 20. Lindhe, J. <u>Periodontología clínica</u>. Buenos Aires, Médica Panamericana, 1986. pp 87-89.
- 21. López Acevedo, C. <u>Manual de patología oral.</u> Guatemala, Universitaria, 1984. pp 207, 211-215. Colección Aula, Vol. 16.
- 22. Milián Rojas, E.E. <u>Efecto del extracto de corteza de encino sobre la formación de la placa bacteriana.</u>
 Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1988. 45p.

- 23. Morán Yañez, M. Prevalencia de inflamación gingival en adolescentes escolares de 12 a 14 años con dentición permanente, investigación realizada por estudiantes de E.P.S. en diferentes regiones de Guatemala, correspondiente a los años 1983, 1984, 1985 y 1986. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1990, 50p.
- 24. Newburn, E. <u>Cariología</u>. Traducido por: Ana Pérez Calderón. México, Limusa, 1984. pp 23-25, 77, 104-106, 361-362.
- 25. Nolte, W. Oral microbiology. St. Louis, Mosby, 1977. pp 33-119, 309-310.
- 26. Noriega, C. Estudio epidemiológico de la enfermedad periodontal en tres grupos distintos de escolares de la población guatemalteca. Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. 1990. 50p.
- 27. Palomo R, P. Informe final de E.P.S. en Centro Guatemalteco de Información de Plantas Medicinales de julio 1991 a enero 1992. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1992. s.p.
- 28. Ralón Carranza, R.V. Efectos de la acción de extractos de cuatro especies de encino (Quercus sp) sobre la adherencia de dextrano y el Estreptococo mutans. Tesis (Cirujao Dentista), Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología, 1990. 38 p.
- 29. Regezzi, J.A. y J.J. Sciuba. <u>Patología bucal</u>. Traducido por: Sonia Scheider Ricas y Manuel Antonio Palacios, México, Nueva Editorial Interamericana. 1991. pp 93, 511-523
- 30. Ross, P. y P. Holbrock. <u>Microbiología bucal y clínica.</u>
 Traducido por: María del Rosario Corsolio Pacheco.
 México, Científica, 1987. pp 5,6,81-85.
- 31. Steele, P.F. <u>Dimensión of dental hygiene</u>, 3a. ed. Philadelphia, Lea & Febigis, 1982, 549p.
- 32. Shafer, W.G. y B.M. Levy. <u>Tratado de patología bucal.</u>
 4a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana,
 1986. pp 415-419.
- 33. <u>Usos de plantas medicinales.</u> México, Editorial Arbol, 1988. pp 56-57.

- 34. Valdez Marckwordt, F.J. <u>Efecto del extracto de Acacia</u>
 Farnesiana (Subin) sobre la formación de la placa
 bacteriana por el Estreptococo mutans. In Vitro.
 Tesis (Cirujano Dentista), Guatemala, Universidad de
 San Carlos, Facultad de Odontología, 1991.
- 35. Zinsser, H. <u>Microbiología</u> 18ava. ed. Buenos Aires, Hispanoamericana, 1987. pp 711-713.
- 36. Zinsser, H. Bacteriología. 2a. ed. México, Hispanoamericana, 1960. pp. 455-459.

Vo. Boi Lie Canonia Ca



LUISA MARIA MIRON CARCAMO SUSTENTANTE

DR. ALFONSO DE LEON GODOY ASESOR

DR. RAUL RALON CARRANZA ASESOR

DRA. SOFIA CALLEJAS RIVERA COMISION DE TESIS

DR. VICTOR HUGO LIMA S. COMISION DE TESIS

IMPRIMASE

DR. CARLOS ALVARADO CEREZO SECRETARIO

Biblioteca Co