



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA



EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE ARÁNDANO EN ENJUAGUE BUCAL SOBRE  
MICROORGANISMOS EN SALIVA

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

pQFB. ILSE GONZALEZ LARA

DIRECTOR DE TESIS

MC. OSCAR PÉREZ TORIZ

PUEBLA, PUEBLA JUNIO 2015

## INDICE

- **Resumen .....1-2**
  - **Introducción**
  
- **Marco teórico..... 3- 7**
  - **Rol de la saliva en la caries.**
  - **Etiología de la caries dental y enfermedad periodontal.**
  - **Enjuagues bucales.**
  - **Arándano.**
  - **Arándano y caries dental.**
  - **Antiadherencia bacteriana.**
  
- **Componentes moleculares del arándano..... 8**
  - **Polifenoles.**
  - **Efectos de los polifenoles sobre los microorganismos orales.**
  
- **Marco de referencia..... 9 - 10**
  
- **Planeamiento del problema..... 11**
  
- **Justificación..... 12**
  
- **Objetivo..... 13**
  - **Objetivo general.**
  - **Objetivo específicos.**
  
- **Hipótesis..... 13**
  - **Hipótesis nula**
  - **Hipótesis alterna.**
  
- **Tipos de estudio.....14 - 15**
  - **Universo de trabajo.**
  - **Técnica para controlar las diferencias entre sujetos.**
  - **Técnica para controlar las diferencias situacionales.**
  - **Tamaño de muestras.**
  - **Características del grupo experimental.**
  - **Característica del grupo control**
  - **Criterios de inclusión.**
  - **Criterios de no inclusión**
  - **Criterios de exclusión**

• Especificación de variables.....	15
- Variables independiente	
- Variable dependiente	
- Indicador de variable dependiente	
- Escala de medición de las variables (tabla 2)	
• Materiales.....	16
• Metodología.....	17 - 20
- Métodos	
- Muestra	
- Procedimiento	
- Procedimientos del laboratorio	
- Procedimiento estadísticos	
- Estadística inferencial	
• Esquema de trabajo general.....	21
• Esquema de identificación de <i>Streptococcus mutans</i> .....	22
• Esquema de identificación bacteriana.....	23
• Resultados.....	24-35
- Cálculos estadísticos	
• Discusión.....	36-37
• Conclusiones.....	38
• Bibliografía.....	39-40
• ANEXOS.....	41
- Anexo 1.....	42
- Anexo 2.....	43
- Anexo 3.....	44
- Anexo 4.....	45
- Anexo 5.....	46-50
- Anexo 6.....	51
- Anexo 7.....	52-60

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios:** le doy gracias por darme la oportunidad de terminar mi carrera, por tomar el control de mi vida, por no dejarme sola y por brindarme cada día las ganas de salir a delante y comenzar otra etapa más en mi vida.

**A mis padres:** porque me dieron la vida llena de amor, brindándome su apoyo moral e incondicional, por sus sacrificios constante que desde siempre he recibido de ustedes y con el cual he logrado culminar mi esfuerzo, terminando así mi carrera profesional, que es para mí la mejor de las herencias.

† **A mis Abuelitos:** porque antes de partir me transmitieron las enseñanzas necesarias para poder superar cualquier obstáculo que tuviera en la vida y agradecida estoy, por haberme dado unos **Padres maravillosos!!**

**A mis hermanos:** porque han sido mis amigos incondicionales... **¡Los Quiero!**

**A mi director de tesis (“mi apá”):** por ser esa persona que todo comprende y dan lo mejor de sí mismos sin esperar nada a cambio porque sabes escuchar y brindar ayuda cuando es necesario, gracias a su cariño, guía y apoyo he llegado a realizar unos de los anhelos más grandes de mi vida.

**A mi bello Principito (ANGEL):** al primer tesorito de la familia, este logro también le pertenece.

**A comisión revisora y a mis maestros:** siendo esta la etapa más importante de mi vida y agradeciendo todo el esfuerzo y dedicación que me ha brindando a lo largo de esta dura jornada quiero agradecerles por guiar mis pasos hacia el conocimiento.

## Resumen:

La presencia de bacterias en cavidad oral puede formar biofilm, responsable de las caries y enfermedades periodontales, representando gran resistencia frente a los antimicrobianos, principalmente *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sabrinus*.

Para que los agentes antimicrobianos optimicen su efectividad debe realizarse la prevención y control de caries por medios mecánicos, químicos y más reciente medios biológicos.

Los agentes mecánicos como el cepillado dental, la profilaxis, abrasión dental fisiológica, los selladores de fosetas y fisuras son los más importantes. Los agentes químicos más empleados son: el flúor, la clorhexidina, fluoruro de diamino de plata y la yodopovidona. Los biológicos como los pro-bióticos que modifican la estructura interna de la placa dental.

El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad del arándano como solución colutorio o enjuague bucal para la disminución de bacterias generadoras de caries.

El estudio fue prospectivo, longitudinal, comparativo, experimental y ensayo clínico aleatorio, el tamaño de la muestra correspondió a los 30 adultos jóvenes con edad comprendida entre 17 y 26 años, ambos sexos, formando aleatoriamente 2 grupos de 15 denominado grupo control (**placebo**) y grupo experimental (**arándanos**), obteniendo en total 150 muestras recolectadas durante 5 semanas (30 muestras por semana).

Los resultados de este estudio mostraron que el efecto inhibitorio del extracto de arándano tuvo diferencia significativa entre ambos grupos al ser usado como enjuague bucal, si bien se observaron casos de reducciones importantes en el crecimiento bacteriano de la muestras. Estos hallazgos coinciden con el reportado por Padilla A, Muñoz R, Pérez O, 2012, que evidenciaron el efecto inhibitorio in vitro del extracto puro de arándano sobre microorganismo en saliva de niños.

## INTRODUCCIÓN

Existen más de 750 especies de bacterias que habitan en la cavidad oral humana, pero sólo una pequeña fracción de aquellas se atribuyen a la formación de placa causando enfermedades relacionadas tales como la caries. Principalmente *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* asocian con el inicio y progresión de la caries.<sup>21</sup>

Los agentes antimicrobianos para la prevención y control de la caries se pueden clasificar en mecánicos, químicos y más recientemente medios biológicos. Los agentes mecánicos como el cepillado dental, la profilaxis, abrasión dental fisiológica y los selladores de fosetas y fisuras son los más importantes. Los agentes químicos más empleados son: el flúor, la clorhexidina, fluoruro de diamino de plata y la yodopovidona. Los biológicos como los probióticos que se usan para modificar la estructura interna de la placa dental.<sup>21</sup>

*Streptococcus mutans* presenta la propiedad patogénica de adherirse a la superficie dental y generar ácidos que causan la desmineralización de los tejidos duros del diente. La adhesión de *Streptococcus mutans* al esmalte dental ocurre por medio de la producción de polímeros extracelulares solubles e insolubles, sintetizados a partir de carbohidratos, los cuales en su conjunto se les conoce como biofilm.<sup>15</sup>

La placa dental forma una vía ordenada de eventos secuenciales que resultan en una estructura y función organizada, y las distintas etapas en la formación de la placa que incluye: formación de la película adquirida, adherencia reversible que involucra debilidad a largo plazo por medio de interacción físico-química entre la superficie de la célula y el biofilm, lo cual puede conducir a la fuerte adhesión-receptor mediada por la co-adhesión resultante como característica de colonias secundarias alrededor de las células, así como la multiplicación de biofilm.<sup>16</sup>

Se considera que *Streptococcus mutans* es sensible a varios agentes antimicrobianos utilizados en colutorios orales, principalmente el flúor, la clorhexidina y triclosán. Estos se emplean en el tratamiento de pacientes con alto número de *Streptococcus mutans* en la cavidad oral, con el propósito de reducir su número, inhibir su crecimiento y evitar la generación de caries.<sup>15</sup>

El presente trabajo busca la determinación de la actividad del arándano como solución colutorio o enjuague bucal para la disminución de bacterias generadoras de caries en una población estudiantil de la ciudad de Tlaxcala, (Alumnos de Odontología de primer semestre de la Universidad Autónoma de Tlaxcala).

## Marco teórico:

- **Rol de la saliva en la caries**

La saliva es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y menores en el 7 % restante. Es estéril cuando sale de las glándulas salivales, pero deja de serlo inmediatamente cuando se mezcla con el fluido cervical, resto de alimentos, microorganismos, células descamadas de la mucosa oral, etc.

La secreción diaria oscila entre 500 y 700 mL, con un volumen medio en la boca 1mL. Su producción está controlada por el sistema nervioso autónomo. En reposo, la secreción oscila entre 0,25 y 0,35 mL/mn y produce sobre todo de las glándulas submandibulares y sublinguales. Ante estímulos sensitivos, eléctricos o mecánicos, el volumen puede hasta 1,5 mL/mn. En mayor volumen salival se produce antes, durante y después de las comidas, alcanza su pico máximo alrededor de las 12 del mediodía y disminuye de forma muy considerable por la noche, durante el sueño.

La saliva juega un importante papel en el mantenimiento del equilibrio de los ecosistemas orales, lo cual es fundamental en el control de la caries dental.

La función de mantenimiento del balance de la micro-flora oral que ejerce la saliva, se debe a la presencia de algunas proteínas, las cuales son constituyentes esenciales de la película adquirida, favorecen la agregación bacteriana, son fuente de nutrientes para algunas bacterias y ejercen un efecto antimicrobiano gracias a la capacidad de algunas de ellas de modificar el metabolismo bacteriano y la capacidad de adhesión bacteriana a la superficie del diente.

Así pues, el uso de la saliva como alternativa para el diagnóstico o como elemento para monitorizar la evolución de determinadas enfermedades o la dosificación de determinados medicamentos es una vía prometedora, para el diagnóstico, por otro lado la accesibilidad para obtener la muestra es una de las ventajas que ofrece la saliva como instrumento diagnóstico.<sup>4</sup>

- **ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL Y ENFERMEDAD PERIODONTAL**

La cavidad bucal alberga uno de los más complejos ecosistemas microbianos presentes en los seres humanos. Se estima que más de 750 especies de bacterias colonizan los diferentes sitios dentro de la cavidad oral. El biofilm que se desarrolla en los tejidos duros y blandos de la cavidad oral está compuesta de bacterias, células epiteliales, proteínas, enzimas y restos de comida, todo de los cuales se integran en una matriz extracelular de los polisacáridos. El biofilm representa la fuente de las 2 condiciones principales de origen bacteriano que se producen en la cavidad bucal: caries dental y la enfermedad periodontal.<sup>18</sup>

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas más comunes entre los seres humanos. Es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por la desmineralización ácida del diente en el esmalte. Los ácidos orgánicos producidos por bacterias cariogénicas, incluyendo *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, después de la fermentación de azúcares de los alimentos principalmente sacarosa reducen el pH del biofilm a menos de 5.5. Tales condiciones ácidas son favorables a la disolución del esmalte dental.<sup>18</sup>

- **ENJUAGUES BUCALES**

Los enjuagues bucales como agentes químicos terapéuticos son muy aceptados por el público por su fácil administración y porque pueden ser usados bajo su propia supervisión.<sup>4</sup> La formulación de un enjuague bucal es generalmente mucho más simple que la de los dentífricos; algunos tipos de enjuagues tienen ingredientes activos que han sido evaluados por su efectividad en la reducción de placa y de *Streptococcus mutans*, sin embargo, muchos estudios han demostrado que la efectividad de los agentes anti placa y para prevenir la caries dental, y con excepción de los que contienen clorhexidina es muy limitada.<sup>4</sup>

Respecto a la regulación de los enjuagues bucales la FDA clasifica a los enjuagues como cosméticos, terapéuticos o una combinación de los dos. Los enjuagues contienen productos cuya principal intención es un aliento fresco. Los enjuagues terapéuticos son vendidos bajo prescripción, contienen ingredientes activos específicos y son vendidos como anti placa/anti-gingivitis/anticaries.<sup>4</sup>

- **ARÁNDANO**

El arándano (*Vaccinium macrocarpon*) es un fruto grande que ha sido clasificado por los taxónomos dentro de la familia *Ericaceae* y del género *Vaccinium*. Dentro de las características del fruto, este corresponde a una baya de color rojo, que cuando madura alcanza un diámetro de 1 a 2 cm con su interior hueco. El color de la fruta varía entre rosado muy pálido o amarillo, hasta un rojo púrpura oscuro. Crece en las regiones frías del noreste de América del Norte y es una de las 3 frutas originales de esta región, los otros dos son la uva Concord y el arándano (*Vaccinium spp*). Los arándanos se venden principalmente en forma de productos secos, frutas secas, jugos y polvos encapsulados. El extracto de arándano es particularmente rico en polifenoles, flavonoides, que tienen propiedades biológicas que pueden ser beneficiosos para la salud humana.<sup>10</sup>

Los componentes del arándano rojo americano tienen agentes anticaries que inhiben la producción de ácidos y la formación de la placa, ya que afectan a las glicoproteínas, las enzimas extracelulares, la producción de hidratos de carbono y la hidrofobicidad bacteriana.

En relación con las enfermedades periodontales, la misma fracción de *Vaccinium macrocarpon* inhibe la producción y actividad de enzimas que causan la destrucción de la matriz extracelular, la formación de la placa y la adherencia de *Porfiromonas gingivales*, así como la actividad proteolítica y la congregación de los patógenos. En resumen, los efectos mencionados sugieren que ciertos componentes del arándano rojo americano, en especial los de alto peso molecular, son moléculas bioactivas que pueden ser útiles en la prevención y el tratamiento de enfermedades orales.<sup>10</sup>

El último estudio realizado tanto *in vivo* como *in vitro*, desarrollado por investigadores israelíes con un colutorio a base de extracto de *Vaccinium macrocarpon* en la higiene diaria, señala que puede reducir sustancialmente la presencia de bacterias orales:

Varios de los estudios realizados han usado una fracción del arándano llamado material no dializable (NDM), que se obtiene mediante la diálisis del zumo de arándano rojo concentrado. El análisis químico de NDM ha revelado que contiene aproximadamente 65% de proantocianidinas (PAC) junto con una cantidad pequeña (0.35%) de antocianinas. Howell y cols. Determinaron que las PAC oligoméricas aisladas a partir del arándano inhiben la adhesión "in vitro" de *Escherichia coli* a las células uroepiteliales y por lo tanto sería responsable del efecto preventivo de infecciones del tracto urinario. Estos oligómeroproantocianidinas son los únicos que tienen un enlace doble entre las unidades de epicatequina (tipo A), mientras que la mayoría de PAC oligoméricas en otras frutas tienen un enlace simple (tipo B).<sup>20</sup>

## • ARÁNDANO Y CARIES DENTAL

En los últimos años, varios investigadores<sup>5</sup> han tratado de identificar compuestos comestibles y no tóxicos que puedan interferir con la formación de biofilm cariogénico. En este sentido, se ha demostrado que ciertos componentes del arándano pueden limitar las caries dentales mediante la inhibición de la producción de ácidos orgánicos por bacterias cariogénicas, la formación de biofilm por *S.mutans*, *S.sobrinus* y la adhesión la coagregación de un número considerable de otras especies de *Streptococos* orales.

Yamanaka y colaboradores<sup>22</sup> evaluaron el efecto del jugo de arándano sobre la capacidad de varias especies de *Streptococcus* orales para adherirse a los gránulos de hidroxiapatita que habían sido pretratados con saliva. Cuando las bacterias fueron expuestas al jugo de arándano, su adhesión a los gránulos disminuyó de manera significativa, además, la hidrofobicidad de las células disminuyó al aumentar la concentración del jugo de arándano. En el mismo estudio, los autores encontraron que la fracción del jugo de arándano NDM inhibió de 80% a 95% de la formación del biofilm, entre los estreptococos estudiados (*S. sobrinus*, *S.mutans*, *S.criceti*, *S. sanguinis*, *S. oralis* y *S. mitis*). Otros grupos como el de Labrecque J; Bodet C; Chandad F en el 2006<sup>11</sup> confirmaron la capacidad de los extractos del arándano para prevenir la formación del biofilm por *Streptococos* cariogénicos. También se ha informado que los polifenoles en los arándanos conducen a la desorción de *S.sobrinus* de un artificial biofilm dental. Estas observaciones sugieren que los polifenoles de arándano puede inhibir la colonización de superficies dentales por *Streptococos* orales y de ese modo retardar el desarrollo cariogénico del biofilm.<sup>15</sup>

En un estudio clínico, Weiss y colaboradores<sup>19</sup> investigaron el efecto sobre la salud oral de un enjuague bucal suplementado con la fracción de NDM arándano. Después de 6 semanas de uso diario del enjuague, la microflora total, significativamente hubo una reducción de *S.mutans*. En apoyo de estos resultados “in vivo”, los estudios “in vitro” mostraron que la fracción del NDM inhibe la adhesión de *S. Sobrinus* a una superficie de hidroxiapatita pretratada con saliva.<sup>19</sup>

Los polifenoles en los arándanos pueden influenciar en la formación de caries dental afectando la colonización de las superficies dentales y la producción de ácidos por las bacterias cariogénicas.<sup>19</sup>

- **ANTIADHERENCIA BACTERIANA**

Las bacterias utilizan fimbrias y pili, estructuras de superficie protéica, para adherirse a otras superficies. Estas estructuras se consideran una característica heredada<sup>3</sup> y las bacterias pueden expresar diferentes tipos de adherencias en función de la condición de cultivo. Las PAC del arándano impiden la adherencia de bacterias *E.coli* patógenas con fimbrias tipo p al tejido de células uroepiteliales. *E.coli* (UPEC) es responsable del 85% de las infecciones sintomáticas del tracto urinario<sup>2</sup>. Existen también investigaciones preliminares que dan entender que las PAC del arándano pueden impedir la adherencia de *Helicobacter pylori* a las células epiteliales del estómago. *H.pylori* provoca más del 90% de las úlceras duodenales y hasta un 80% de úlceras gástricas<sup>10</sup>. Existen pruebas de que la PAC del arándano puede impedir la adherencia de determinadas cadenas de bacterias responsables de la placa dental y gingivitis en la cavidad oral<sup>14</sup>.

La actividad adherente puede medirse *in vitro* mediante un bioensayo de hemoaglutinación de glóbulos rojos. También se puede dirigir un ensayo de aglutinación “in vitro” más específico utilizando receptores de adherencia aislados adheridos a partículas de resina<sup>24</sup>.

## • COMPONENTES MOLECULARES DEL ARÁNDANO

### POLIFENOLES

Un polifenol es cualquier sustancia, que contenga al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo. Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas con actividad antioxidante. Se clasifican en 15 clases principales y una de las clases es la familia de los flavonoides que contiene la mayor variedad de compuestos que muestran actividades farmacológicas. (fig 1)

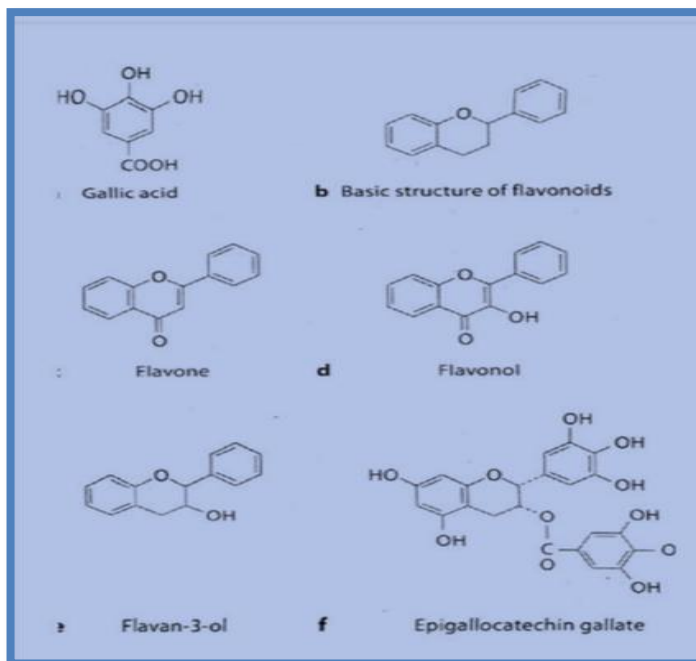


Figura 1. Estructuras representativas de los polifenoles

## • EFECTOS DE LOS POLIFENOLES SOBRE LOS MICROORGANISMOS ORALES

Las estructuras químicas básicas de tres de las principales clases de flavonoides, se encuentran en el arándano. Los flavonoles fueron en su mayoría glucosados, incluyendo al más abundante flavonol. El arándano es una de las fuentes más importantes de PAC y flavonoides. El análisis químico de los frutos de arándano americano ha revelado que contienen cuatro grupos fenólicos que incluyen ácidos fenólicos antocianinas, flavonoles, flavan 3-ol y PAC oligoméricas tipo A.<sup>5</sup>

Cuando los monómeros están unidos entre sí por un solo enlace en el anillo B, los oligómeros formados se denominan PAC de tipo B y cuando están unidos entre sí por dos enlaces en el anillo B se denominan PAC de tipo A. Las PAC de tipo A son el principio activo responsable de las actividades biológicas atribuidas al arándano.<sup>5</sup>

## MARCO DE REFERENCIA

Castillo JI. Romero I., en 2007, encontró que el arándano inhibe la adhesión de *Helicobacter pylori* a las células gástricas. Y este efecto se asocia a la presencia de compuestos fenólicos.<sup>2</sup>

Rahbar M, Diba K, en 2010, describieron el efecto terapéutico del jugo de arándano en infecciones del tracto urinario debido a la inhibición de bacterias como *Escherichia coli*, *S. aureus*, a las células uroepiteliales del tracto urinario.<sup>17</sup>

Yoo y cols. en 2011, encontraron que el arándano tiene propiedades antiadhesivas y un gran potencial como agente anti-adhesión contra *Streptococcus mutans*.<sup>21</sup>

Yamanaka y cols. En 2008 trataron *S. mutans* y *S. sobrinus*, con jugo de arándano y encontraron que redujo la hidrofobicidad de la superficie celular, la cual es un factor importante en la adherencia bacteriana, interfiriendo con la adhesión y las etapas iniciales de la formación de biopelículas. Los autores formularon la hipótesis de que los componentes del jugo de arándano pueden interactuar con proteínas hidrófobas en la superficie de la célula bacteriana. Y la reducción de la hidrofobicidad disminuye la probabilidad de adherencia. La hidrofobicidad no es el único factor que se ve afectado por el tratamiento con arándano.<sup>22</sup>

Steinberg y cols., en 2004, examinaron el efecto del material no dializable (NDM) del jugo de arándano en varios componentes de la biopelícula dental, glucosiltransferasa (GTF) y fructosiltransferasa (FTF), así como la adhesión de *Streptococcus sobrinus*. Se produjo una inhibición sobre GTF y FTF ( $P > 0,05$ ). La inhibición de adherencia de *S. sobrinus* a la hidroxiapatita fue significativo ( $P < 0,05$ ). Los autores concluyen que los resultados demostraron que puede afectar a la formación de biopelícula. Uno de los mecanismos propuestos es mediante la inhibición de la síntesis de polisacáridos extracelulares, que promueven la adhesión de sacarosa, misma que es dependiente de las bacterias orales como *S. sobrinus*.<sup>18</sup>

Duarte S. y cols., en 2006 realizaron un estudio comparando la eficacia de los tres principales polifenoles del arándano: flavonoles, antocianinas y PAC sobre los factores de virulencia implícitos en *S. mutans*. Los resultados mostraron que las PAC A2 inhibieron con mayor eficacia la glucosiltransferasa, así como los flavonoles y PAC, demostraron interferir con la actividad de las bacterias F-ATPasa, la prevención de caída del pH y la acidificación subsiguiente del medio. En última instancia los flavonoles del arándano eran capaces de suprimir las múltiples características de virulencia, mostrando que las PAC y flavonoles son los componentes activos del arándano frente a *S. mutans*.<sup>6</sup>

Gregoire S, y cols., en 2007 investigaron la influencia de varios compuestos fenólicos aislados de los frutos de arándano, sobre algunas de las propiedades de virulencia de *Streptococcus mutans*. El extracto de arándano y los hidroalcoholes

del extracto han demostrado romper la formación del biofilm de las bacterias orales y de la adherencia bacteriana sobre superficies “in vitro”. El fruto del arándano es único y rico en varias clases de compuestos fenólicos bioactivos, especialmente los flavonoides que están contruidos por C6-C3-C6 del esqueleto flavonoide, además hay 4 clases de fenoles que se han identificado en el arándano incluyendo; ácidos fenólicos, antocianidinas, flavonoides y flavon 3.<sup>8</sup>

Johnson W en 2006 y Koo H-Bonifait L., en 2010, refieren que las unidades de epicatequina de los polifenoles están unidos por un enlace de tipo A interflavan que se cree que es rígido. Este tipo de enlace es exclusivo de polifenoles encontrados en el arándano. Lo que posiblemente podría explicar la falta de actividad inhibitoria de los polifenoles en las frutas similares. Pero que no son arándano, como la manzana que contiene PAC B2 y que carece de interflavan, un tipo de vinculación.

Koo y cols., en 2010, demostraron que las PAC reducen significativamente la incidencia de caries de superficies lisas de órganos dentarios solamente con fluoruro, pero fue más eficaz en tratamiento con PAC más fluoruro. Las PAC interaccionan directamente con la membrana bacteriana, y pueden causar alteraciones de membrana que afectan a la ruta glucolítica. Las PAC y compuestos derivados del Arándano, tienen propiedades cariostáticas y, potencialmente, pueden ser desarrolladas como un complemento terapéutico para el fluoruro, el único agente anticaries probado.<sup>8</sup>

Weissel, Kozlovsky A, Steinberg D y cols., en 2004, demostraron el efecto sobre la salud oral con un enjuague bucal con arándano concentrado, después de 6 semanas de uso diario del enjuague bucal, mostró que la microflora total, en particular *S.mutans*, se redujo significativamente.<sup>19</sup>

Labrecque J., en 2006 y Yamanaka A., en 2007, demostraron que la fracción del material no dializable (NDM) de arándano inhibe la formación del biofilm por *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, 2 especies de bacterias asociadas con periodontitis crónica. La fracción del (NDM) también puede inhibir la adhesión de *Porphyromonas gingivalis* a diversas proteínas, incluyendo colágeno tipo I, y reduce la coagregación bacteriana periodontopatogena.<sup>11</sup>

Boded C, Chandad F, Grenier D y cols., en 2007 demostraron que la fracción del NDM del arándano inhibió las actividades proteolíticas. Más específicamente, los polifenoles actuaron sobre la actividad de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*. Por lo cual la fracción del NDM tiene el potencial de limitar la multiplicación de estas bacterias en las bolsas periodontales.<sup>3</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen más de 750 especies de bacterias que habitan en la cavidad oral humana, pero sólo una pequeña fracción de aquellas se atribuyen a la formación de placa causando enfermedades relacionadas tales como la caries. Principalmente *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* se asocian con el inicio y progresión de la caries.<sup>21</sup>

Los agentes antimicrobianos para la prevención y control de la caries se pueden clasificar en mecánicos, químicos y más recientemente medios biológicos. Los agentes mecánicos como el cepillado dental, la profilaxis, abrasión dental fisiológica y los selladores de fosetas y fisuras son los más importantes. Los agentes químicos más empleados son: el flúor, la clorhexidina, fluoruro de diamino de plata y la yodopovidona. Los biológicos como los probióticos que se usan para modificar la estructura interna de la placa dental.<sup>21</sup>

*Streptococcus mutans* presenta la propiedad patogénica de adherirse a la superficie dental y generar ácidos que causan la desmineralización de los tejidos duros del diente. La adhesión de *S.mutans* al esmalte dental ocurre por medio de la producción de polímeros extracelulares solubles e insolubles, sintetizados a partir de carbohidratos, los cuales en su conjunto se les conoce como biofilm.<sup>15</sup>

Los componentes del arándano rojo americano tienen agentes anticaries que inhiben la producción de ácidos y la formación de la placa, ya que afectan a las glicoproteínas, las enzimas extracelulares, la producción de hidratos de carbono y la hidrofobicidad bacteriana.

Por todo lo anterior nos surge la siguiente pregunta científica:

**¿Cuál será el efecto inhibitorio del extracto acuoso de Arándano (*Vaccinium macrocarpon*) utilizado como enjuague bucal sobre *Streptococcus mutans* en saliva de adultos?**

## JUSTIFICACIÓN

Estudios observacionales y clínicos recientes han aumentado el interés en los posibles efectos en la salud del consumo de arándano, debido al contenido fotoquímico de esta fruta. El perfil de bioactivos de arándano es rico en Proantocianidinas de tipo A (PACs) en contraste con los PAC de tipo B presentes en la mayoría de las frutas. La investigación ha sugerido una serie de mecanismos de acción de estos bioactivos. Los estudios en humanos sobre los efectos en la salud con respecto al arándano se han centrado principalmente en el tracto urinario, la salud cardiovascular, y atención también dirigida a la salud oral y gastrointestinal.<sup>7</sup>

El arándano es bien conocido por sus propiedades anti-adhesivas y su gran potencial como agente anticariogénico y antiadhesión de *S.mutans*. El potencial terapéutico del arándano fue apreciado por primera vez con *Escherichia coli*, cuando se observó que el extracto de arándano prevenía infecciones en el tracto urinario por la inhibición de la adherencia bacteriana. Muchas frutas que consumimos en nuestra dieta contienen polifenoles, pero el arándano es la única fruta que ha demostrado consistente y efectivamente la inhibición en la formación de biofilm.<sup>21</sup>

Diversos estudios in vitro han reportado los efectos del extracto de Arándano sobre *S.mutans* y *S.sobrinus* y han encontrado que este reduce la hidrofobicidad en la superficie de las células, interfiriendo con la adhesión y el estado inicial de la formación del biofilm. Los autores suponen que los componentes del extracto de Arándano pueden interactuar con las proteínas hidrofóbicas sobre la superficie celular de las bacterias. Por lo que la hidrofobicidad es un factor importante en la adhesión principal de la bacteria a la superficie, disminuyendo la probabilidad de adhesión.<sup>22</sup>

Debido a la evidencia previamente publicada por Padilla, Tzompa A. y cols en 2012, donde se demostró el efecto inhibitorio in vitro, sobre microorganismos orales, en muestras salivales de niños de 6 a 9 años. El presente estudio pretende demostrar la efectividad inhibitoria del extracto de Arándano como enjuague bucal, sobre microorganismos encontrados en saliva de adultos por medio de un ensayo clínico aleatorio.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto inhibitorio del extracto de arándano (*Vaccinium macrocarpon*), en enjuague bucal sobre *Streptococcus mutans* en saliva de adultos.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) de *Streptococcus mutans* en cavidad bucal antes de la aplicación del enjuague bucal.
2. Medir la actividad inhibitoria del extracto de arándano en enjuague bucal sobre microorganismos encontrados en la saliva, mediante la determinación de UFC de *Streptococcus mutans* en muestras tomadas en diferentes intervalos de tiempo: 1, 2, 3,4 y 5 semanas.
3. Medir la actividad inhibitoria de una solución placebo en enjuague bucal sobre microorganismos encontrados en la saliva de los sujetos en el grupo control, mediante la determinación de UFC/mL de *Streptococcus mutans* después de diferentes intervalos de tiempo: 1, 2, 3, 4 y 5 semanas.
4. Comparar la actividad inhibitoria de ambos grupos.

## HIPOTESIS

### • Hipótesis nula

El efecto inhibitorio del extracto de Arándano (*Vaccinium macrocarpon*) utilizándolo como enjuague bucal sobre microorganismos encontrados en saliva es igual al observado con enjuagues de una solución placebo.

### • Hipótesis alterna

El efecto inhibitorio del extracto de Arándano (*Vaccinium macrocarpon*) utilizándolo como enjuague bucal sobre microorganismos encontrados en saliva es mayor al observado con enjuagues de una solución placebo.

## **TIPO DE ESTUDIO**

Prospectivo, Longitudinal, Comparativo y Experimental.

Ensayo clínico aleatorio.

## **UNIVERSO DE TRABAJO**

30 adultos jóvenes con edad comprendida entre los 17 y 26 años de edad, ambos sexos (Alumnos de Odontología de primer semestre de la Universidad Autónoma de Tlaxcala).

## **TÉCNICA PARA CONTROLAR LAS DIFERENCIAS ENTRE SUJETOS**

Selección homogénea de adultos jóvenes

## **TÉCNICA PARA CONTROLAR LAS DIFERENCIAS SITUACIONALES**

Mantener constantes las condiciones del estudio

## **TAMAÑO DE LA MUESTRA**

150 muestras a conveniencia del investigador.

## **CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO EXPERIMENTAL:**

- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes de entre 17 y 26 años, los que se ofrezcan a participar voluntariamente.
- ✓ Adultos jóvenes que hayan usado el enjuague de arándano por 5 semanas

## **CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO CONTROL:**

- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes de entre 17 y 26 años, los que se ofrezcan a participar voluntariamente.
- ✓ Adultos jóvenes que hayan usado el enjuague placebo por 5 semanas.

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes voluntarios sanos de entre 17 y 26 años de edad.
- ✓ Adultos jóvenes que no estén tomando antibióticos al momento de usar el enjuague.
- ✓ Adultos jóvenes que utilizaron el enjuague de acuerdo al procedimiento

### CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes que hayan consumido antibióticos una semana antes a la toma de la muestra.
- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes que estén bajo atención odontológica constante que incluya la aplicación tópica de agentes antimicrobianos.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ✓ Muestras salivales de adultos jóvenes, donde la saliva obtenida sea menor de 1mL.
- ✓ Muestras salivales contaminadas al momento de la recolección o al transporte.
- ✓ Adultos jóvenes que hayan suspendido el uso del enjuague.

### ESPECIFICACIÓN DE VARIABLES

#### VARIABLES INDEPENDIENTE:

- ✓ Enjuague bucal de extracto de Arándano concentrado (*Vaccinium macrocarpon*).
- ✓ Enjuague bucal con solución placebo.

#### VARIABLE DEPENDIENTE:

Efecto inhibitorio sobre microorganismos encontrados en saliva de adultos jóvenes.

#### INDICADOR DE VARIABLE DEPENDIENTE:

Se denomina Unidad Formadora de Colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas, produce una colonia en un breve lapso de tiempo.

### ESCALA DE MEDICIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo de variable	Escala De medición	Valores
Efecto inhibitorio (UFC)	Nominal	Discreta	Sin crecimiento Incontables Colonias azules
Extracto de arándano	Nominal	Dicotómica	Si o No
Solución placebo	Nominal	Dicotómica	Si o No

Tabla 2. Especificación de los indicadores de las variables

## MATERIALES

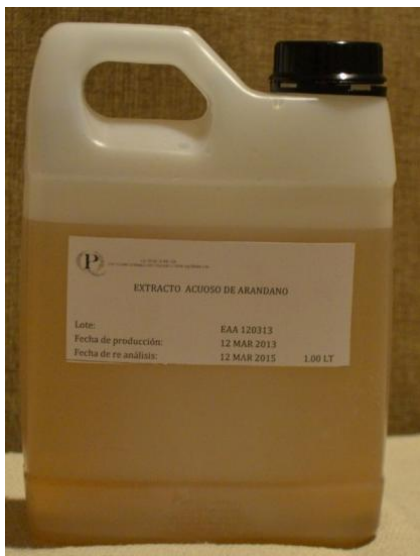
Agentes		Medio de cultivo	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Extracto de arándano</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Agar Mitis Salivarius</b>	
Material de laboratorio		Soluciones y reactivos	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Asa bacteriológica</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Alcohol cetona</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Placa de Petri</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Agua destilada</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Mechero</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Benzal</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Tubos de ensaye</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Solución salina isotónica</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Matraz</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Telurito</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Vaso</b>			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Pipeta</b>			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Micropipeta</b>			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Puntas estériles para micropipeta</b>			
Aparato		Material de captura	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Autoclave</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Cámara fotográfica</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Ultracongelador</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Memoria USB</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Refrigerador</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Lap-top</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Parrillas de calentamiento</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Material de papelería</b>	
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Báscula</b>			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Microscopio</b>			
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Campana de flujo laminar</b>			

## METODOLOGÍA

Se realizó el estudio en 30 adultos jóvenes (alumnos del primer semestre de Odontología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala), que aceptaron participar voluntariamente después de explicarles la naturaleza del estudio, se asignaron de manera aleatoria a los grupos experimental y de control tomando en cuenta criterios de inclusión, no inclusión y exclusión. Se obtuvo 150 muestras durante 5 semanas (30 muestras por semana), fueron transportadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP para llevar a cabo los procedimientos correspondientes al conteo de Unidades Formadoras de Colonia.

## PREPARACIÓN DEL ENJUAGUE

- I. Por cada 200 mL de extracto de arándano se agregaron 300 ml de agua. **(fig. 2)**
  - 7mL Esencia de frambuesa.
  - 5 gotas de colorante vegetal.
  - 10ml de glicerina.
- II. Se preparo el enjuague placebo de la misma forma, exceptuando el extracto de Arándano.**(fig. 3)**
- III. Todos los enjuagues fueron almacenados en las mismas condiciones, a temperatura ambiente, protegidos de la luz y asignados en número de claves de cada adulto joven



**Fig. 2 Extracto de Arándano.**



**Fig.3 Enjuagues Bucales.**

## MUESTRA

1. Se hizo una selección de 30 adultos jóvenes (Alumnos del primer semestre de la facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala).
2. Mediante selección aleatoria se asignaron en dos grupos.
  - Grupo Experimental (Arándano-ADN): 15 adultos jóvenes
  - Grupo Control (Placebo-PBO): 15 adultos jóvenes

## PROCEDIMIENTOS

1. Se registró el índice CPO de cada uno de los adultos jóvenes de estudio.(ver anexo 5)
2. Se tomó una muestra de saliva en reposo al inicio del estudio, previo a la administración de los enjuagues. **(Muestra 1) (fig. 4 y 5)**
3. Cada adulto joven participante recibió un enjuague bucal de acuerdo al grupo asignado, junto con las indicaciones por escrito. **(Ver. Anexo 1)**
4. Cada adultos jóvenes debió usar el enjuague dos veces al día durante 5 semanas consecutivas sin modificar sus hábitos de higiene bucal.
5. Se tomaron muestras salivales en periodos semanales **(1, 2, 3,4 y 5 semanas)**
6. Las muestras fueron transportadas en un recipiente a temperatura de 5°C
7. Las muestras se almacenaron en ultracongelador (Revco Ultima II-86C) hasta su uso.(Fig 6)



Fig. 4 Toma de muestras salivales.



Fig.5 Saliva.



Fig. 6 Muestras en Ultracongelador

### PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO

1. Preparación de material y medio de cultivo.(Fig. 7 y Anexo 2)
2. Se sembraron 100 $\mu$ L de los especímenes salivales en placas de Petri con Agar Mitis Salivarius.(Fig. 8 y Anexo 3)
3. Se incubaron las cajas Petri a 37°C de 24 hrs a 48 hrs. (Anexo 4)
4. Se procedió a la fase de observación y cuantificación de colonias de *S. mutans* mediante un contador de colonias (Tipo Quebec Q-20). (fig 9 y 10).
5. Los datos obtenidos se vaciaron en una tabla especialmente diseñada para el estudio. (Anexo 5)



Fig. 7 Material de trabajo



Fig. 8 siembras en placas Agar Mitis Salivarius



Fig. 9 Contador de colonias

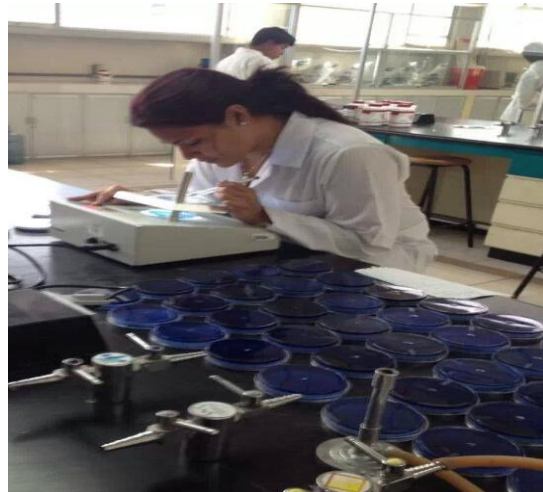


Fig. 10 Cuantificación de *S. mutans*

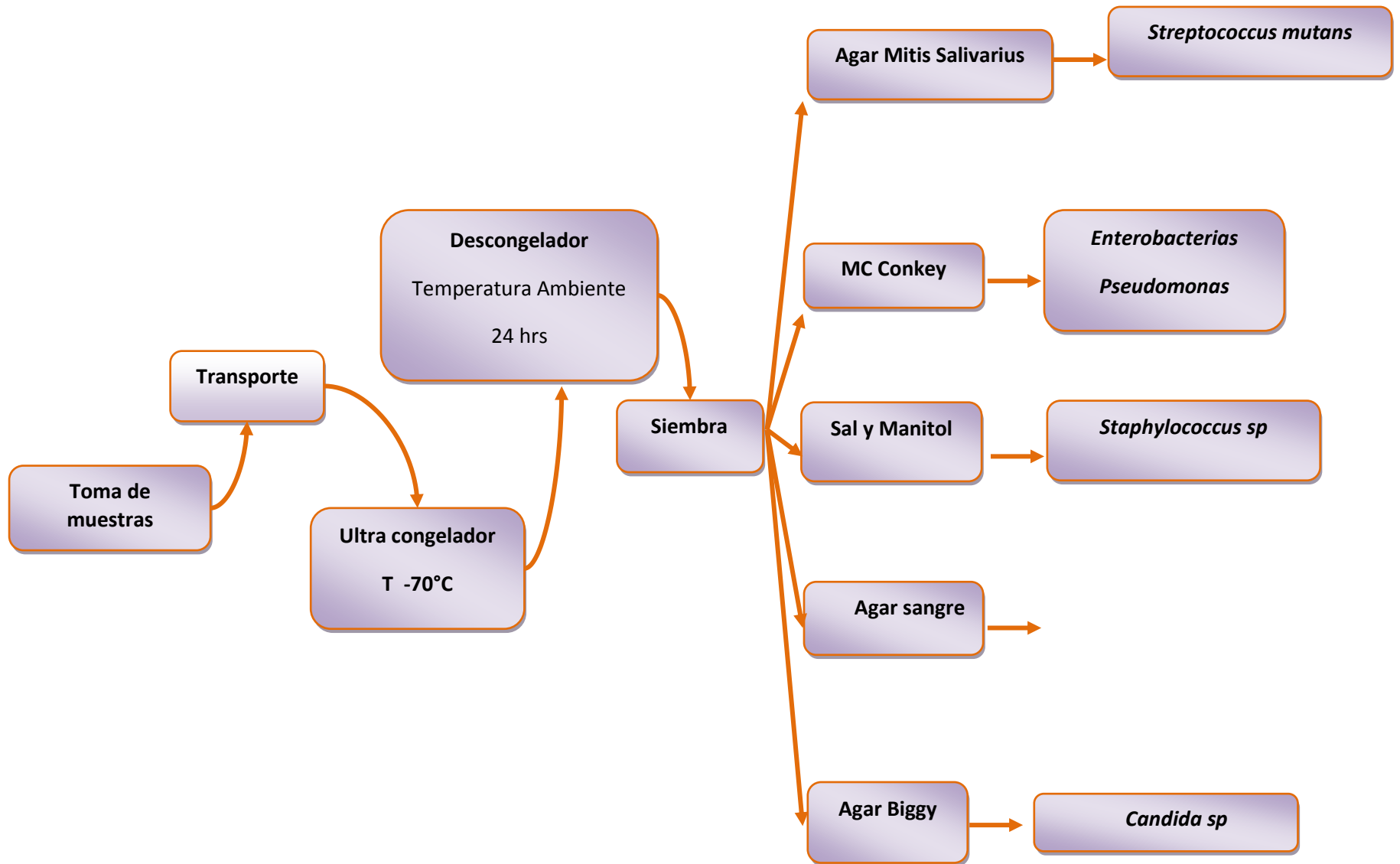
### PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO:

Los datos se organizaron en tablas de distribución simple, gráfica de sectores circulares y de barras para variables nominales. Se calculó la media aritmética y desviación estándar en variables escalares continuas.

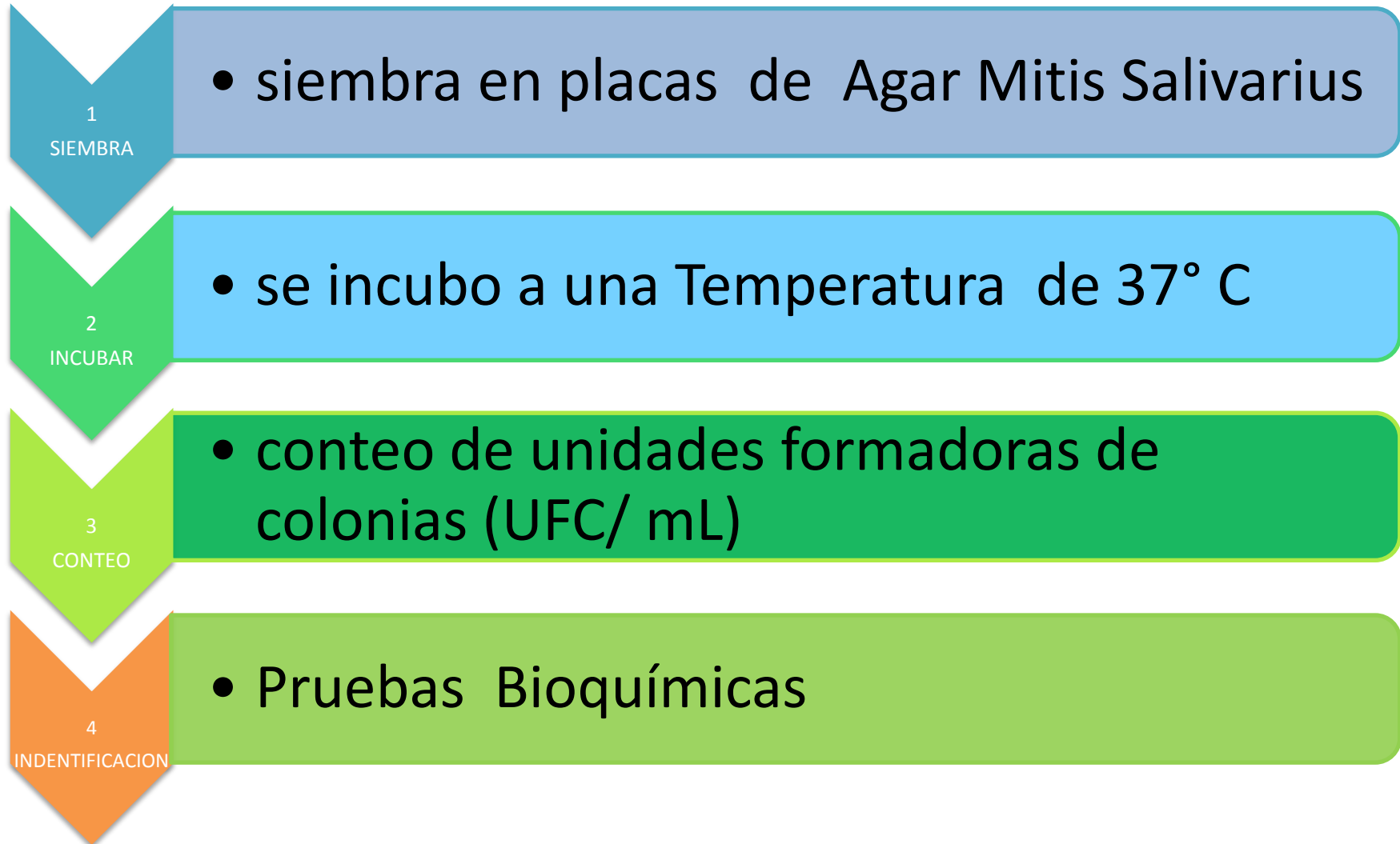
### ESTADÍSTICA INFERENCIAL:

La contrastación de la hipótesis se realizó mediante prueba no paramétrica para dos muestras independientes: chi cuadrada con nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$

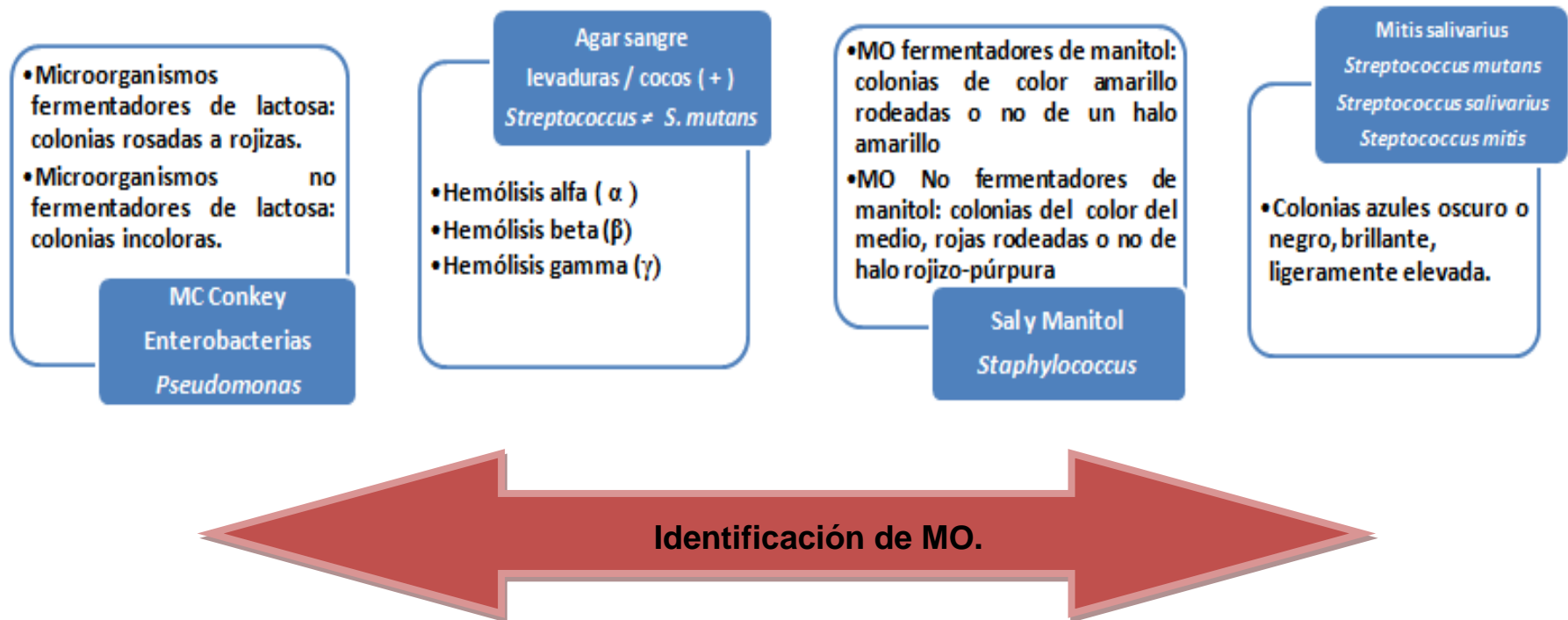
## ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO



Esquema de identificación de *Streptococcus mutans*



ESQUEMA DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

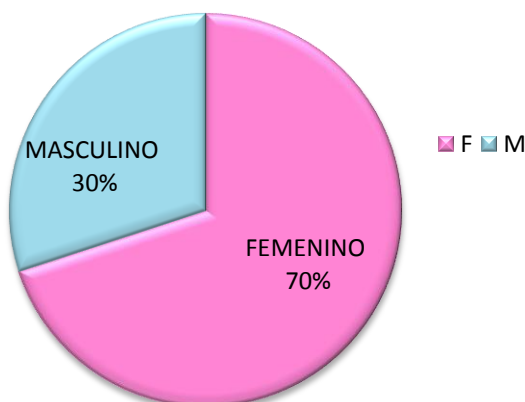


**RESULTADOS:**

En el presente trabajo se contó con una muestra de 30 adultos jóvenes, los cuales 9 (30%) correspondieron al género masculino y 21 (70%) al género femenino, en un rango de edad entre los 18 a 26 años de edad. (Ver anexo 5, Tabla1, Gráfica 1.) El grupo mayor correspondió a los adultos jóvenes de 18 años de edad mientras que el grupo menor a los adultos jóvenes de 26 años. (Ver Gráfica 2)

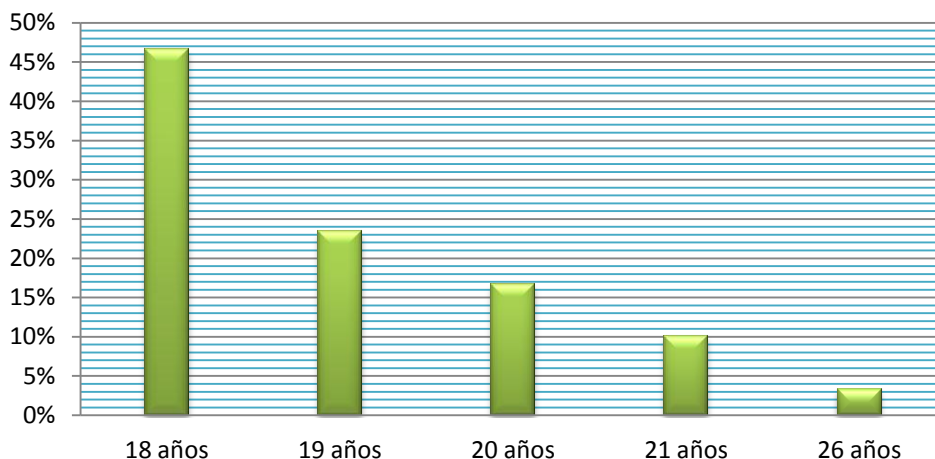
Tabla 1. Distribución de sujetos por género y grupo de edad.

GÉNEROS Y GRUPO DE EDAD DE LOS JÓVENES ADULTOS						
			Masculino		Femenino	
			$\bar{x} = 19$	$s = 0.5$	$\bar{x} = 19$	$s = 1.42$
Grupos	Total	%	No.	%	No	%
18 años	14	46.6	4	44.4	10	47.6
19 años	7	23.3	2	22	5	23.8
20 años	5	16.6	2	22	3	14.3
21 años	3	10	1	11.1	2	9.5
26 años	1	3.3	0	0	1	4.7
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>30</b>	<b>21</b>	<b>70</b>



**Gráfica 1: Distribución de Género del grupo de estudio.**

Fuente: Observaciones de este estudio.



**Grafica 2.** Distribución de sujetos por grupos de edad

Fuente: Observaciones de este estudio

Al inicio de la investigación se determinó el índice CPO-D (de acuerdo a la OMS) a los 30 adultos jóvenes, de forma aleatoria se formaron 2 grupos de 15, denominados como **Grupo Control (placebo)** y **Grupo experimental (Arándanos)**, observando que el índice CPO-D se encontró **muy bajo** (ver Anexo 5 y tabla 2 ).interpretándose como buena higiene bucal.

**Tabla 2: Cuantificación de la OMS para el índice CPO-D**

Cuantificación de la OMS para el índice CPO-D	
0.0 – 1.1	<b>Muy bajo</b>
1.2 – 2.6	Bajo
2.7 – 4.4	Moderado
4.5 – 6.5	Alto
6.6	Muy alto

Fuente: Índices derivados del CPO-D

Por lo que se refiere a la determinación del índice CPO se encontró que la media aritmética en el grupo experimental (0.25) fue mayor que en el grupo control (0.19), ambos grupos con una desviación estándar similar (0.08) en el primero y (0.07) en el segundo (ver Anexo 7 y tabla 3), por lo tanto no se encontró

diferencia significativa en los grupos, determinando que no hay algún sesgo en la investigación.

Tabla 3: Índice general de CPO

ÍNDICE DE CPO-D	CPO PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR
GRUPO	$\bar{x}$	S
PLACEBO	0.19	0.07
ARÁNDANO	0.25	0.08

Fuente: Observaciones de este estudio

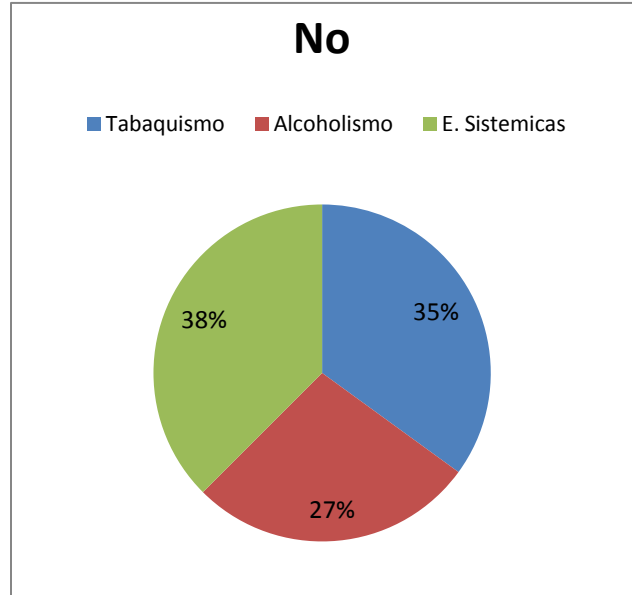
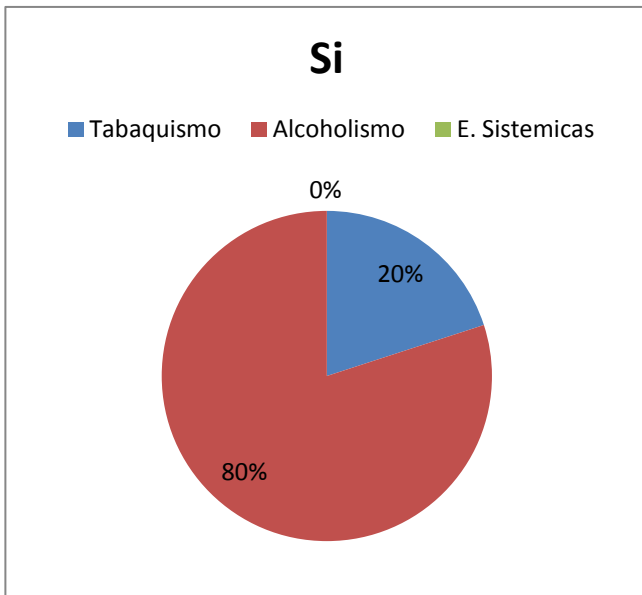
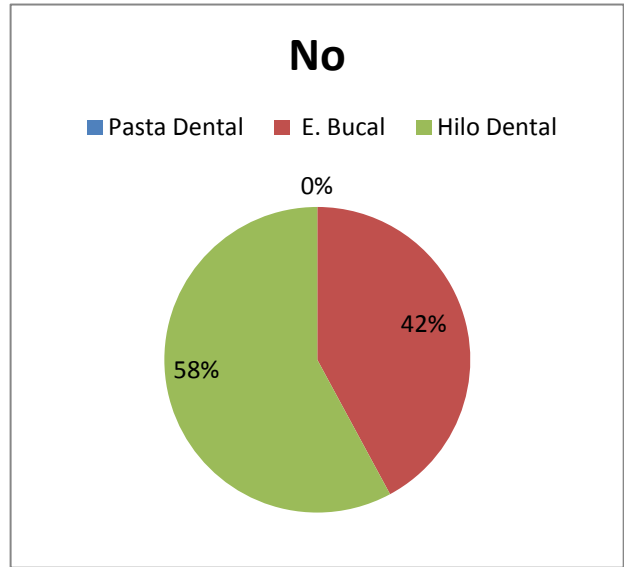
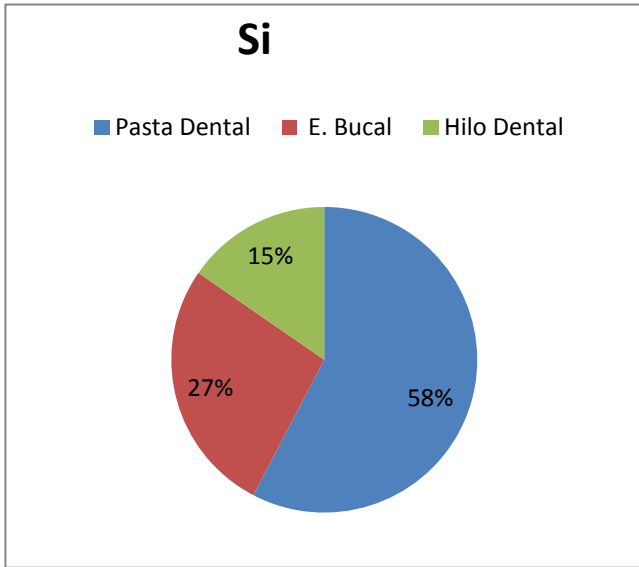
Algunos de los factores determinados en los grupos de estudio fueron el uso de pasta dental, enjuague bucal, hilo dental así como tabaquismo, alcoholismo y enfermedades sistémicas, observándose los siguientes datos: (ver tabla 4 y 5)

Tabla 4: Factores observados en el grupo placebo

Placebo	CPO	Pasta Dental	E. Bucal	Hilo Dental	Tabaquismo	Alcoholismo	E. Sistémicas
1	0.32	SI	NO	NO	NO	NO	NO
3	0.1	SI	SI	NO	SI	SI	NO
4	0.5	SI	SI	NO	NO	SI	NO
7	0.28	SI	NO	SI	NO	NO	NO
9	0.25	SI	NO	NO	NO	NO	NO
12	0.39	SI	SI	NO	NO	NO	NO
13	0.14	SI	SI	SI	NO	NO	NO
16	0.03	SI	NO	NO	NO	NO	NO
20	0.07	SI	NO	NO	NO	SI	NO
21	0.17	SI	NO	SI	NO	NO	NO
24	0.03	SI	NO	NO	NO	NO	NO
25	0.1	SI	SI	NO	NO	NO	NO
26	0.21	SI	NO	NO	NO	NO	NO
28	0.21	SI	SI	SI	NO	NO	NO
29	0.1	SI	SI	NO	NO	SI	NO

Fuente: Observaciones de este estudio.

Gráficas 3: Factores observados en el grupo placebo



Fuente: Observaciones de este estudio.

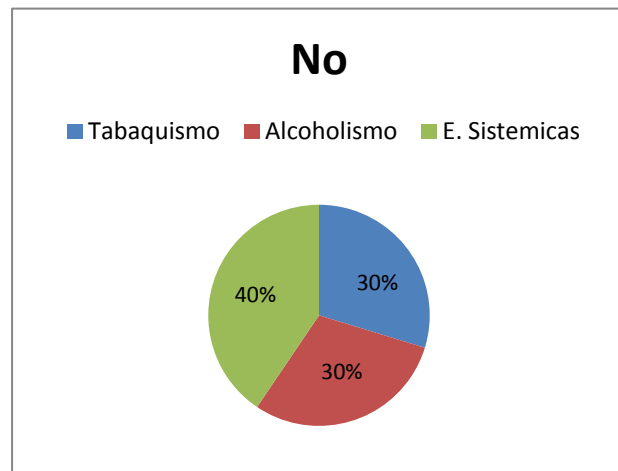
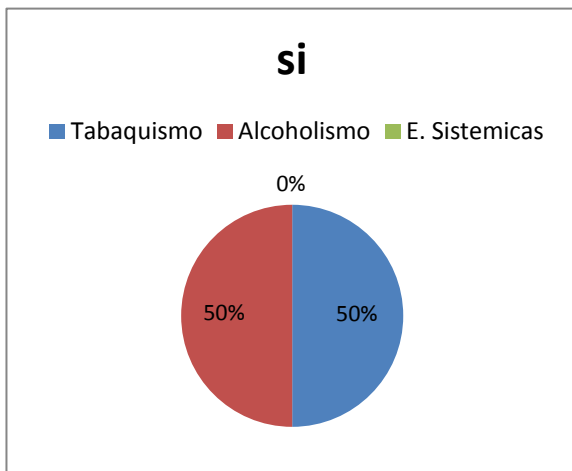
**Tabla 5: Factores observados en el grupo arándanos**

Arándanos	CPO	Pasta Dental	E. bucal	Hilo Dental	Tabaquismo	Alcoholismo	E. Sistémicas
2	0.28	SI	SI	SI	SI	SI	NO
5	0.53	SI	NO	NO	NO	NO	NO
6	0.28	SI	SI	SI	NO	NO	NO
8	0.21	SI	SI	NO	SI	NO	NO
10	0.21	SI	SI	NO	NO	NO	NO
11	0.21	SI	NO	NO	NO	NO	NO
14	0.17	SI	NO	NO	NO	NO	NO
15	0.25	SI	SI	SI	NO	NO	NO
17	0.17	SI	SI	SI	SI	NO	NO
18	0.17	SI	SI	SI	NO	NO	NO
19	0.7	SI	SI	SI	NO	NO	NO
22	0.14	SI	NO	NO	NO	SI	NO
23	0.28	SI	NO	NO	NO	SI	NO
27	0.21	SI	SI	NO	SI	SI	NO
30	0.57	SI	SI	NO	NO	NO	NO

Fuente: Observaciones de este estudio

**Gráficas 4: Factores observados en el grupo arándanos**





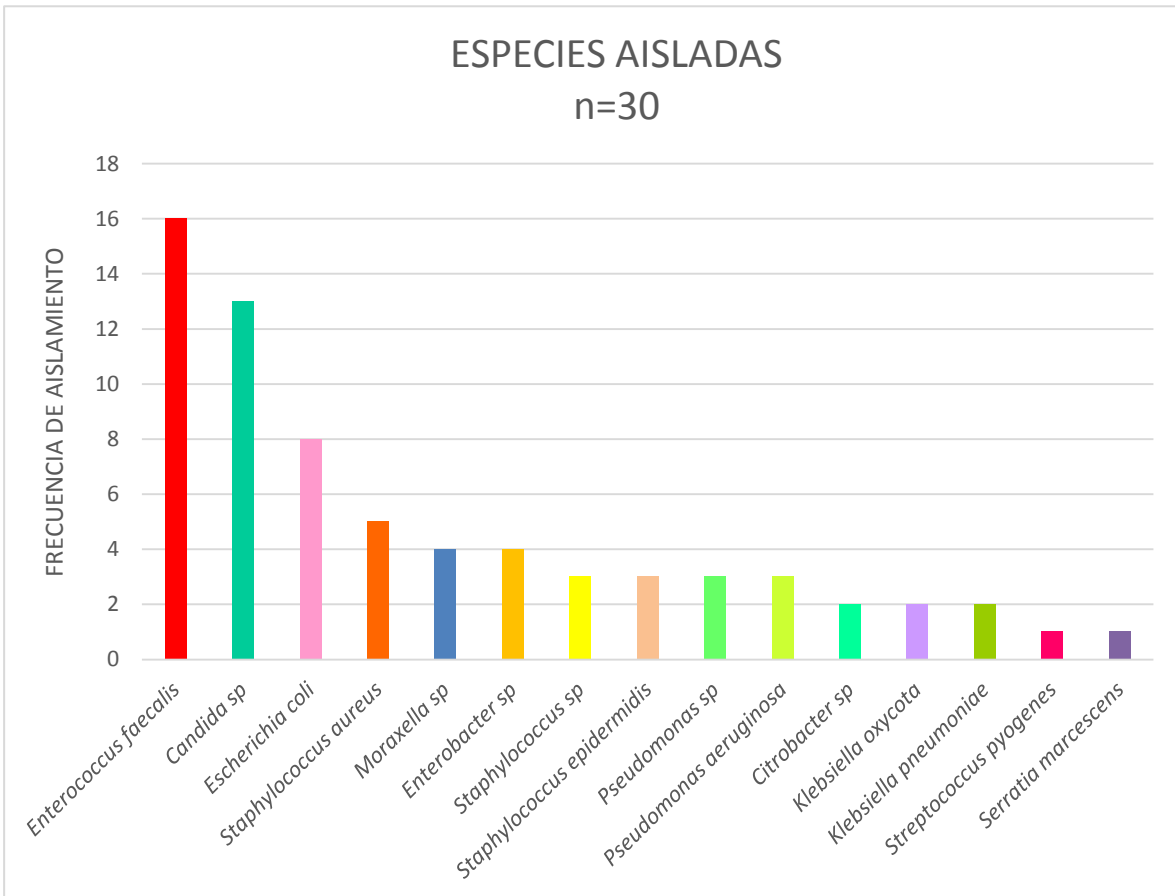
Fuente: Observaciones de este estudio

Al analizar estos factores mencionados con el índice CPO-D y el número de UFC de *Streptococcus mutans*, se observa que no hay una concordancia.

Se realizó en la semana 0 la identificación de los grupos bacterianos de ambos grupos (control y experimental) observándose la presencia de:

- *Enterococcus faecalis*
- *Citrobacter sp*
- *Moraxella sp*
- *Enterobacter*
- *Escherichia coli*
- *Candida sp*
- *Staphylococcus sp*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Pseudomonas sp*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Klebsiella oxycota*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Serratia marcescens*

El grupo bacteriano que se aisló con mayor frecuencia fue *Enterococcus faecalis*, seguido de *Candida* sp, los que se aislaron en menor frecuencia fueron *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens*. (Ver grafica 5)



**Gráficas 5: Especies aisladas de muestras de cavidad oral**

Fuente: Observaciones de este estudio.

Se le dió a los 30 adultos jóvenes sus correspondientes enjuagues en cada grupo: placebo y Arándanos, con las siguientes indicaciones:

1. Enjuagarse con este producto después de cepillado dental de la mañana y de la noche.
2. No enjuagarse con agua después de usar el enjuague.
3. Mantener el enjuague en un lugar fresco y sin luz
4. Este enjuague es para uso exclusivo del voluntario
5. No deben estar usando antibióticos, y si lo usan avisar.
6. El uso del enjuague es durante 4 semanas
7. No dejarse al alcance de los niños

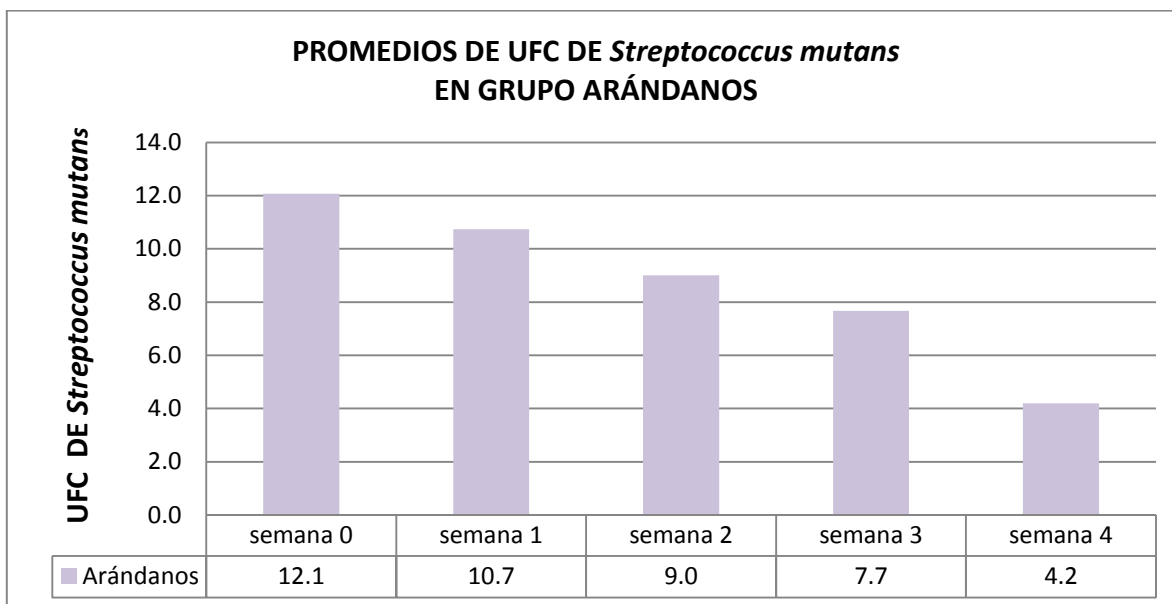
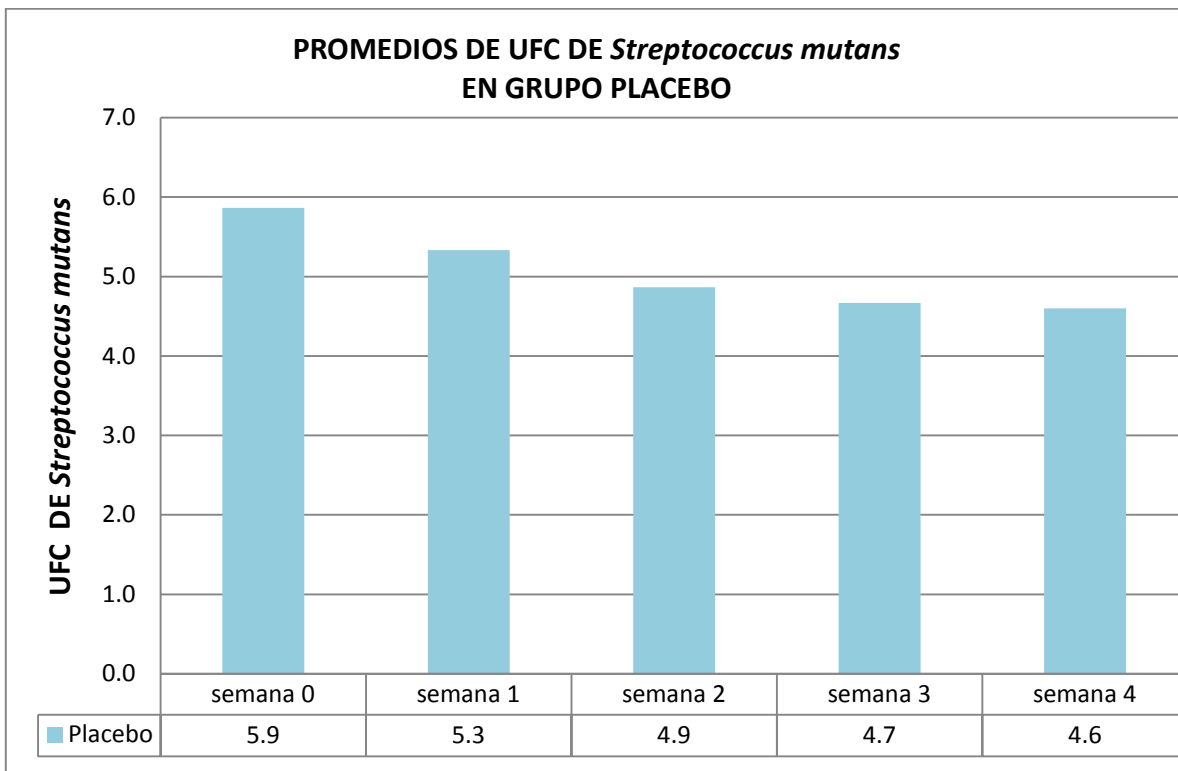
En la semana 0 se realizó la búsqueda de *Streptococcus mutans* en los 2 grupos encontrando, en el grupo control (placebo) un promedio general de  $\bar{x} = 5.86$  UFC/mL y en el grupo experimental (Arándanos) promedio general de  $\bar{x} = 12.06$  UFC/mL

En la semana 1 se obtuvo en el grupo control (placebo) un promedio general de  $\bar{x} = 5.33$  UFC/mL y en el grupo experimental (Arándanos) un promedio general de  $\bar{x} = 10.73$  UFC./mL

En la semana 2 se obtuvo en el grupo control (placebo) un promedio general de  $\bar{x} = 4.86$  UFC y en el grupo experimental (Arándanos) un promedio general de  $\bar{x} = 9$  UFC/mL

En la semana 3 se obtuvo en el grupo control (placebo) un promedio general de  $\bar{x} = 4.66$  UFC y en el grupo experimental (Arándanos) un promedio general de  $\bar{x} = 7.66$  UFC/mL

A la 4<sup>ta</sup> semana se obtuvo en promedio general  $\bar{x} = 4.6$  UFC/mL en el grupo placebo y  $\bar{x} = 4.2$ , UFC7mL en el grupo Arándanos. (Ver grafica 6)



**Graficas 6: UFC obtenidas durante el ensayo**

Fuente: Observaciones de este estudio.

## CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

✚ Placebo: Semana 0 y Semana 4

$$n_1 = 15 - 1 = 14$$

$$n_2 = 15 - 1 = 14$$

$$°L = 14 \rightarrow 2.145 \text{ al } 95\%$$

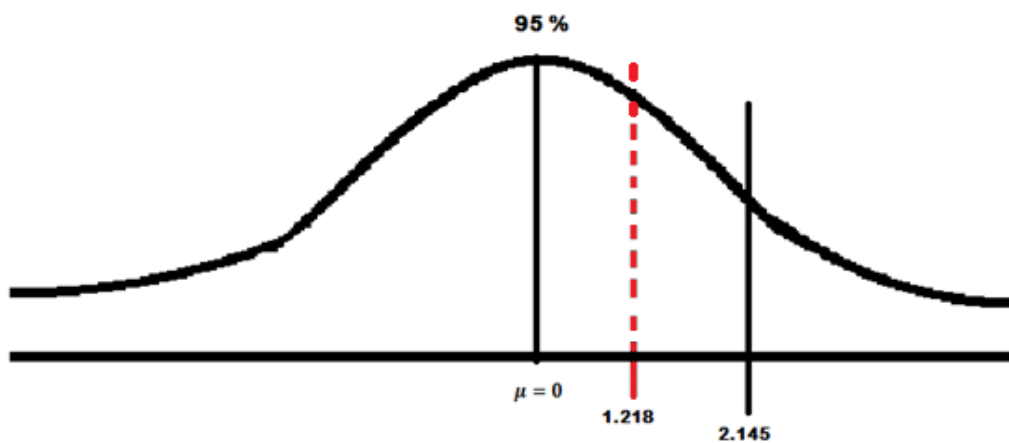
$$t = \frac{(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)\mu}{\sqrt{S_1^2 + S_1^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(5.86 - 4.6)0}{\sqrt{2.99^2 + 2.66^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{1.26}{\sqrt{16.01}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{1.26}{4.001} \times 3.87$$

$$t = 1.218$$



No existe diferencia significativa.

✚ Arándanos: Semana 0 y Semana 4

$$n_1 = 15 - 1 = 14$$

$$n_2 = 15 - 1 = 14$$

$$°L = 14 \rightarrow 2.145 \text{ al } 95\%$$

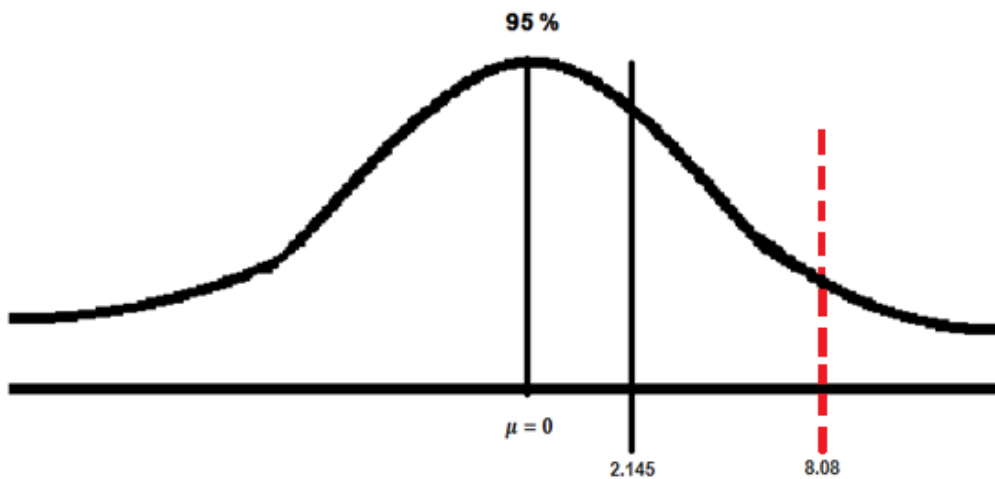
$$t = \frac{(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)\mu}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(12.06 - 4.2)0}{\sqrt{2.28^2 + 3^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{7.86}{\sqrt{14.19}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{7.86}{3.76} \times 3.87$$

$$t = 8.08$$



Si existe una diferencia significativa.

✚ Placebo Vs Arándanos

$$\bar{X}_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 8.73$$

$$S_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 0.43$$

$$n_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 15$$

$$n_1 = 15 - 1 = 14$$

$$n_2 = 15 - 1 = 14$$

$$°L = 14 \rightarrow 2.145 \text{ al } 95\%$$

$$\bar{X}_{1(Placebo)} = 5.06$$

$$S_{1(Placebo)} = 0.13$$

$$n_{1(Placebo)} = 15$$

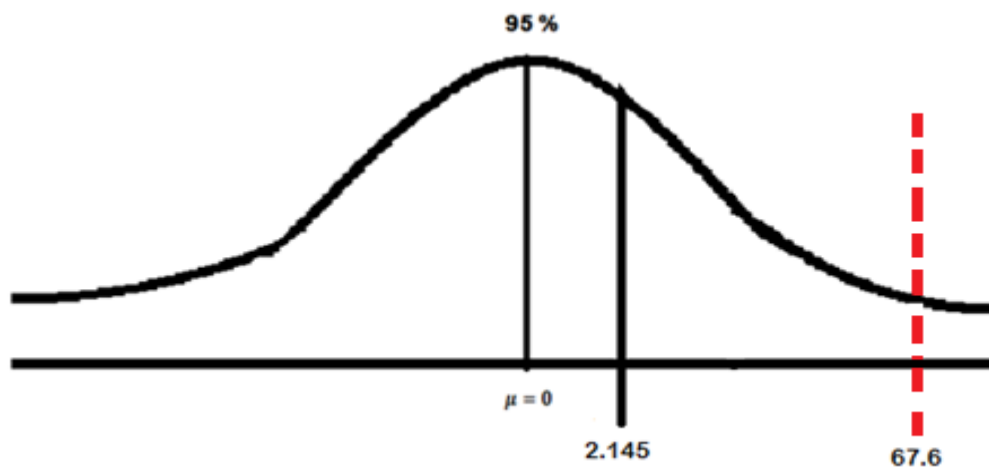
$$t = \frac{(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)\mu}{\sqrt{S_1^2 + S_1^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(8.73 - 5.06)0}{\sqrt{0.43^2 + 0.13^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{3.67}{\sqrt{0.20}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{3.67}{0.21} \times 3.87$$

$$t = 67.63$$



Si existe diferencia significativa

Discusión

Se trabajó con un total de 30 adultos joven 9 (30%) corresponde al género masculino y 21 (70%) al género femenino, en un rango 18-26 años de edad de la población estudiantil de alumnos del primer semestre de Odontología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Los cuales fueron dividido en 2 grupos asignados aleatoriamente de 15: control (placebo) y experimental (Arándanos), se les pidió enjuagar la boca durante 30 Segundos, con respectivo enjuague cada semana para establecer el recuento bacteriano UFC/mL de *Streptococcus mutans*.

El grupo con mayor frecuencia en el estudio fue de 18 años de edad con rango de 18-26 años de edad y al determinar su relación con el uso de pasta dental, enjuague bucal, hilo dental así como tabaquismo, alcoholismo y enfermedades sistemicas, con el índice de CPO- D y presencia de *Streptococcus mutans*, no se encontró diferencia significativa.

La OMS(Programa PROSANE Ministerio de Salud de la Nación y Programa SUMAR ministerio de Salud de la Nación.), determina mediante el cálculo del índice de CPO-D el rango de higiene bucal, en cuanto al presente estudio, el índice promedio en los grupos fue de 0.19<sub>CPO-D</sub> para el grupo control (placebo) y de 0.25<sub>CPO-D</sub> para el grupo experimental (arándanos), lo que indica que el grupo de estudio se encuentra en el rango de excelente higiene bucal, sin embargo, se logró el aislamiento de *Streptococcus mutans* en pequeñas cantidades. El promedio general de UFC/mL de la semana 0 a la 4<sup>ta</sup> en los grupos fue de  $\bar{x} = 4.06$  UFC/mL, para el grupo control (placebo) y de  $\bar{x} = 4.02$  UFC/mL, para el grupo experimental (Arándanos) lo que permitió el estudio longitudinal para determinar el efecto “*in vivo*” del extracto de arándano presente en enjuague bucal.

Los resultados revelaron que después de un periodo de 4 semanas de uso diario hubo una reducción significativa en los conteos bacterianos de *Streptococcus mutans*. Como lo demuestra Rahbar en el 2010, Boded en el 2007, y Yamanaka A<sup>22</sup> en 2004 así como Koo H.,<sup>9</sup> en 2006, que examinaron el efecto inhibitorio del jugo de Arándano sobre la adhesión de *Streptococcus* orales en muestras de hidroxiapatita. Al ser expuestas al jugo de arándano las células bacterianas disminuyeron su adherencia significativamente comparado con el grupo control.<sup>23</sup>, igualmente sugieren que el uso diario de enjuagues bucales y pasta de dientes, así como de goma de mascar que contengan fracciones de polifenoles de Arándano puede prevenir el desarrollo de placa dental.

Esto pudo deberse a que los sujetos siguieron correctamente las instrucciones de uso. Yamanaka en 2004 reportó que el jugo de arándano no tuvo efecto en el crecimiento del *S.mutans* MT8148R, refiriendo que el efecto inhibitorio del arándano podría ser el resultado de la acción de todos sus componentes y no

solo de una fracción. Debido a que la hidrofobicidad es un factor importante en la adhesión inicial de las bacterias a la superficie dental, al disminuir esta, la adhesión puede verse bloqueada. Se asume que este es el mecanismo principal de la efectividad del jugo de arándano al ser utilizado como enjuague bucal.

Nuestros resultados nos indican que hubo un efecto inhibitorio importante sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* en el grupo de estudio.

En este estudio se observa a *Enterococcus faecalis* como el primer microorganismo aislado con mayor frecuencia en las muestras, seguido de *Candida*, y *Escherichia coli*, los cuales pueden causar diversas enfermedades como gingivitis o algún tipo de periodontitis, como lo reporta Ambrocio Galeno E., Cruz Castañeda A, y Pérez Toriz O<sup>1</sup>.BUAP 2013 , que el grupo bacteriano que se aisló con mayor frecuencia fue *Enterocococcus sp*, el cual forma parte de la microbiota comensal en el intestino del hombre. Otro microorganismo presente en la muestra fue *Staphylococcus aureus*, quien forma parte del desarrollo de enfermedades sistémicas.

Los resultados de este estudio mostraron que el efecto inhibitorio del extracto de arándano tuvo gran significancia al ser usado como enjuague bucal. Si bien, se observaron casos de reducciones importantes en el crecimiento bacteriano de las muestras. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Padilla A, Muñoz R, Pérez O, 2012, que evidenciaron el efecto inhibitorio “*in vitro*” del extracto puro de arándano sobre microorganismos en saliva de niños.<sup>13</sup>

## Conclusiones:

- ✚ Se comprobó el efecto inhibitorio del enjuague bucal en las muestras de salivas de jóvenes adultos (Alumnos del primer semestre de Odontología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.)
- ✚ Índice CPO\_D del grupo indica una buena higiene bucal.
- ✚ Aun el índice bajo de CPO-D, en este trabajo se aisló *Streptococcus mutans*.
- ✚ No se encontró diferencia significativa entre el número de UFC/mL de *Streptococcus mutans* y el índice CPO-D
- ✚ No se encontró alguna relación entre el índice CPO-D con alguno de los factores determinados en los grupos de estudio como: tabaquismo, alcoholismo y enfermedades sistémicas.
- ✚ Hay diferencia significativa en el número de UFC/mL de *Streptococcus mutans* aisladas entre la semana 0 y la 4<sup>ta</sup> en el grupo arándano.
- ✚ No hay diferencia significativa en el número de UFC/mL de *Streptococcus mutans* aisladas entre la semana 0 y la 4<sup>ta</sup> en el grupo placebo.
- ✚ Hay diferencia significativa en el número de UFC/mL entre el grupo arándano y el placebo.
- ✚ El Microorganismo con mayor frecuencia aislado fue *Enterococcus faecalis*.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Ambrocio-Galeno, E., Cruz-Castañeda, A, y Perez-Toriz O. 2013. Efecto antimicrobiano “ in vitro” del propóleo a tres concentraciones diferentes, sobre muestras de salivas de niños con caries. Tesis BUAP; 44-45
2. Castillo, J.I., Romero, I. 2007. Plantas con actividad anti-*Helicobacterpylori*: Una revisión. Boletín de la Sociedad Botánica de México;080:35-61
3. Bodet, C., Chandad, F., Grenier,D., 2006. Anti-inflammatory Activity of a high molecular weight Cranberry Fraction on Macrophages Stimulated by lipopolysaccharides from Periodontopathogens; J Dent Res; 85 (3):235-239.
4. Domenick,Z.T. 2006. Dentifrices,mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. BMC Oral Health,6(1):S9.
5. Duarte,S.G .2006. Singh et al. Inhibitory effects of Cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilm. FEMS MicrobiolLett ; 257: 50-56.
6. Duarte,S.G. 2006 Singh AP, Vorsa N, Schaich K, Bowen WH, et al. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. FEMS MicrobiolLett; 257(1):50-6.
7. Jeffrey,B.B. 2013 et.Al; Cranberries and their bioactive constituentsin human health;Adv.Nutr.4:318-632
8. Koo, H., Duarte, S., Murata, R.M. 2010 et al. Influence of Cranberry Proanthocyanidins on Formation of Biofilms by *Streptococcus mutan* son saliva- Coated Apatitic Surface and on Dentak Caries Developmente in vivo; Caries Res; 44:116-126.
9. Koo, H. Nino de Guzman, P., Schobel, B.D. Vacca,S. A.V., Bowen,W.H., 2006 Influence of Cranberry juice on glucan-mediated processes involved in *Streptococcus mutans* biofilm development; USA Caries Res; 40:20-27.
- 10.Laetitia, B., Grenier, D., 2010 Cranberry Poliphenols: Potential Benefits for Dental Caries and Periodontal Disease; J Can Dent Assoc; 76:130.
- 11.Labrecque, J. Bodet, C. y Chandad, F. 2006. Effects of a high molecular weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of porphyromonasgingivalis; J Antimicrobial Chemotherapy; 58 (2): 439-43.
- 12.Mitchell,J. 2011 *Streptococcus mitis*: walking the line between commensalism and pathogenesis; Mol Oral Microbiol; 26 (2):89-98.
- 13.Muñoz R, Padilla A, Pérez O. 2013. Efecto inhibitorio del jugo de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) sobre microorganismos en saliva de niños: estudio in vitro; Oral Dic; 14 (46):1030-1034.

14. Nohales, F. et al. Revista de Fitoterapia 2010; 10(1): 5-21. Arándano Americano (*Vaccinium macrocarpon*): conclusiones de la investigación y la evidencia clínica.
15. Padilla, C. Lobos, O. y Villagra, C. 2007 SUSCEPTIBILIDAD DE CEPAS DE *S. mutans* PRODUCTORES Y NO PRODUCTORES DE BIOFILM, FRENTE A COLUTORIOS ORALES.; Revista Latinoamericana de Actualidades Biomédicas; 1 (2): 23-28.
16. Philip, D. M. 2006 Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implications for health and disease; BMC Oral Health, 6 (suppl 1): S14
17. Rahbar, M. Diba, K. 2010 In vitro activity of cranberry extract against etiological agents of urinary tract infections. Afr J. Pharm. Pharmacology; 4(5): 286-288.
18. Steinber, D. Feldman, M. Ofek, I. Weiss, E.I. 2004 Cranberry high molecular weight constituents promote *Streptococcus sobrinus* desorption from artificial biofilm. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 54, 86-89.
19. Weiss, E.I. Kozlovsky, A. Steinberg, D. Lev-Dor, R. 2004 Bar Ness Greenstein R, Feldman M, et al. A high molecular mass cranberry constituent reduces *mutans streptococci* level in saliva and inhibits *in vitro* adhesion to hydroxyapatite. FEMS Microbiol Lett. ; 232: 89-92
20. Weiss, E.I. Lev-Dor, R. Kashamn, Y. et al JADA 1998 Inhibiting interspecies coaggregation of plaque bacteria with a cranberry juice constituent ; 129: 1719 - 1723.
21. Yoo, S. Murata, D. S. 2011 Antimicrobial Traits of Tea- and Cranberry- Derived Polyphenols against *Streptococcus mutans*. Caries Res; 45: 327- 335.
22. Yamanaka-Okada, A. Sato, E. Kouchi, T. Kimizuka, R. Kato, T. Okuda, K. 2008 Inhibitory effect of cranberry polyphenol on cariogenic bacteria. Bull Tokyo Dent Coll; 49(3): 107-12.
23. Yamanaka, A. Kimizuka, R. Okuda, K. 2004 Inhibitory effects of cranberry juice on attachments of oral streptococci and biofilm formation; Oral Microbiol Immunol; 19: 150-154.
24. Zafar, D. Ofek, I. Adar, R. Pocino, M. Sharon, N. 1989 Antimicrobial Agents & Chemotherapy; 33: 92-98
25. El Documento y registro del CPO y ceo fue consensuado como dato reportable con los Programas de: Salud Bucal Ministerio de Salud de la Nación, Programa PROSANE Ministerio de Salud de la Nación y Programa SUMAR ministerio de Salud de la Nación. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000236cnt-protocolo-indice-cpod.pdf>

# ANEXOS

**ANEXO 1. HOJA DE INDICACIONES**

**Universidad Autónoma de Tlaxcala  
Especialidad de Estomatología pediátrica**

**INDICACIONES**

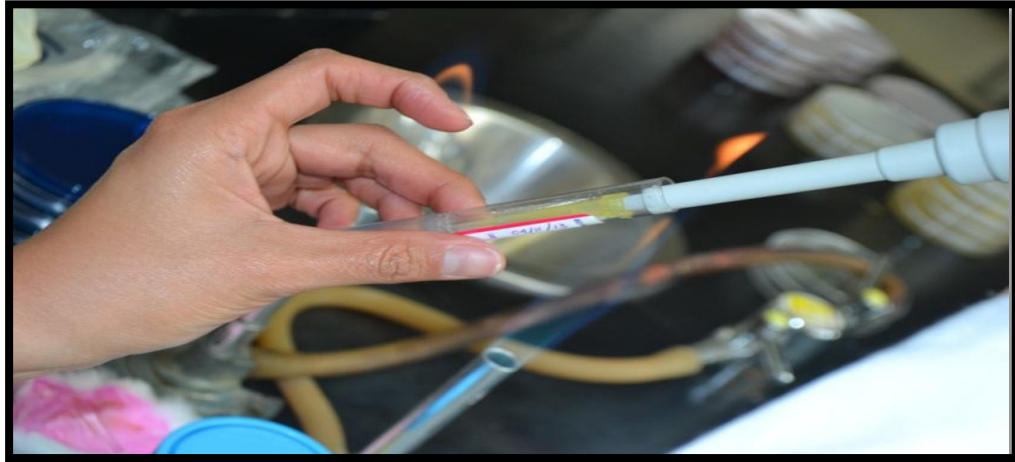
**PARA EL USO DE ESTE ENJUAGUE FAVOR DE SEGURAR LAS SIGUIENTES INDICACIONES**

- 1. Enjuagarse con este producto después de cepillado dental de la mañana y de la noche.**
- 2. No enjuagarse con agua después de usar el enjuague.**
- 3. Mantener el enjuague en un lugar fresco y sin luz**
- 4. Este enjuague es para uso exclusivo del voluntario**
- 5. No deben estar usando antibióticos, y si lo usan avisar.**
- 6. El uso del enjuague es durante 4 semanas**
- 7. No dejarse al alcance de los niños**

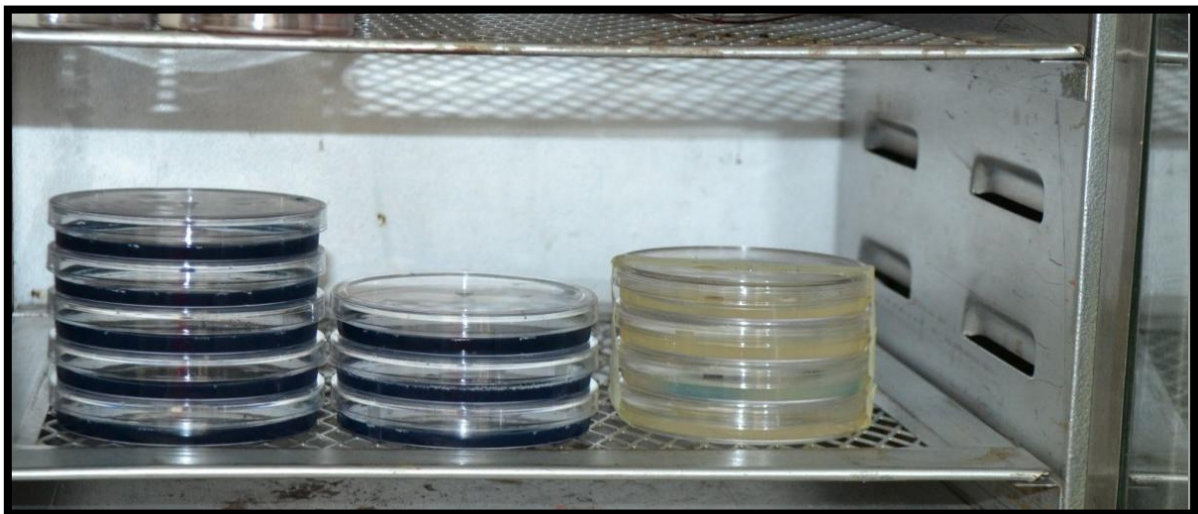
ANEXO 2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



ANEXO 3. SIEMBRA DE ESPECIMENES



ANEXO 4. INCUBACIÓN



ANEXO 5. TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Recolección de muestras por semanas

				RECOLECIÓN DE MUESTRA POR SEMANAS					
		PRODUCTO		MUESTRA 0	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRAS 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5
N°	NOMBRE	CONTROL	EXPERIMENTAL	SI / NO	SI / NO	SI / NO	SI / NO	SI / NO	SI / NO
1	Carlos Alberto Delgado J	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
2	Reyes Conde Corona		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
3	Kenia A Aquihauatl	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
4	Ma Fernanda Rivera P	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
5	Michel Castillo Cruz		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
6	Ximena Cerdio Blanco		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
7	Diana V Díaz Velázquez	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
8	Guadalupe Medel Pérez		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
9	Brenda Suárez García	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
10	Sharon Flores Muñoz		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
11	José Antonio Medellín		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
12	Selene Lembrino C.	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
13	Vanessa Alvarado O	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
14	Itzel S Jiménez Molina		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
15	Alejandra Suárez L		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
16	Ma Carmen Cervantes H	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
17	Verónica Cabrera Glez.		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
18	Mauricio Castillo F.		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
19	Mariana Díaz Meneses		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
20	David Vargas García	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
21	Hugo Sánchez Cortés	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
22	José Irwin Cuamatzi S		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
23	Evelyn Rojas Ata		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
24	Abdiel Cabrera Flores	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
25	Imelda Márquez Rivera	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
26	Mayte León Luna	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
27	Anahis Montealegre J.		ADN-E0411	SI	SI	SI	SI	SI	SI
28	Karla Gabriela Ramírez	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
29	Edgar Iván Rodríguez H.	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI
30	Elizabeth Natalia López J.	PBO-C0411-1		SI	SI	SI	SI	SI	SI

PLACEBO	
ARANDANO	

- Recolección de datos de enfermedades y usos diarios de higiene bucal.

N°	NOMBRE	GENERO	EDAD	CPO	USO DIARIO ( SI o NO )			ENFERMEDADES ( SI o NO )		
					PASTA DENTAL	ENJUAGUE BUCAL	HILO DENTAL	TABAQUISMO	ALCOHOLISMO	SISTEMÁTICA
1	Carlos Alberto Delgado J	M	18	0.32	SI	NO	NO	NO	NO	NO
2	Reyes Conde Corona	F	19	0.28	SI	SI	NO	NO	NO	NO
3	Kenia A Aquihauatl	F	20	0.1	SI	SI	NO	SI	SI	NO
4	Ma Fernanda Rivera P	F	18	0.5	SI	SI	NO	NO	SI	NO
5	Michel Castillo Cruz	F	18	0.53	SI	NO	NO	NO	NO	NO
6	Ximena Cerdio Blanco	F	19	0.28	SI	SI	SI	NO	NO	NO
7	Diana V Díaz Velázquez	F	19	0.28	SI	NO	SI	NO	NO	NO
8	Guadalupe Medel Pérez	F	18	0.21	SI	SI	NO	SI	NO	NO
9	Brenda Suárez García	F	18	0.25	SI	NO	NO	NO	NO	NO
10	Sharon Flores Muñoz	F	18	0.21	SI	SI	NO	NO	NO	NO
11	José Antonio Medellín	M	18	0.21	SI	NO	NO	NO	NO	NO
12	Selene Lembrino C.	F	21	0.39	SI	SI	NO	NO	NO	NO
13	Vanessa Alvarado O	F	18	0.14	SI	SI	SI	NO	NO	NO
14	Itzel S Jiménez Molina	F	18	0.17	SI	NO	NO	NO	NO	NO
15	Alejandra Suárez L	F	26	0.25	SI	SI	SI	NO	NO	NO
16	Ma Carmen Cervantes H	F	20	0.03	SI	NO	NO	NO	NO	NO
17	Verónica Cabrera Glez.	F	19	0.17	SI	SI	SI	SI	NO	NO
18	Mauricio Castillo F.	M	18	0.17	SI	SI	SI	NO	NO	NO
19	Mariana Díaz Menéndez	F	18	0.07	SI	SI	SI	NO	NO	NO
20	David Vargas García	M	18	0.07	SI	NO	NO	NO	SI	NO

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE ARANDANO EN ENJUAGUE BUCAL SOBRE MICROORGANISMOS EN SALIVA**

21	Hugo Sánchez Cortés	M	21	0.17	SI	NO	SI	NO	NO	NO
22	José Irwin Cuamatzi S	M	20	0.14	SI	NO	NO	NO	SI	NO
23	Evelyn Rojas Ata	F	20	0.28	SI	NO	NO	NO	SI	NO
24	Abdiel Cabrera Flores	M	19	0.03	SI	NO	NO	NO	NO	NO
25	Imelda Marquez Rivera	F	19	0.1	SI	SI	NO	NO	NO	NO
26	Mayte Leon Luna	F	19	0.21	SI	NO	NO	NO	NO	NO
27	Anahis Montealegre Jiménez	F	21	0.21	SI	SI	NO	SI	SI	NO
28	Karla Gabriela Ramírez	F	18	0.21	SI	SI	SI	NO	NO	NO
29	Edgar Iván Rodríguez Hernández	M	20	0.1	SI	SI	NO	NO	SI	NO
30	Elizabeth Natalia López Jiménez	F	18	0.57	SI	SI	NO	NO	NO	NO

PLACEBO	
ARANDANO	

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE ARANDANO EN ENJUAGUE BUCAL SOBRE MICROORGANISMOS EN SALIVA**

• CRECIMIENTO DE STREPTOCOCCUSMUTANS

N°	NOMBRE	GENERO	EDAD	CPO	UFC / <i>Streptococcus mutans</i> (SEMANAS)				
					0	1	2	3	4
1	Carlos Alberto Delgado J	M	18	0.32	3	3	2	2	2
2	Reyes Conde Corona	F	19	0.28	11	10	9	8	3
3	Kenia A Aquihauatl	F	20	0.1	5	3	3	3	3
4	Ma Fernanda Rivera P	F	18	0.5	4	4	4	4	4
5	Michel Castillo Cruz	F	18	0.53	15	14	13	10	5
6	Ximena Cerdio Blanco	F	19	0.28	13	13	13	12	6
7	Diana V Díaz Velázquez	F	19	0.28	8	7	7	6	6
8	Guadalupe Medel Pérez	F	18	0.21	11	11	11	9	5
9	Brenda Suárez García	F	18	0.25	12	11	11	11	11
10	Sharon Flores Muñoz	F	18	0.21	14	12	10	9	3
11	José Antonio Medellín	M	18	0.21	15	14	9	5	2
12	Selene Lembrino C.	F	21	0.39	6	6	4	4	4
13	Vanessa Alvarado O	F	18	0.14	4	4	3	3	3
14	Itzel S Jiménez Molina	F	18	0.17	12	12	11	10	4
15	Alejandra Suárez L	F	26	0.25	12	8	0	0	0
16	Ma Carmen Cervantes H	F	20	0.03	2	2	2	2	2
17	Verónica Cabrera Glez.	F	19	0.17	10	7	6	4	1
18	Mauricio Castillo F.	M	18	0.17	7	6	5	4	2
19	Mariana Díaz Menéndez	F	18	0.07	11	10	9	8	4
20	David Vargas García	M	18	0.07	3	3	3	2	2
21	Hugo Sánchez Cortés	M	21	0.17	10	10	9	8	8
22	José Irwin Cuamatzi S	M	20	0.14	9	8	8	7	1
23	Evelyn Rojas Ata	F	20	0.28	14	13	10	9	9
24	Abdiel Cabrera Flores	M	19	0.03	3	2	2	2	2
25	Imelda Marquez Rivera	F	19	0.1	6	6	5	5	5
26	Mayte Leon Luna	F	19	0.21	5	5	4	4	4
27	Anahis Montealegre Jiménez	F	21	0.21	14	13	11	11	10
28	Karla Gabriela Ramírez	F	18	0.21	7	6	6	6	5
29	Edgar Iván Rodríguez Hernández	M	20	0.1	10	8	8	8	8
30	Elizabeth Natalia López Jiménez	F	18	0.57	13	10	10	9	8

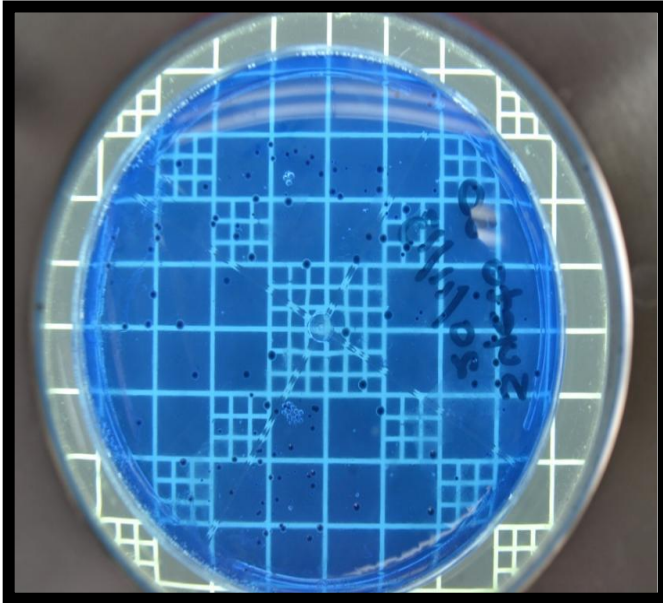
PLACEBO	
ARANDANO	

• Identificación de MO

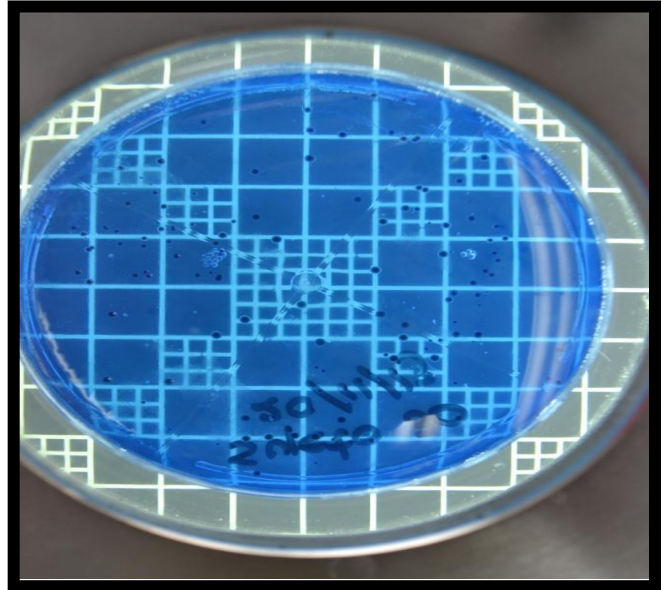
					Identificación de MO
N°	NOMBRE	GENERO	EDAD	CPO	
1	Carlos Alberto Delgado J	M	18	0.32	<i>Enterococcus sp, Moraxella sp</i>
2	Reyes Conde Corona	F	19	0.28	<i>Enterococcus sp, Escherichia coli, Candida sp</i>
3	Kenia A Aquihauatl	F	20	0.1	<i>Staphylococcus sp, Enterobacter</i>
4	Ma Fernanda Rivera P	F	18	0.5	<i>Moraxella sp, Candida sp</i>
5	Michel Castillo Cruz	F	18	0.53	<i>Enterococcus sp, Escherichia coli</i>
6	Ximena Cerdio Blanco	F	19	0.28	<i>Candida sp, Staphylococcus aureus</i>
7	Diana V Díaz Velázquez	F	19	0.28	<i>Pseudomonas aeruginosa, Candida sp, Enterococcus sp</i>
8	Guadalupe Medel Pérez	F	18	0.21	<i>Escherichia coli, Enterococcus faecalis</i>
9	Brenda Suárez García	F	18	0.25	<i>Staphylococcus sp, Enterobacter</i>
10	Sharon Flores Muñoz	F	18	0.21	<i>Pseudomonas, Candida sp, Enterococcus sp</i>
11	José Antonio Medellín	M	18	0.21	<i>Candida sp, Staphylococcus epidermidis</i>
12	Selene Lembrino C.	F	21	0.39	<i>Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae</i>
13	Vanessa Alvarado O	F	18	0.14	<i>Pseudomonas, Candida sp, Enterococcus sp</i>
14	Itzel S Jiménez Molina	F	18	0.17	<i>Streptococcus pyogenes, Enterococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis</i>
15	Alejandra Suárez L	F	26	0.25	<i>Enterococcus faecalis, Moraxella sp, Serratia marcescens</i>
16	Ma Carmen Cervantes H	F	20	0.03	<i>Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa</i>
17	Verónica Cabrera Glez.	F	19	0.17	<i>pseudomonas, Candida sp, Enterococcus sp</i>
18	Mauricio Castillo F.	M	18	0.17	<i>Staphylococcus aureus, Klebsiella oxytoca</i>
19	Mariana Díaz Menéndez	F	18	0.07	<i>Enterobacter sp, Candida sp</i>
20	David Vargas García	M	18	0.07	<i>Enterococcus sp, Escherichia coli, Candida sp</i>
21	Hugo Sánchez Cortés	M	21	0.17	<i>Klebsiella pneumoniae, Citrobacter sp</i>
22	José Irwin Cuamatzi S	M	20	0.14	<i>Enterococcus sp, Escherichia coli, Candida sp</i>
23	Evelyn Rojas Ata	F	20	0.28	<i>Escherichia coli, Enterococcus faecalis</i>
24	Abdiel Cabrera Flores	M	19	0.03	<i>Staphylococcus epidermidis, Enterobacter sp</i>
25	Imelda Marquez Rivera	F	19	0.1	<i>Candida sp, Staphylococcus sp, Staphylococcus aureus</i>
26	Mayte Leon Luna	F	19	0.21	<i>Moraxella sp, Citrobacter sp</i>
27	Anahis Montealegre Jiménez	F	21	0.21	<i>Candida sp, Staphylococcus aureus</i>
28	Karla Gabriela Ramírez	F	18	0.21	<i>Staphylococcus aureus, Klebsiella oxytoca</i>
29	Edgar Iván Rodríguez Hernández	M	20	0.1	<i>Escherichia coli, Enterococcus faecalis</i>
30	Elizabeth Natalia López Jiménez	F	18	0.57	<i>Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis</i>

PLACEBO	
ARANDANO	

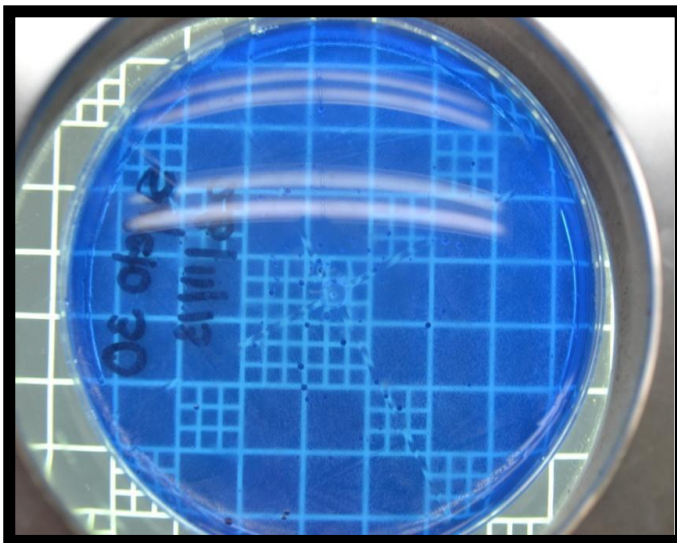
ANEXO 6: MUESTRAS REPRESENTATIVAS DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE ARANDANO EN ENJUAGUE BUCAL



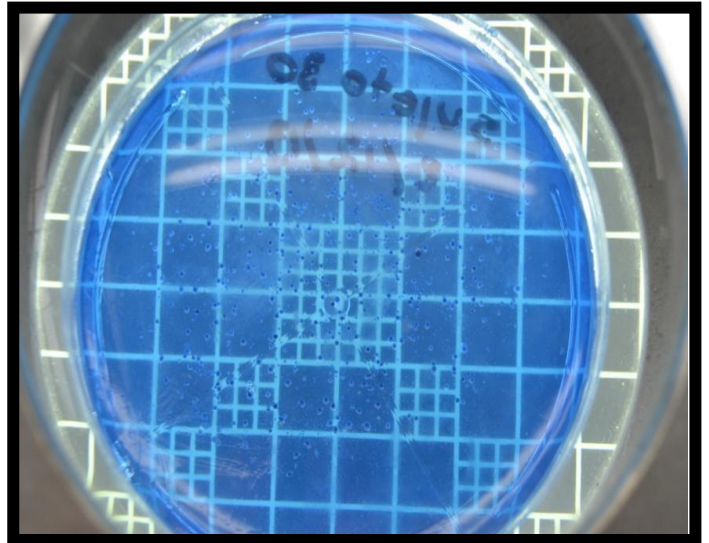
SEMANA 1



SEMANA 2



SEMANA 3



SEMANA 4

Fuente: Observaciones de este estudio.

ANEXO 7: CUANTIFICACIÓN DE LA OMS PARA EL ÍNDICE DE CPO

**INDICES CPO**

<b>Placebo</b>			<b>Arándano</b>		
1	Carlos Alberto Delgado J	0.32	2	Reyes Conde Corona	0.28
3	Kenia A Aquihauatl	0.1	5	Michel Castillo Cruz	0.53
4	Ma Fernanda Rivera P	0.5	6	Ximena Cerdio Blanco	0.28
7	Diana V Díaz Velázquez	0.28	8	Guadalupe Medel Pérez	0.21
9	Brenda Suárez García	0.25	10	Sharon Flores Muñoz	0.21
12	Selene Lembrino C.	0.39	11	José Antonio Medellín	0.21
13	Vanessa Alvarado O	0.14	14	Itzel S Jiménez Molina	0.17
16	Ma Carmen Cervantes H	0.03	15	Alejandra Suárez L	0.25
20	David Vargas García	0.07	17	Verónica Cabrera Glez.	0.17
21	Hugo Sánchez Cortés	0.17	18	Mauricio Castillo F.	0.17
24	Abdiel Cabrera Flores	0.03	19	Mariana Díaz Menéndez	0.07
25	Imelda Márquez Rivera	0.1	22	José Irwin Cuamatzi S	0.14
26	Mayte León Luna	0.21	23	Evelyn Rojas Ata	0.28
28	Karla Gabriela Ramírez	0.21	30	Elizabeth Natalia López Jiménez	0.57
29	Edgar Iván Rodríguez Hernández	0.1	27	Anahis Montealegre Jimenez	0.21
	suma	2.9		suma	3.75
	promedio	0.19		promedio	0.25

INDICE CPO	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
GRUPO	$\bar{X}$	S
PLACEBO	0.19	0.07
ARÁNDANO	0.25	0.08

INDICE CPO			
MASCULINO		FEMENINO	
Carlos Alberto Delgado J	0.32	Kenia A Aquihauatl	0.1
Reyes Conde Corona	0.28	Ma Fernanda Rivera P	0.5
Jose Antonio Medellin	0.21	Michel Castillo Cruz	0.53
Mauricio Castillo F.	0.17	Ximena Cerdio Blanco	0.28
David Vargas García	0.07	Diana V Díaz Velázquez	0.28
Hugo Sánchez Cortés	0.17	Guadalupe Medel Pérez	0.21
Jose Irwin Cuamatzi S	0.14	Brenda Suárez García	0.25
Abdiel Cabrera Flores	0.03	Sharon Flores Muñoz	0.21
Edgar Ivan Rodriguez Hernández	0.1	Selene Lembrino C.	0.39
SUMA	1.49	Vanessa Alvarado O	0.14
PROMEDIO	0.165556	Itzel S Jiménez Molina	0.17
		Alejandra Suárez L	0.25
		Ma Carmen Cervantes H	0.03
		Veronica Cabrera Glez.	0.17
		Mariana Díaz Menéndez	0.07
		Evelyn Rojas Ata	0.28
		Imelda Marquez Rivera	0.1
		Mayte Leon Luna	0.21
		Anahis Montealegre Jimenez	0.21
		Karla Gabriela Ramirez	0.21
		SUMA	4.59
		PROMEDIO	0.218571429

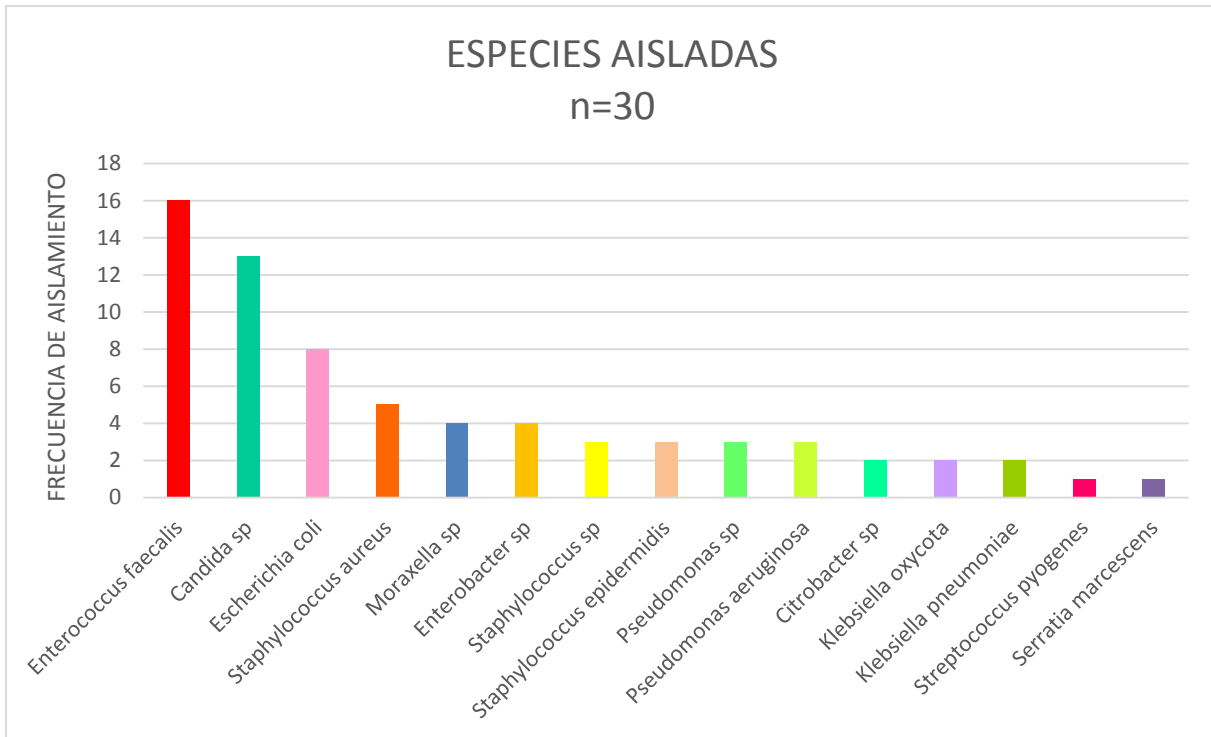
**EFEECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE ARANDANO EN ENJUAGUE BUCAL SOBRE MICROORGANISMOS EN SALIVA**

	PLACEBOS	CPO	xi	(xi -x)	(xi-x)2
1	Carlos Alberto Delgado J	0.32	0.32	0.13	0.016
3	Kenia A Aquihauatl	0.1	0.1	-0.09	-0.008
4	Ma Fernanda Rivera P	0.5	0.5	0.31	0.09
7	Diana V Díaz Velázquez	0.28	0.28	0.09	0.008
9	Brenda Suárez García	0.25	0.25	0.06	0.003
12	Selene Lembrino C.	0.39	0.39	0.2	0.04
13	Vanessa Alvarado O	0.14	0.14	-0.05	-0.002
16	Ma Carmen Cervantes H	0.03	0.03	-0.16	-0.025
20	David Vargas García	0.07	0.07	-0.12	-0.014
21	Hugo Sánchez Cortés	0.17	0.17	-0.02	-0.0004
24	Abdiel Cabrera Flores	0.03	0.03	-0.16	-0.02
25	Imelda Marquez Rivera	0.1	0.1	-0.09	-0.008
26	Mayte Leon Luna	0.21	0.21	0.02	0.0004
18	Karla Gabriela Ramirez	0.21	0.21	0.02	0.0004
29	Edgar Ivan Rodriguez Hernández	0.1	0.1	-0.09	-0.008
				suma	0.0724
				varianza	0.0051
				s	0.07

	Arándano	CPO	xi	(xi-x)	(xi-x)2
2	Reyes Conde Corona	0.28	0.28	0.03	0.0009
5	Michel Castillo Cruz	0.53	0.53	0.28	0.07
6	Ximena Cerdio Blanco	0.28	0.28	0.03	0.0009
8	Guadalupe Medel Pérez	0.21	0.21	-0.04	-0.001
10	Sharon Flores Muñoz	0.21	0.21	-0.04	-0.001
11	Jose Antonio Medellin	0.21	0.21	-0.04	-0.001
14	Itzel S Jiménez Molina	0.17	0.17	-0.08	-0.006
15	Alejandra Suárez L	0.25	0.25	0	0
17	Veronica Cabrera Glez.	0.17	0.17	-0.08	-0.006
18	Mauricio Castillo F.	0.17	0.17	-0.08	-0.006
19	Mariana Díaz Menendez	0.07	0.07	-0.18	-0.032
22	Jose Irwin Cuamatzi S	0.14	0.14	-0.11	-0.012
23	Evelyn Rojas Ata	0.28	0.28	0.03	0.0009
30	Elizabeth Natalia López Jimenez	0.57	0.57	0.32	0.1
27	Anahis Montealegre Jimenez	0.21	0.21	-0.04	-0.001
				suma	0.1067
				varianza	0.0075
				S	0.08

**ANEXO 8: ESPECIES AISLADAS**

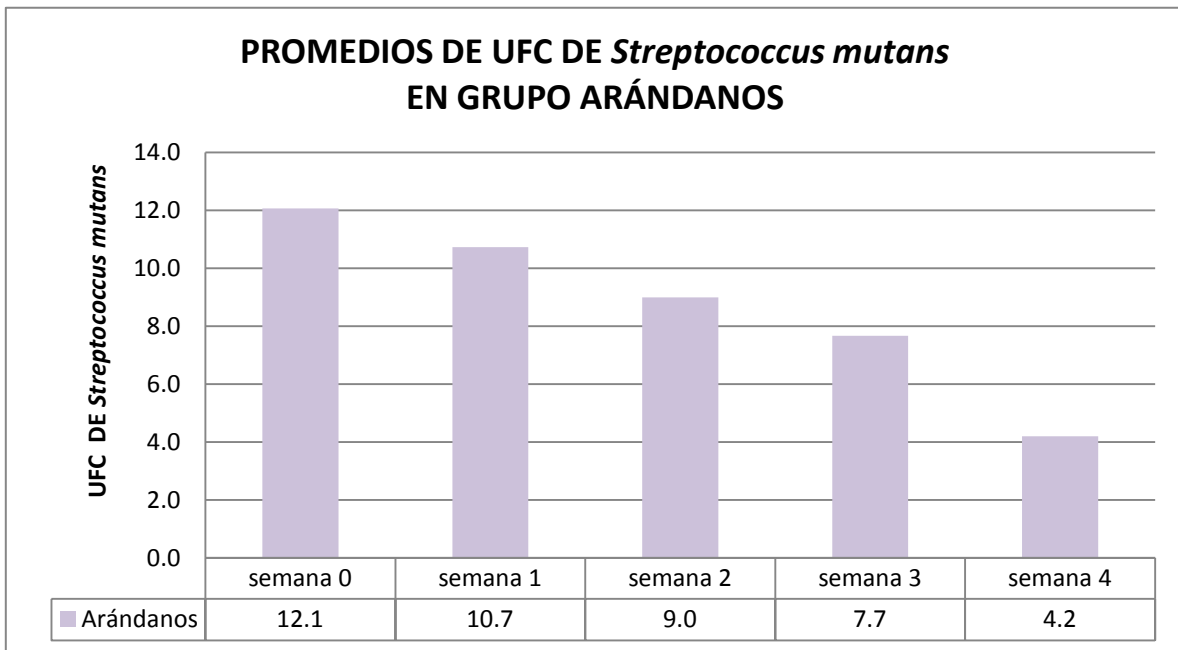
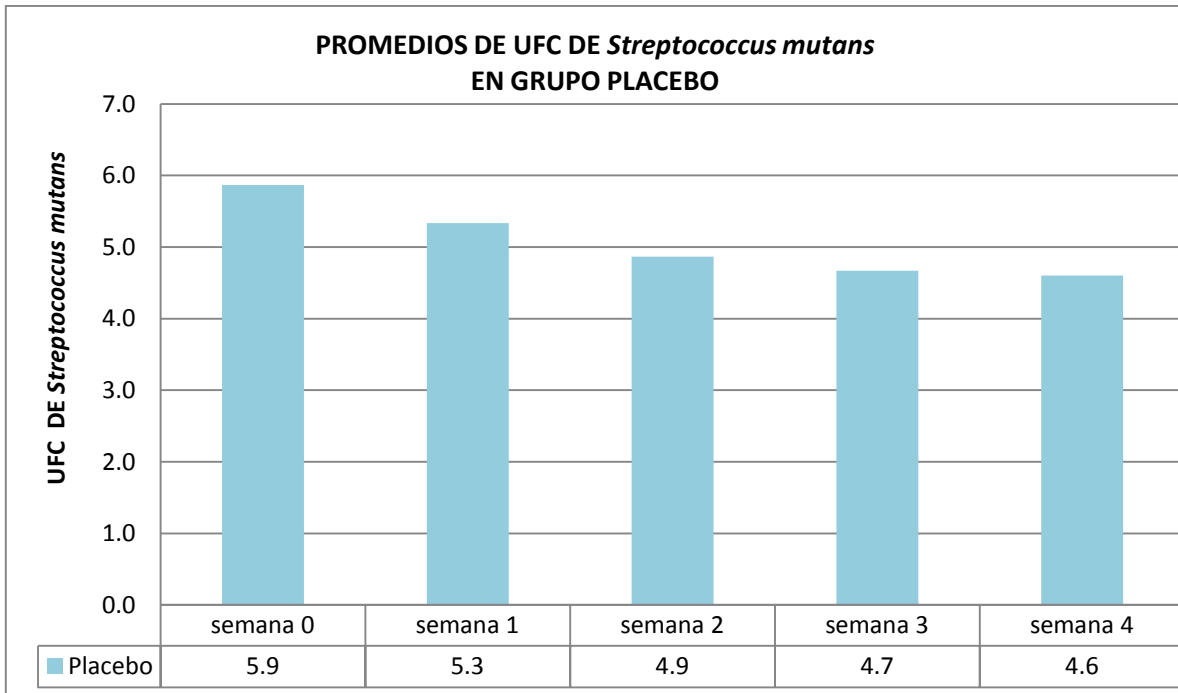
<i>Enterococcus faecalis</i>	16
<i>Candida sp</i>	13
<i>Escherichia coli</i>	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	5
<i>Moraxella sp</i>	4
<i>Enterobacter sp</i>	4
<i>Staphylococcus sp</i>	3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3
<i>Pseudomonas sp</i>	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
<i>Citrobacter sp</i>	2
<i>Klebsiella oxycota</i>	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1



**Graficas5: Especies aisladas**

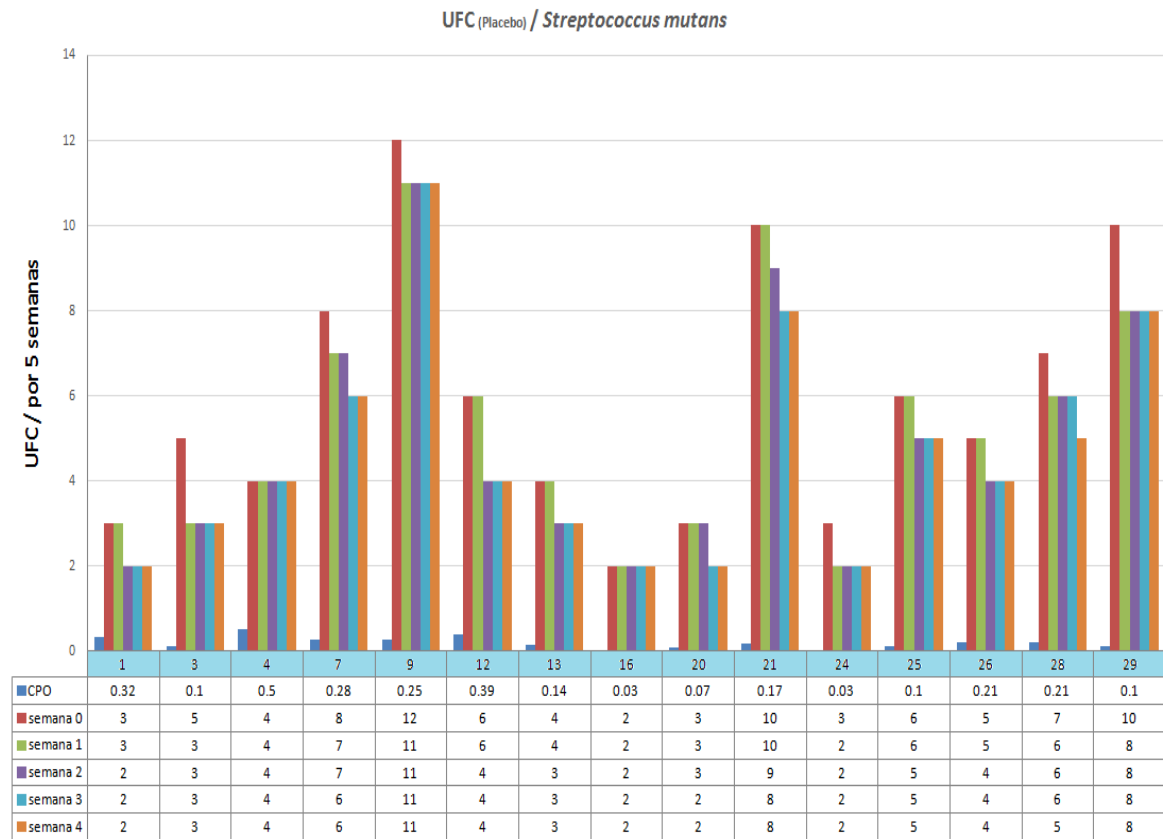
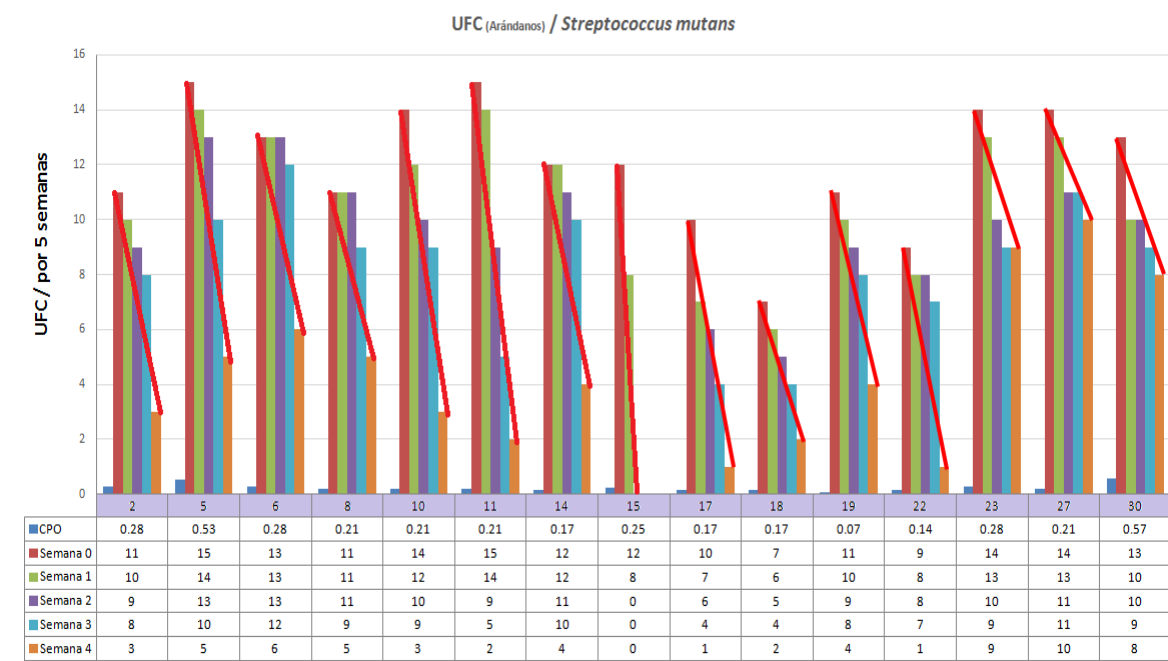
Fuente: Observaciones de este estudio.

**Graficas 6: UFC / por 5 semanas**



Fuente: observación en este estudio.

**Graficas 7: UFC / por 5 semanas**



Fuente: Observación de e este estudio.

## CÁLCULOS ESTADÍSTICOS

Placebo: Semana 0 y Semana 4

$$n_1 = 15 - 1 = 14$$

$$n_2 = 15 - 1 = 14$$

$$^{\circ}L = 14 \rightarrow 2.997 \text{ al } 99\%$$

$$\rightarrow 2.145 \text{ al } 95\%$$

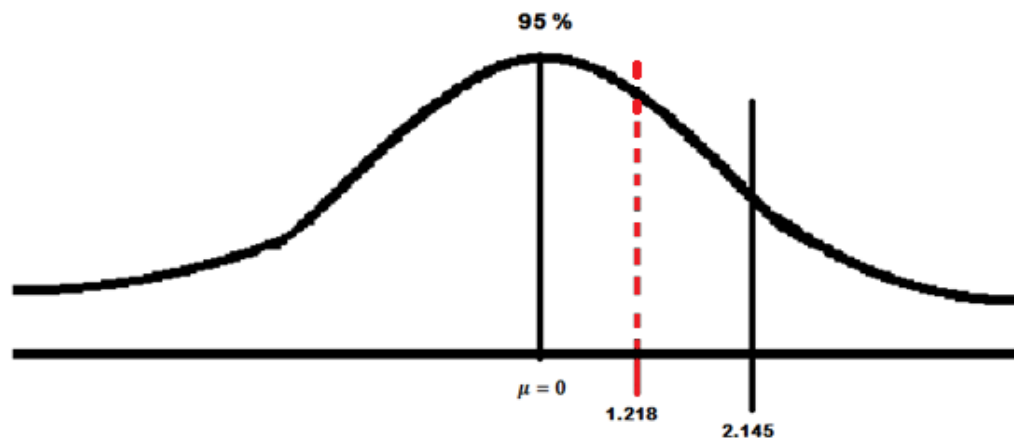
$$t = \frac{(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)\mu}{\sqrt{S_1^2 + S_1^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(5.86 - 4.6)0}{\sqrt{2.99^2 + 2.66^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{1.26}{\sqrt{16.01}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{1.26}{4.001} \times 3.87$$

$$t = 1.218$$



No existe diferencia significativa.

✚ Arándanos: Semana 0 y Semana 4

$$n_1 = 15 - 1 = 14$$

$$n_2 = 15 - 1 = 14$$

$$°L = 14 \rightarrow 2.997 \text{ al } 99\%$$

$$\rightarrow 2.145 \text{ al } 95\%$$

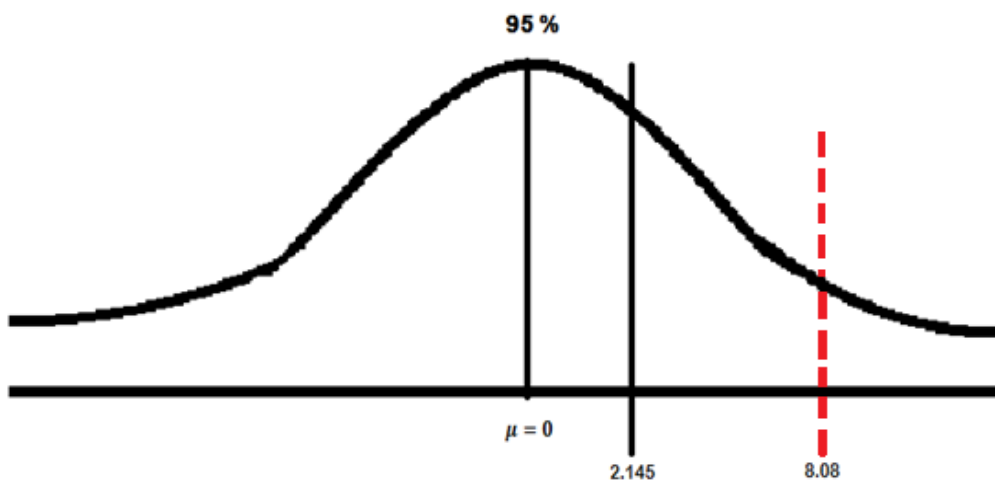
$$t = \frac{(\bar{X}_1 + \bar{X}_2)\mu}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(12.06 - 4.2)0}{\sqrt{2.28^2 + 3^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{7.86}{\sqrt{14.19}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{7.86}{3.76} \times 3.87$$

$$t = 8.08$$



Si existe una diferencia significativa

Placebo Vs Arándanos

$$\bar{X}_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 8.73$$

$$S_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 0.43$$

$$n_{2(Ar\acute{a}ndanos)} = 15$$

$$\bar{X}_{1(Placebo)} = 5.06$$

$$S_{1(Placebo)} = 0.13$$

$$n_{1(Placebo)} = 15$$

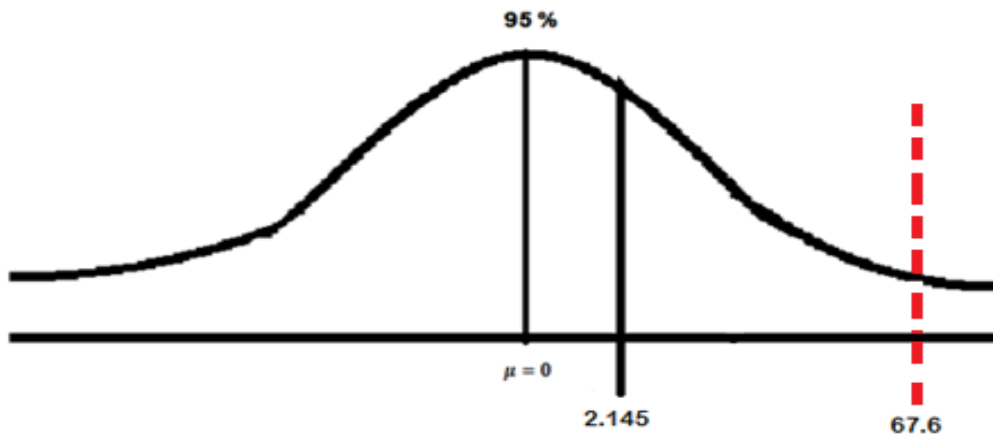
$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) \mu}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}} \times \sqrt{n}$$

$$t = \frac{(8.73 - 5.06) 0}{\sqrt{0.43^2 + 0.13^2}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{3.67}{\sqrt{0.20}} \times \sqrt{15}$$

$$t = \frac{3.67}{0.21} \times 3.87$$

$$t = 67.63$$



Si existe diferencia significativa