



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
CARRERA DE ODONTOLOGÍA**

**EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI)
EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS
MUTANS. ESTUDIO IN VITRO**

Trabajo de titulación presentado como requisito previo a la obtención del Título de
ODONTÓLOGO

Autor: Vinicio Ramiro Maldonado Guacho

Tutora: B.F. María Fernanda Caicedo Breedy

Quito, noviembre 2017

DERECHOS DE AUTOR

Yo, Vinicio Ramiro Maldonado Guacho en calidad de autor del trabajo de Investigación de tesis Realizado sobre **“EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO IN VITRO”**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los contenidos de esta obra con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad establecido con los artículos 5, 6, 8, 19 y además pertinentes de la ley de Prioridad Intelectual y Reglamento.

También, autorizo a la Universidad Central del Ecuador realizar la digitación y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

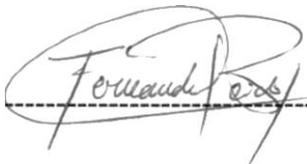
Vinicio Ramiro Maldonado Guacho

C.I. 1720244977

INFORME FINAL DE APROBACION DE TESIS

Yo, B.F. María Fernanda Caicedo Breedy, en calidad de tutor del trabajo de titulación **EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO IN VITRO**, elaborado por estudiante **Vinicio Ramiro Maldonado Guacho**, estudiante de la Carrera de Odontología, Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico, en el campo epistemológico y ha superado el control anti plagio, para ser sometido a la evaluación por parte del jurado examinador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo investigativo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito a los 19 días del mes de octubre del año 2017.



DOCENTE TUTORA

B.F. María Fernanda Caicedo Breedy.

C.I. 060238408

APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL/TRIBUNAL

El Tribunal constituido por: Dra. María José Rodríguez Albuja; Dra. Johana Elizabeth Cerda Altamirano.

Luego de receptor la presentación oral del trabajo de titulación previo a la obtención del título de Odontóloga presentado por el Sr. Vinicio Ramiro Maldonado Guacho con el título: **“EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS*. ESTUDIO IN VITRO”**.

Emite el siguiente veredicto:

Fecha:

Para constancia de lo actuado firman:

Nombre y Apellido	Calificación	Firma
Dra. María José Rodríguez Albuja
Dra. Johana Elizabeth Cerda Altamirano

DEDICATORIA

A:

Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio además de permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida.

Mi padres DOLORES y ROGELIO, por darme la vida, quererme mucho, creer en mí y porque siempre me apoyaron, padres gracias por darme una carrera para mi futuro, todo esto se los debo a ustedes. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

Mis hermanos, JEANNETH, DIEGO Y CHRISTIAN, por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho, esto también se lo debo a ustedes.

Mi sobrinos, VALENTÍN Y CAMILA, mis pequeños han llegado en los momentos más importantes de nuestras vidas sean convertido en mi motivación, alegría, superación, los quiero mucho.

Son toda mi vida y motivación

VINICIO MALDONADO GUACHO

AGRADECIMIENTOS

Dedico esta tesis a mis padres quienes fueron un gran apoyo emocional durante el tiempo en que escribía esta tesis.

A mis hermanos quienes me apoyaron todo el tiempo. a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A mi tutora de tesis B.F. María Fernanda Caicedo Breedy quien nunca desistió al enseñarme, apoyarme y motivarme para culminación de este proyecto de investigación; al Profe Max Bonilla, a la Lic. Yolanda Andrade, quienes con su apoyo y colaboración contribuyeron para la culminación del presente estudio; A la Universidad Central del Ecuador, especialmente a la Facultad de Odontología, que me ha dado la oportunidad de formarme en sus aulas y ha sido el camino en mi formación profesional y humana a través de su destacado personal docente.

A todas las personas que de manera directa e indirecta contribuyeron para poder escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

INDICE DE CONTENIDO

DERECHOS DE AUTOR.....	ii
INFORME FINAL DE APROBACION DE TESIS.....	iii
APROBACIÓN DE LA PRESENTACIÓN ORAL/TRIBUNAL	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
INDICE DE CONTENIDO.....	vii
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE GRAFICOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCION	1
CAPÍTULO I.....	2
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1. JUSTIFICACION	3
1.2. OBJETIVOS	5
1.2.1 Objetivo General	5
1.2.2 Objetivos Específicos.....	5
1.3 HIPÓTESIS.....	5
1.3.1 Hipótesis de investigación, H1.....	5
1.3.2 Hipótesis nula, H0.....	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2. Caries.....	6
2.1 Definición.....	6
2.2 Generalidades.....	6
2.3 Etiología.....	7
2.4 Desarrollo de la lesión cariosa	8
3. Biofilm	8
3.1 Formación del biofilm.....	9
3.2 Formación del biofilm sobre la superficie del diente	9
4. Microbiología oral.....	10

4.1 Género Streptococcus.....	12
4.1.1 Streptococcus mutans.....	12
4.1.1.1 Generalidades.....	13
4.1.1.2 Clasificación.....	13
4.1.1.3 Factores de virulencia.....	13
4.1.1.4 <i>Streptococcus mutans</i> y su relación con la caries dental.....	14
4.1.1.5 Características en cultivo.....	14
5. Agentes antimicrobianos.....	15
5.1 Fitoterapia.....	15
5.1.1 Generalidades.....	15
5.1.2 Definición.....	16
5.1.3 Formas de uso de la fitoterapia.....	16
5.1.4 Fitoterapia en Ecuador.....	17
5.1.5 Fitoterapia aplicada en Odontología.....	17
6. Toronja (Citrus Paradisi).....	18
6.1 Generalidades.....	18
6.2 Descripción botánica.....	18
6.3 Distribución y hábitat.....	18
6.4 Variedades.....	19
6.4.1 Toronjas blancas o comunes.....	19
6.4.2 Toronjas pigmentadas.....	20
6.5 Propiedades nutritivas.....	20
6.6 Composición Química.....	20
6.7 Aplicaciones.....	20
6.8 Usos medicinales atribuidos.....	21
6.9 Usos odontológicos del citrus paradisi.....	21
6.10 Extracto vegetal.....	22
6.10.1 Definición.....	22
6.10.2 Características de los extractos.....	22
6.10.3 Consistencia de los extractos.....	23
6.10.4. Métodos de extracción.....	23
6.10.5 Extracto de Citrus paradisi.....	23
CAPÍTULO III.....	25

METODOLOGÍA	25
3.1 Metodología	25
3.1.1 Tipo y diseño de la investigación.....	25
3.1.2 Población de estudio y muestra.....	25
3.2. Criterios de inclusión y exclusión	26
3.2.1 Criterios de inclusión	26
3.2.2 Criterios de exclusión.....	26
3.3 Variables	26
3.3.1 Conceptualización de las variables	26
Variables independientes.....	26
3.4 Operacionalización de las variables	27
3.5 Procedimientos y técnicas	28
3.5.1 Materiales y métodos	28
3.5.1.1 Recolección de la muestra de toronja.....	29
3.5.1.2 Obtención del extracto de toronja (Citrus paradisi)	30
3.5.1.3 Ensayo microbiológico.....	33
3.5.1.4 Eliminación de desechos	37
3.5.2 Medición de variables y procedimientos.....	38
CAPÍTULO IV	38
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	38
Número de repeticiones y medición del halo inhibitorio con el extracto de toronja al 5%, 25% y 50% a las 48 horas.....	40
4.2 Análisis de resultados.....	40
CAPITULO V	49
DISCUSION	49
CAPÍTULO VI.....	51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	51
6.1 Conclusiones	51
6.2 Recomendaciones.....	52
BIBLIOGRAFIA.....	53
ANEXOS.....	61
Anexo 1. Solicitud de uso del laboratorio del Centro de Química.....	62
Anexo 2. Certificado otorgado por el Químico en la elaboración del extracto.....	63

Anexo 3. Solicitud de uso del laboratorio de Microbiología	64
Anexo 4. Certificado otorgado por coordinador del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la U.C.E.	65
Anexo 5. Certificado del Subcomité de Ética de la Universidad Central del Ecuador	66
Anexo 6. Certificado del informe estadístico	67
Anexo 7. Abstract Certificado.....	68
Anexo 8. Repositorio Biblioteca universidad Central del Ecuador.....	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de las variables	27
Tabla 2 Resultados de halos de inhibición sobre <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas.....	38
Tabla 3 Resultados de halos de inhibición sobre <i>Streptococcus mutans</i> a las 48 horas.....	39
Tabla 4 Pruebas de normalidad	41
Tabla 5 Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis a las 24 Horas	42
Tabla 6 Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis a las 48 Horas	45

LISTA DE FIGURAS

Figura No. 1. Esquema de Keyes modificado	7
Figura No 2. Distribución de las bacterias en la boca humana	11
Figura No. 3 Strptococcus mutans	12
Figura No. 4 Muestras de toronja.....	30
Figura No. 5 Pesaje de las semillas de toronja.....	30
Figura No. 7 Semillas de toronjas peladas	31
Figura No. 6 Semillas de toronja.....	31
Figura No. 8 Equipo Soxhlet.....	31
Figura No. 9 Extracto obtenido	32
Figura No. 10 Diluciones del extracto	33
Figura No. 11 Cepa del Streptococcus mutans.....	33
Figura No.13 Cepa del <i>Streptococcus mutans</i>	34
Figura No.12 Cajas Petri con agar sangre	34
Figura No. 14 Siembra de <i>S. mutans</i> en las placas.....	35
Figura No. 15 Discos de papel filtro	35
Figura No. 16 Colocación de los discos de papel filtro en placas inoculadas.....	36
Figura No.17 Formación de los halos de inhibición Fuente: Investigador.....	37
Figura No. 18 Medición de los halos de inhibición	37
Figura No. 19 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, datos de 24 horas.....	43
Figura No. 20 Comparaciones dos a dos, datos de 24 horas	44
Figura No. 21 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, datos de 48 horas.....	46
Figura No. 22 Comparaciones dos a dos, datos de 48 horas	47

LISTA DE GRAFICOS

Gráfico 1 Comparación de medias 24 horas.....	40
Gráfico 2 Comparación de medias 48 horas.....	42

TEMA: EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO IN VITRO

AUTOR: Vinicio Ramiro Maldonado Guacho
TUTORA: B.F. María Fernanda Caicedo Breedy

RESUMEN

La caries dental se la define como una patología universal y de múltiples factores que se caracteriza por la disolución localizada y química de los tejidos duros de las piezas dentales por la acción de ácidos orgánicos, resultado del metabolismo fermentativo de azúcares de las bacterias.

Existen un sin fin de elementos los cuales son capaces de inhibir microorganismos bucales los cuales están asociados a la formación de la placa dental, entre los cuales se mencionan a los antibióticos, agentes químicos como la clorhexidina y a ciertos extractos vegetales. Desde el inicio de la utilización de las plantas medicinales se conocían las propiedades curativas de estas, pero se desconocían sus principios activos, es así que el objetivo planteado en este estudio de tipo experimental, fue determinar la capacidad inhibitoria de extracto de toronja mediante la utilización de discos embebidos en esta sustancia en concentraciones del 5, 25 y 50% utilizando clorhexidina al 0,12% como control positivo y agua destilada como control negativo, sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, mediante la medición de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio en ambos tiempos de análisis (24 y 48 horas), determinan que el efecto antimicrobiano del fruto del Citrus paradisi sobre *Streptococcus mutans* es Nulo (-) en las concentraciones de 5% y 25% por el contrario en la concentración de 50% se observó sensibilidad a las 48 horas de exposición del extracto utilizando como referente la escala de sensibilidad de Duraffour; inclusive se verifica que las concentraciones de 5%, 25% y 50% son significativamente distintas al efecto antimicrobiano de la clorhexidina sobre este microorganismo. En base a los resultados se puede establecer que el extracto de toronja (Citrus paradisi) presenta efecto inhibitorio sobre la cepa *Streptococcus mutans* mediante el estudio in vitro.

Palabras claves: *Streptococcus mutans*, Extracto de toronja, Inhibición bacteriana,

TOPIC: INHIBITORY EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF GRAPEFRUIT (CITRUS PARADISI) ON THE STRPTOCOCCUS MUTANS. IN VITRO STUDY.

Author: Vinicio Ramiro Maldonado Guacho

Tutora: B.F. María Fernanda Caicedo Breedy

ABSTRACT

Dental caries is defined as a universal pathology, which results from several factors and that is characterized by the localized and chemical dissolution of the hard tissues of the teeth due to organic acids that result from the fermentative metabolism of the sugar of bacteria.

There are countless elements capable of inhibiting oral microorganisms associated with the formation of dental plaque, amongst which we can mention antibiotics, chemical agents such as chlorhexidine and certain vegetable extracts, When the moment medicinal plants were first used, there were known their healing properties, but it was unknown what active ingredient they had. This is an experimental study, proposed in order to determine the inhibitory effect of the grapefruit extract through disks submerged in this substance in concentrations of 5, 25 and 50%, using chlorhexidine at 0,12% as positive control and distilled water as negative control, over the strain of *Streptococcus mutans*. The inhibitory halos were measured 24 and 48 hours after.

The results obtained in this study in both time periods (24 and 48 hours) determined that the *Citrus paradisi* has no effect over the *Streptococcus mutans* (-) at 5% and 25%. However, at 50% there was sensitivity after 48 hours of exposure, using the Duraffour scale as guide. It was even verified that concentrations at 5%, 25% and 50% are significantly different to the antimicrobial effect of chlorhexidine over this microorganism. Based on these results it was possible to establish that the grapefruit extract (*Citrus paradisi*) has an inhibitory effect over the strain of *Streptococcus mutans* in the in vitro study.

KEY WORDS: STREPTOCOCCUS MUTANS, GRAPEFRUIT, EXTRACT, BACTERIAL INHIBITION.

INTRODUCCION

La microbiota oral se caracteriza por ser extraordinariamente compleja en géneros y especies. La mayoría de investigadores coinciden en señalar que existen más de 600 especies bacterianas en el ambiente oral. La interrelación de la microbiota oral entre sí, expuesta a la acción de factores físicos y químicos del ambiente oral, define las características y composición de los microorganismos orales. ⁽¹⁾

Es por esta razón que la caries dental es producto de un desequilibrio en el ecosistema oral que lleva al predominio de una flora antes considerada normal en la cavidad oral y ahora convertida en patógena. Como es conocido, la caries dental es un proceso patológico infeccioso, multifactorial, localizado, posteruptivo y transmisible que destruye los tejidos duros dentales. ⁽²⁾

Desde el origen del hombre, las plantas están relacionadas con el cotidiano vivir como alimentos o medicamentos. Una expresión "la naturaleza que cura", dicha por Hipócrates, muestra que la medicina natural ha cambiado el desenvolvimiento del ser humano; la Fitoterapia se ha definido como un medicamento obtenido exclusivamente de materias primas activas de vegetales, por lo que el conocimiento de la eficiencia de su uso es de mucha importancia. Su eficacia y seguridad son evaluadas a través de levantamientos etnofarmacológicos de empleo, documentación tecnológica en publicaciones o ensayos clínicos. No se considera un medicamento fitoterapéutico que incluya sustancias activas aisladas, de cualquier origen, ni las asociaciones de éstas con extractos vegetales. La exploración y conocimiento de la naturaleza como fuente de una amplia variedad de moléculas bioactivas, el interés en terapias no convencionales que dejen a un lado los productos sintéticos y la eficacia demostrada de un gran número de preparaciones fitofarmacéuticas, ha llevado a elaborar diversos estudios sobre el uso de extractos de origen vegetal. Es por eso que el presente estudio in-vitro está enfocado en comprobar el efecto inhibitorio del extracto de toronja sobre el *Streptococcus mutans*, además el de encontrar los beneficios que este fruto podría aportar a la salud humana, ya que muchos de los microorganismos cada vez presentan características de resistencia a los diversos tratamientos ya existentes. ⁽³⁾

CAPÍTULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde los estudios de Clark en 1924 hasta la fecha diversas investigaciones han asociado al *Streptococcus mutans* con la formación de caries dental de tal manera que en la actualidad dicho microorganismo se considera como uno de los principales factores causales de la enfermedad en el humano. ⁽⁴⁾

La variedad de especies de bacterias que están presentes en los dientes y la mucosa del ser humano que origina la placa bacteriana son del género *Streptococcus*, específicamente el *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*. Estos microorganismos se encuentran en la cavidad bucal y tiene la propiedad de colonizar para luego producir los ácidos asociados con la sacarosa que causan las caries. ⁽⁵⁾

La asociación directa entre la presencia de microorganismos y la prevalencia de caries, la naturaleza infecciosa de esta patología y su reconocimiento, aislamiento e identificación de características específicas de los gérmenes, han permitido determinar el nivel de riesgo frente a la posibilidad de desarrollar caries, como también la severidad o grado de avance que esta puede adquirir. ⁽⁶⁾

En cuanto a los microorganismos presentes en la cavidad oral de los pacientes con caries, la necesidad de la prevención estomatológica integral es cada vez más importante ya que al profundizar la intervención odontológica en el ataque a las causas de este problema, considerando que por mucho tiempo se ha prestado mayor importancia a la reparación de los daños que a evitar la influencia de factores desencadenantes de la patogénesis. En este sentido, prevenir y curar enfermedades en individuos, familias y comunidades mediante acciones en personas sanas y enfermas, para mantener o devolver el estado de salud e impedir la posibilidad de recurrencia de problemas, es una de las acciones fundamentales de la atención primaria de salud. ⁽⁷⁾

Debe tomarse en cuenta la fitoterapéutica como una opción natural viable tanto en el ámbito médico, como a un nivel social y económico, en este sentido, se debe indicar que el Ecuador es un país con elevada biodiversidad natural lo cual se manifiesta en que el 80% de la población del país utiliza medicina tradicional para el beneficio de la salud, en vista del costo de los medicamentos y la limitada accesibilidad del servicio médico en las zonas remotas. ⁽⁸⁾ Es por esta razón que la elaboración de un compuesto antimicrobiano de amplio espectro como el extracto del *Citrus paradisi* el cual presenta características y propiedades como el de no ser tóxico, rico en bioflavonoides, puede llegar a convertirse en una alternativa viable para el tratamiento de afecciones bucales como es el de la caries dental.

Por lo antes mencionado se plantea el estudio del efecto inhibitorio del extracto toronja (*Citrus paradisi*) sobre el microorganismo *Streptococcus mutans* tomando en consideración la evidencia en diferentes investigaciones sobre las ventajas y beneficios de la aplicación de diversas presentaciones (extracto, aceite, ungüento) que provienen de las plantas medicinales ⁽⁹⁾

Basándose en lo mencionado anteriormente es que se formuló la siguiente interrogante:
¿Existe efecto inhibitorio del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) a diferentes concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans*?

1.1. JUSTIFICACION

En los países de América Latina y entre ellos Ecuador, persisten culturas nativas que conservan los conocimientos acerca del uso de las plantas, con formas de clasificación de enfermedades y selección de plantas ya definidas. ⁽¹⁰⁾

En los últimos años ha florecido un interés hacia la Medicina Alternativa por parte de la población general, el cual se acrecienta cada día y promueve una mayor demanda de

medicamentos basados en productos de origen vegetal, entre ellos los medicamentos naturopáticos, las esencias, los extractos, los multivitamínicos, entre otros.

Un informe emitido por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador indica que los resultados del Estudio Epidemiológico Nacional de Salud Bucal en escolares menores de 15 años en el país, realizados en el 2009, indica que niños a los 12 años de edad, presentan un promedio de piezas temporales cariadas, extraídas y obturadas del 13,5% y a los 6 años de edad con un 79,4%.⁽¹¹⁾

Patologías orales han sido tratadas con sustancias químicas de origen sintético, lo que en algunos casos han traído consigo efectos secundarios en la salud de las personas. Es por ello que se ha visto en la imperiosa necesidad de encontrar nuevas alternativas para tratar este tipo de patologías, que puedan inhibir los mecanismos de resistencia de los microorganismos. Una alternativa potencial para obtener fármacos novedosos, es la medicina de origen natural, la cual no genera efectos secundarios en la población.

De esta forma se realizó la presente investigación, considerando los fines de la ciencia odontológica, entre los cuales se encuentra descubrir nuevas sustancias con la capacidad de inhibir el crecimiento y proliferación de microorganismos causantes de afecciones en la cavidad bucal.

Un fruto que se conoce que presenta actividad antibacteriana es la toronja, un fruto autóctono de Sudamérica y de alta prevalencia en el Ecuador. Este extracto ha sido usado de manera empírica como antifúngico y antibacteriano, más no se lo ha explotado en el campo de la Odontología, especialmente sobre cepas de *Streptococcus mutans* uno de los microorganismos patógenos de mayor prevalencia en las enfermedades de la cavidad bucal.⁽¹²⁾

Es por esta razón que se busca determinar si el extracto de toronja (*Citrus paradisi*) tiene actividad antagonista sobre cepas de *Streptococcus mutans* y cuál es la concentración adecuada que presenta mayor efecto inhibitorio.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Determinar el efecto inhibitorio del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) en diferentes concentraciones (50%, 25% y 5%) sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad inhibitoria del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) al 50% de concentración a las 24 y 48 horas de incubación sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- Establecer la actividad inhibitoria del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) al 25% de concentración a las 24 y 48 horas de incubación sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- Evaluar la actividad inhibitoria del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) al 5% de concentración a las 24 y 48 horas de incubación sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

1.3 HIPÓTESIS

1.3.1 Hipótesis de investigación, H1

El extracto de toronja (*Citrus paradisi*) presenta efecto inhibitorio sobre la cepa *Streptococcus mutans* mediante el estudio in vitro.

1.3.2 Hipótesis nula, H0

El extracto de toronja (*Citrus paradisi*) NO presenta efecto inhibitorio sobre la cepa *Streptococcus mutans* mediante el estudio in vitro.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2. Caries

2.1 Definición

La caries dental, ha sido definida como un proceso patológico y dinámico, que se inicia desde los niveles subclínicos hasta los macroscópicos en esmalte y dentina, por lo que afecta los tejidos duros del diente. ⁽¹³⁾

La caries dental es una enfermedad multifactorial ⁽¹⁴⁾ convirtiéndose en un evidente problema de salud bucodental crónica e infecciosa. Enfermedad dinámica que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos y por el desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, lo que ocasiona una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de los tejidos duros. ⁽¹⁵⁾

2.2 Generalidades

Patología que afecta tanto la corona como la raíz del diente y la ausencia de atención causa la pérdida del órgano dentario. Constituye, además, un foco de infección para el organismo y para las personas que se vinculen con aquellas que están infectadas. La lesión inicial, denominada mancha blanca, es la primera evidencia visible de del proceso patológico sobre la superficie del tejido dentario, su forma es determinada por la distribución de la biopelícula y la dirección de los prismas del esmalte. ⁽¹⁶⁾

Dentro de la lesión cariogénica presenta características como la de presentar una superficie de esmalte intacto con un aspecto blanco opaco tras el secado, mostrando al tacto una superficie rugosa y áspera. Según datos de la Organización Mundial de la salud (OMS), unas 5 000 personas padecen caries dental, lo que equivale aproximadamente a 80 % de la población mundial, de manera que si se tiene en cuenta la cantidad de personas con estos padecimientos, se pudiera hablar de la existencia de una pandemia de enfermedades

dentales en el mundo y en América Latina. Su formación y desarrollo están condicionados por el modo y estilo de vida de las personas..⁽¹⁷⁾

2.3 Etiología

La caries dental es una patología en la que existe interacción de tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la microflora (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta cariogénica). Se puede atribuir además de estos factores, a uno más el tiempo. Para que se forme una caries es indispensable que se den las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo.⁽¹⁸⁾

Evidentemente, existe reconocimiento extenso de la importancia de los factores microbiológicos en relación con la caries dental, y el *Streptococcus mutans* parece tener un papel muy importante. Son numerosos y diferentes los estudios realizados, sin embargo, todos los autores coinciden en que la génesis de la caries dental requiere la presencia de varios factores de riesgo, de manera más significativa, la colonización por *Streptococcus mutans*, una deficiente higiene oral y un alto consumo de alimentos ricos en sacarosa.⁽¹⁹⁾

Por último, factores como la variación en el metabolismo del azúcar y la disminución en la producción de la saliva han demostrado influir en la etiología de la caries.⁽²⁰⁾

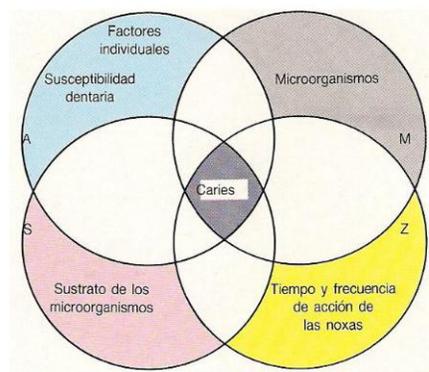


Figura No. 1. Esquema de Keyes modificado

Tomado de: Caries dental. U. A. del Estado de Hidalgo 2012

2.4 Desarrollo de la lesión cariosa

Las lesiones cariosas normalmente empiezan de manera oculta a la vista en las fisuras del diente o en los espacios interdentarios. En su estadio inicial puede ser detenida e incluso revertida pero en su fase avanzada se forma una cavidad. ⁽²¹⁾

Las lesiones cariosas se presentan generalmente en cuatro áreas de los dientes:

- Fosetas y fisuras
- Superficies lisas
- Superficies radiculares
- Superficies adyacentes – restauraciones (caries recurrentes) ⁽²²⁾

La evolución de la lesión es determinada por el equilibrio entre los factores protectores y los factores patológicos. Si los factores patológicos predominan, la caries por ende progresa. ⁽²³⁾

Por lo tanto el desarrollo de la lesión cariosa toma un cierto periodo de tiempo que pueden llegar desde meses hasta años, la cual comienza con la pérdida de unos pocos átomos de sales minerales que luego se incrementa a un porcentaje fijo hasta formar una cavidad, es decir que durante el progreso de la lesión existen procesos muy altos de desmineralización.

3. Biofilm

Con el transcurrir de la historia han sido diversas las definiciones asignadas a la placa bacteriana, en la actualidad se la puede considerar o definir como depósitos blandos que forman una biopelícula que se adhiere a la superficie dentaria o a otras superficies duras de la boca. Infinidad de microorganismos se encuentran adheridos a superficies en donde se agrupan constituyéndolas, denominadas biopelículas, gran cantidad de estos microbios son procariontes las cuales se agrupan y se adhieren como una estrategia para poder sobrevivir. ⁽²⁴⁾

Las patologías bucales relacionadas con los biofilms microbianos son en los que existe mayor predominio del ser humano y afectan a gran parte de la población mundial. De esta

forma entonces podemos dar una definición más específica al biofilm dental como una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, las cuales se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular.⁽²⁵⁾

3.1 Formación del biofilm

La placa dental es un ejemplo de biopelícula formada por combinaciones de cientos de especies bacterianas que compiten para colonizar las superficies de la cavidad oral. La asociación de las bacterias en las biopelículas orales no es aleatoria sino que hay asociaciones específicas entre especies bacterianas.⁽²⁶⁾

El biofilm oral, por lo tanto, se desarrolla por un proceso de colonización selectiva, reproducible y secuencial. En los colonizadores iniciales predominan especies de *Actinomyces*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* y *Veillonella*.⁽²⁷⁾

Los colonizadores secundarios como las fusobacterias coagregan con los colonizadores iniciales y harán de puente para la coagregación de nuevas bacterias, destacando (por su potencial patógeno) las especies *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*.⁽²⁸⁾

3.2 Formación del biofilm sobre la superficie del diente

Sobre la superficie del esmalte se inicia la formación de una capa delgada que oscila entre 0.1 y 1.0 μm de espesor a la que se le denomina película adquirida esta a su vez está compuesta por proteínas y glicoproteínas unidas a la hidroxiapatita del esmalte, dichas proteínas provienen de elementos de la saliva y del fluido crevicular así como también de los desechos bacterianos. La película formada opera como barrera de protección, además de que funciona como un sitio de adherencia para los microorganismos.⁽²⁹⁾

Mediante su organización el biofilm se ha convertido en un adversario para la cavidad oral al cual se le debe hacer frente mediante mecanismos para que de alguna forma se detenga su actividad y no causen patologías bucales, de manera que para disminuir su colonización se podría realizarlo mediante cambios físicos o químicos en las

superficies de la cavidad oral; además se pueden efectuar tratamientos que cambien el medio ambiente bacteriano, lo que imposibilitaría el desarrollo de determinados biofilms; de esta forma, mediante un buen control de la placa supragingival, se produciría un cambio en las condiciones ambientales subgingivales, dificultando el desarrollo de biofilms patógenos. Por lo tanto los biofilms orales están considerados como los agentes etiológicos de las enfermedades bucales más importantes como lo son la gingivitis o enfermedad periodontal, la caries dental y su progresión avanzada.⁽³⁰⁾

4. Microbiología oral

Antes de esta nueva era, se pensaba que el número de microorganismos que colonizaban la cavidad oral era de alrededor de 700 especies, hoy se cree que puede llegar a 19.000 filotipos.⁽³¹⁾

El microbioma oral es mucho más diverso de lo que se pensaba y que las infecciones orales son de naturaleza polimicrobiana. Los microorganismos que residen en la cavidad oral y sus interrelaciones inevitables son componentes esenciales para cambiar el equilibrio entre salud y enfermedad. Por lo tanto, la comprensión de lo que constituye las comunidades microbianas en salud, en oposición a la enfermedad, es un objetivo crucial en el estudio de la microbiología de la boca humana convirtiéndose en el portal de entrada a los tractos gastrointestinal y respiratorio.⁽³²⁾

Comprender la flora oral es una tarea compleja, debido a la gran variedad de hábitats dentro de la mucosa oral. Esta variedad de hábitats en esta mucosa dependen de las concentraciones de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas.⁽³³⁾

Grupo Bacteriano	Sitio			
	Placa	Lengua	Saliva	Surco
Gingival				
Cocos G+ Facultativos	28.2	44.8	46.2	28.8
Estreptococos	27.9	38.3	41.0	27.1
<i>S. mutans</i>	(0-50)	(0-1)	(0-1)	(0-30)
<i>S. sanguis</i>	(40-60)	(10-20)	(10-30)	(10-20)
<i>S. mitior</i>	(20-40)	(10-30)	(30-50)	(10-30)
<i>S. salivarius</i>	(0-1)	(40-60)	(40-60)	(0-1)
<i>S. milleri</i>	(3-25)	(0-1)	(0-1)	(14-56)
Estafilococos	0.3	6.5	4.0	1.7
Cocos G+ anaerobicos	12.6	4.2	13.0	7.4
Cocos G- anaerobicos	6.4	16.0	15.9	10.7
Cocos G- facultativos	0.4	3.4	1.2	0.4
Bacilos G+ facultativos	23.8	13.0	11.8	15.3
Bacilos G+ anaerobicos	18.4	8.2	4.8	20.2
Bacilos G- facultativos	NDb	3.2	2.3	1.2
Bacilos G- anaerobios	10.4	8.2	4.8	16.1
Espiroquetas	ND	ND	ND	1.0

Figura No 2. Distribución de las bacterias en la boca humana

Tomado de: Streptococcus mutans y caries dental. Ojeda G. Juan 2013

La distribución de algunos de estos microorganismos, especialmente de las especies del género *Streptococcus* se encuentran en una alta proporción en tejidos blandos, saliva y en la lengua. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supra e infragingival y en fisuras de la lengua. ⁽³⁴⁾

Otras bacterias como *Veillonella parvula* y *Neisseria mucosa* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales. También puede existir colonización intracelular en células epiteliales de la cavidad oral por complejos bacterianos constituidos por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. ⁽³⁵⁾

Las bacterias que más predominancia que se encuentran presentes en la boca son tres especies que hacen relacionadas con la caries dental. El *Streptococcus*, con las subespecies *S. mutans*; *Lactobacillus*, y los *Actinomyces*. En la actualidad se considera que la cavidad oral del ser humano es el nicho ecológico con mayor biodiversidad conocido hasta la fecha, siendo este el momento de gran importancia en la ecología microbiana oral, debido a las grandes posibilidades que existen de entrar a un enorme fondo de biodiversidad que está en proceso de conocimiento y caracterización.⁽³⁶⁾

4.1 Género *Streptococcus*

En el ámbito biológico, el género *Streptococcus* se caracteriza por ser microorganismos Gram positivos, catalasa negativa y tienden a agruparse en pares o en cadenas. Son anaerobios facultativos; de hecho, algunas cepas podrían crecer mejor en condiciones anaerobias y otras solamente incrementando concentraciones de CO₂.⁽³⁷⁾

4.1.1 *Streptococcus mutans*



Figura No. 3 *Streptococcus mutans*

Tomado de: <https://www.odontoespacio.net/noticias/transmision-de-streptococcus-mutans>

4.1.1.1 Generalidades

El *S. mutans* es un coco grampositivo que fue aislado e identificado por Clark, en 1924, a partir de lesiones cariosas en humanos. Lo denominó *S. mutans* por las formas mutantes en que se presenta: cocobacilo (forma ovalada) en un medio ácido y coco (forma redonda) en un medio alcalino. En cultivos de agar sangre, las colonias de este microorganismo se diferencian fácilmente: altas, convexas, pulvinadas (en forma de cojín) y mucoides, de 0,5 a 1 mm de diámetro, y opacas con un aspecto que recuerda al vidrio esmerilado. ⁽³⁸⁾

4.1.1.2 Clasificación

De acuerdo a Lamas ^{39 (p 2)} el término *Streptococcus mutans* 'es un apelativo que denomina en realidad a un grupo de bacterias con diversidad genética, antigénica y bioquímica'. Teniendo en consideración la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, estreptococos del grupo mutans se pueden clasificar en 8 serotipos: ⁽⁴⁰⁾

- *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k),
- *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g),
- *Streptococcus cricetus* (serotipo a),
- *Streptococcus rattus* (serotipo b),
- *Streptococcus ferus* (serotipo c),
- *Streptococcus macacae* (serotipo c) y
- *Streptococcus downei* (serotipo h).

Se conoce que el serotipo c de *S. mutans* es el tipo predominante en la cavidad oral humana más que las cepas e, d, f y k.

4.1.1.3 Factores de virulencia

La patogenicidad del *Streptococcus mutans* se encuentra asociada a diversos factores como: ⁽⁴¹⁾

- Acidogenicidad
- Aciduricidad
- Acidofilicidad

- Síntesis de glucanos y fructanos
- Síntesis de polisacáridos intracelulares
- Producción de dextranasa y fructanasa
- Presencia de glucosiltransferasas
- Proteínas de adhesión celular
- Proteínas fijadoras de glucano

4.1.1.4 *Streptococcus mutans* y su relación con la caries dental

Es el microorganismo más asociado al proceso de caries dental, ya que pueden metabolizar los hidratos de carbono de la dieta, generando ácidos que desmineralizan el esmalte y la dentina. Su capacidad para sintetizar glucanos extracelulares le confiere además una gran virulencia ya que aglutina a las bacterias de la placa, promueve la colonización en la superficie dental y cambia las propiedades de difusión de la matriz de la placa, siendo su presencia clave para entender esta patología. ⁽⁴²⁾

4.1.1.5 Características en cultivo

No existe un solo método de cultivo para examinar la compleja placa dental que beneficie todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. El cultivo en agar es considerado como el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas. ⁽⁴³⁾ Cuando el microorganismo logre llegar a un periodo de adaptación, se lo puede cultivar en agar sangre de cordero común, este microorganismo es cultivable en medios sólidos o líquidos. ⁽⁴⁴⁾

En general hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios orales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. ⁽⁴⁵⁾ No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos.

5. Agentes antimicrobianos

Debido al desarrollo vertiginoso de la resistencia bacteriana y la toxicidad de algunos medicamentos, se hace propicia la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Con la evolución de la ciencia de alimentos han surgido muchos compuestos químicos con actividad antimicrobiana. Actualmente se presentan un sin fin de elementos capaces de inhibir microorganismos bucales los cuales están asociados a la formación de la placa dental, entre los cuales se mencionan a los antibióticos y a los extractos vegetales, pueden resultar una alternativa eficiente claro siempre y cuando exista la ayuda de un correcto control mecánico del biofilm, como es el cepillado dental. ⁽⁴⁶⁾

Por ello debido al crecimiento vertiginoso de la resistencia bacteriana y de la toxicidad de algunos medicamentos se hace necesario la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos a través del uso de productos naturales beneficiosos no solo para la salud en general sino también en una posible aplicación para la salud bucal, que destaca sobre todo aquellos productos naturales. ⁽⁴⁷⁾

5.1 Fitoterapia

5.1.1 Generalidades

Desde el inicio de la utilización de las plantas medicinales se conocían las propiedades curativas de estas, pero se desconocían sus principios activos, definiéndose estos como las sustancias que poseen en los distintos órganos o partes de las plantas y que son capaces de modificar el funcionamiento de sistemas u órganos del cuerpo humano. A través del amplio y vertiginoso desarrollo tecnológico en el área médica y genética, el uso de equipos de alta tecnología, la aparición de la fitoquímica como ciencia y la aplicación del análisis instrumental se han logrado aislar los principios activos de muchas de estas plantas medicinales. ⁽⁴⁸⁾

La medicina tradicional se la pone a prueba en laboratorios siguiendo el método científico para validar o descartar el uso popular es así como OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades como también la relevancia a nivel económico al ser una fuente de descubrimiento de nuevas

drogas que en algunos casos tiene un costo muy inferior a la síntesis de nuevos fármacos.⁽⁴⁹⁾

5.1.2 Definición

Se define a la Fitoterapia como la ciencia que se encarga del estudio de la utilización de los productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, mitigar o curar un estado patológico. En algunos países también involucran dentro el concepto de Fitoterapia a los medicamentos conteniendo compuestos de origen vegetal químicamente puros, siempre que éstos posean un margen terapéutico amplio.⁽⁵⁰⁾

5.1.3 Formas de uso de la fitoterapia

Las formas de utilización de los productos insertos en la fitoterapia son:

- Infusiones; en las que el producto vegetal sean flores, hojas o tallos, y se someten a la temperatura de ebullición del agua, con el fin de extraer productos solubles con el mínimo cambio en su estructura química, manteniendo gran porcentaje de sus propiedades curativas, de conservación no mayor a 12 horas.
- Decocción; es un preparado en base a la porción dura de la planta medicinal, como la corteza, fruto, semilla o raíz, y se somete a un proceso que implica la pérdida de sus principios activos debido a la acción del calor, con una conservación no mayor a una semana.⁽⁵¹⁾
- Maceración; es un preparado de plantas medicinales trituradas, empleando como disolvente, agua a temperatura ambiente, favoreciendo la conservación de sus principios activos por acción del calor e inhibiendo la liberación de taninos, considerado como el principio activo generador del sabor amargo y áspero de algunas plantas, con una conservación no mayor a un mes después de ser filtrado.
- Extractos; denominado así a la preparación de un producto vegetal en base a un disolvente vaporizable como el éter, agua o alcohol, hasta obtener una consistencia fluida, blanda o seca.⁽⁵²⁾

5.1.4 Fitoterapia en Ecuador

Se estima que el 80% de la población ecuatoriana depende de la medicina tradicional y por consiguiente de las plantas o productos naturales, para la atención primaria de la salud y bienestar. Muchas personas del campo, todavía dependen directa o indirectamente de las plantas para cubrir sus necesidades de alimento y medicina.⁽⁵³⁾

Con respecto al estudio realizado por Zambrano L.⁽⁵⁴⁾ se determinó que la estructura vegetal más utilizada eran las hojas (76.7%), seguido por el tallo (14%) y la menos utilizada el fruto (4.7%).

5.1.5 Fitoterapia aplicada en Odontología

En la odontología, a pesar del uso de la fitoterapia ya hace algún tiempo, su utilización para tratar enfermedades bucales o para tratar enfermedades sistémicas con manifestaciones bucales todavía es poco explorada.⁽⁵⁵⁾

Sin embargo, en los últimos años las investigaciones relacionadas con productos naturales crecieron significativamente frente al aumento de manifestaciones patológicas, es por esta razón que se han encontrado diversas alternativas con productos de menor toxicidad, mayor actividad farmacológica y biocompatibles, además de costos más accesibles a la población.⁽⁵⁶⁾

Al justificar el uso de la fitoterapia para que los pacientes continuaran con las indicaciones médicas en la casa porque las afecciones necesitan curaciones durante varios días y las plantas para tal objetivo pueden ser adquiridas del medio natural o en las farmacias, lo cual resulta barato, asequible y de fácil administración, a la vez que constituye un impacto socioeconómico y corrobora los criterios actuales de incrementar el empleo de la medicina natural y tradicional, no como alternativa, sino como parte del arsenal terapéutico con que cuenta el pueblo.⁽⁵⁷⁾

De hecho, los odontólogos aplican fitofármacos, pero suelen hacerlo menos comúnmente, lo cual reafirma que solo se emplea un reducido grupo de estos medicamentos. Resulta representativo que algunas drogas vegetales con propiedades antiinflamatoria, cicatrizante, analgésica y antimicrobiana.

6. Toronja (Citrus Paradisi)

6.1 Generalidades

Existen reportes de algunas observaciones realizada en 1972 por el físico Dr. Jacob Harish, el cual haciendo pruebas de campus en el jardín de su casa descubrió más bien por casualidad que las semillas de toronja no se pudrían, como todas las demás, e intrigado, comenzó un estudio lo que le permitió deducir de que los componentes de esta simple semilla aportaban propiedades germicidas, siendo esto quizá el inicio de una nueva alternativa para los productos de origen natural que aún no cuentan con agentes conservadores del mismo origen.⁽⁵⁸⁾

6.2 Descripción botánica

Citrus paradisi es un árbol cuyo tronco es corto y de copa compacta, brotes color púrpura y pocas espinas. Su fruto es de forma globular. Las hojas son de tamaño intermedio, algo vellosas, con alas grandes, nervios muy marcados y olor típico. Las flores son grandes y color verdoso, tiene estambres reducidos.

El fruto es un hesperidio de forma globular achatada de color amarillo claro y de grandes dimensiones, puede alcanzar un diámetro de 15 cm a 20 cm. Consta de exocarpo (flavedo: presenta vesículas que contienen aceites esenciales), además este presenta vesículas que contienen aceites esenciales mesocarpo (albedo: pomposo y de color blanco) grueso y endocarpo (pulpa: presenta tricomas con jugo) blanco, rosa o rojo.⁽⁵⁹⁾

6.3 Distribución y hábitat

Es necesario considerar que no se conoce con exactitud el origen del pomelo (toronja), aunque un sinnúmero de investigaciones manifiesta que se trata de un cruce natural entre el naranjo dulce y la toronja (una especie diferente), producido en

Barbados en las Indias Occidentales, desde allí su cultivo se extendió por todo el Caribe, y posteriormente a los Estado Unidos a una producción de gran escala.⁽⁶⁰⁾

Teniendo en cuenta que la toronja es uno de los cítricos más jóvenes, debido a que se comenzó a cultivar en los años 60 cultivándose y creciendo de una manera frenética al gusto del consumidor tanto nacional como extranjero, al poseer un sabor agridulce se convierte en un atrayente al consumidor que siempre busca de nuevos sabores provocando una alta demanda y considerando que el cultivo de la toronja se ha extendido es indispensable aprovechar en mayor escala las ventajas geográficas que presenta nuestro país en relación a climas.

Tomando en cuenta que la toronja es uno de los cítricos más sensibles al frío; las flores no resisten temperaturas inferiores a un grado bajo cero, por lo que su cultivo se restringe a climas semitropicales, templados y a altitudes próximas al nivel del mar. Además, de requerir suelos frescos, sueltos y bien drenados.

6.4 Variedades

6.4.1 Toronjas blancas o comunes

- Duncan: árbol vigoroso, grande y muy productivo; su fruto es de mayor tamaño que el de la variedad Marsh y el árbol es más resistente al frío. Sabor excelente, pulpa muy firme y jugosa, buena acidez y niveles de azúcar elevados, dando un sabor equilibrado,rico y dulce. Elevado número de semillas (30-50 por fruto), pero a pesar de ello sigue siendo el punto de referencia en cuanto a calidad.
- Marsh (Marsh seedles): se obtuvo a partir de semilla de la variedad Duncan. Procede de Florida (EE.UU.). Árbol vigoroso y muy productivo, de tamaño grande y más sensible al frío, el número de semillas es mucho menor (2-3 por fruto). El contenido de zumo es alto y dicho zumo es dulce, aunque con acidez elevada al comienzo de la cosecha.⁽⁶¹⁾

6.4.2 Toronjas pigmentadas

Deben su color al pigmento licopeno, a diferencia de las naranjas, en las que el color se debe a las antocianinas. El licopeno se genera cuando las temperaturas son elevadas. La popularidad de las toronjas pigmentadas se ha incrementado en las dos últimas décadas en muchos países, aunque no ha ocurrido así en Japón.

6.5 Propiedades nutritivas

La pulpa de la toronja contiene cantidades moderadas de carbohidratos y pocas proteínas y grasas. En cuanto a las vitaminas, destaca por su riqueza en vitamina C la cual interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones además de ácido fólico, contiene carotenoides, respecto al contenido mineral, destacan el potasio y el magnesio. Abundan en la toronja los ácidos málico, oxálico, tartárico y cítrico. ⁽⁶²⁾

6.6 Composición Química

El citrus paradisi al ser mezclas complejas y muy variables de constituyentes estas pertenecen de manera casi exclusiva, a dos grupos caracterizados por orígenes biogénicos distintos, estos son: el grupo de los terpenoides y el grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano, el cual es menos frecuente. ⁽⁶³⁾

La pulpa de toronja contiene niveles significativos de vitamina C; Potasio, ácido fólico, calcio y hierro; las variedades rosadas y rojas también contienen beta-caroteno y licopeno, antioxidantes que el cuerpo puede convertir en Vitamina A. Los productos químicos encontrados en los pomelos incluyen Ácido fenólico, limonoides, terpenos, Monoterpenos, ácido D-glucárico y Flavonoides incluyendo hesperetina Además de poseer Naringina la cual se encuentra en plantas cítricas y es abundante en las especies Citrus paradisi. ⁽⁶⁴⁾

6.7 Aplicaciones

La toronja se consume en jugo simple o concentrado; sus frutos son utilizados principalmente en la elaboración de zumos y pequeñas cantidades para mermeladas, tanto naturales como concentradas. Es utilizada como ingrediente de cosméticos, jabones y

detergentes; de la cáscara se extrae aceites esenciales muy utilizados en la perfumería; además de ser considerado un insecticida idóneo.⁽⁶⁵⁾

6.8 Usos medicinales atribuidos

Dentro de las propiedades medicinales se puede mencionar que el zumo de toronja combate el letargo, la sequedad de la garganta y su olor estimula el hemisferio derecho, agudiza la memoria y la concentración. También ha sido utilizada en la prevención del cáncer, regeneración celular, desintoxicación, mantenimiento de la salud del corazón, lupus, nefritis, artritis reumatoide.⁽⁶⁶⁾

El consumo habitual de toronja aporta beneficios en la salud, entre ellos, ayuda a perder peso o reducir el colesterol alto. Asimismo, tiene un fuerte contenido de vitamina C, beta caroteno y flavonoides. Por esta razón es que tiene propiedades antioxidantes. El consumo habitual de zumo de toronja ayuda a mejorar la circulación sanguínea, prevenir enfermedades cardiovasculares, refuerza los capilares sanguíneos y mejora la elasticidad de las arterias. Además, ayuda a metabolizar grasas y limpiar el hígado, mejorar la condición de la piel, lucha contra el ácido úrico.⁽⁶⁷⁾

6.9 Usos odontológicos del citrus paradisi

Al citrus paradisi se le atribuye un sin número de propiedades debido a que los componentes que especialmente se los pueden encontrar en la semilla, corteza de la toronja poseen una conocida actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante, antiviral, y conservante.

Razón por la cual la toronja (Citrus Paradisi) puede ser de gran utilidad en el ámbito de salud oral debido a que sus componentes antimicrobianos podrían llegar a transformarse en compuestos de gran relevancia, por presentar características de amplio espectro, no tóxicas para el consumo humano, etc. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de la cáscara de toronja sobre algunos aislamientos clínicos (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *E. coli* ATCC 25292, *Klebsellia pneumonia*, *Pseudococcus sp.*, *Salmonella typhmurium*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*,) y aislados fúngicos (*Candida albicans*), se demostró que la mezcla de aceite de etanol inhibió las bacterias de ensayo y *C. albicans*,

mientras que el extracto de aceite disuelto en solución de Tween 80 no mostró actividad inhibidora sobre los hongos de prueba.⁽⁶⁸⁾

Las propiedades antimicrobianas de la combinación del extracto de *Citrus paradisi* y *Ficus carica* frente a *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *M. luteus* y *Candida albicans* mediante el método de difusión en pozo dio como resultado que el extracto acuoso de *Citrus paradisi* y *Ficus carica* al 5, 10, 20, 50, 100, 200 y 400 % produjo halos de inhibición de 15, 17, 19, 21, 18, 24 y 19 mm respectivamente sobre las cepas de *C. albicans*.⁽⁶⁹⁾

Uysal ⁽⁷⁰⁾ analizó la composición química del aceite esencial de la cáscara de *Citrus*, en la cual se pudo determinar las propiedades antibacterianas del aceite esencial de toronja por el método de difusión en disco. El aceite demostró amplio espectro antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* y *Proteus vulgaris*, con zonas de inhibición que van desde 11 a 53 mm.

6.10 Extracto vegetal

6.10.1 Definición

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamientos de productos vegetales con solventes apropiados tales como agua, etanol o éter de elementos solubles constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca.⁽⁷¹⁾

6.10.2 Características de los extractos

Para que el producto líquido que se obtiene de diferentes partes de las plantas, se emplean varios procedimientos físicos y químicos al igual que diferentes solventes, así el agua es el más utilizado en la elaboración de productos fitoterapéuticos, esta mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, se obtiene por procesos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo.⁽⁷²⁾

La extracción a partir de una planta vegetal proporciona, en primera instancia, un extracto bruto o bien, un extracto general no tratado. Sin embargo, si este extracto bruto

se trata adicionalmente mediante pasos de purificación, es decir mediante la eliminación de partes fitoquímicas específicas no deseadas, o bien, mediante concentración de principios activos importantes deseados, entonces se obtienen extractos especiales óptimos, a diferencia del extracto bruto.⁽⁷³⁾

6.10.3 Consistencia de los extractos

De acuerdo al aspecto que comúnmente se presentan los extractos se clasifican en:

- Extractos blandos: presenta una consistencia menos densa
- Extractos firmes: Característica especial de no adherirse a los dedos
- Extractos secos: el solvente ha sido completamente eliminado, contiene de 5% a 8% de agua.
- Extractos fluidos: peso del extracto corresponde exactamente al peso de la sustancia empleada como medicamento.

6.10.4. Métodos de extracción

La extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla o de una fuente natural, permite separar el producto que se desea y dejar en la mezcla los productos secundarios o bien extrae los productos secundarios y dejar el principal. ⁽⁷⁴⁾

- Extracción Líquida - Líquida; consiste en la transferencia de una sustancia de una fase a otra, llevándose a cabo entre dos líquidos inmiscibles.
- Extracción Sólido - Líquido; consiste en la separación de uno o más componentes de una mezcla sólida mediante un disolvente líquido.

6.10.5 Extracto de Citrus paradisi

El extracto de semilla de toronja es efectivo frente a una amplia variedad de bacterias patógenas y hongos. El amplio espectro de su actividad antimicrobiana también refleja una sinergia entre sus compuestos naturales, El extracto de semilla de pomelo demostró actividad antimicrobiana en concentraciones disminuidas hasta 100 ppm frente a varias especies de bacterias y hongos que se aplicaron a diferentes utensilios, tales como tazas de

acero inoxidable, varillas de vidrio e hisopos de algodón. Todos los microorganismos testados quedaron eliminados entre 1 y 2 horas a 10.000 ppm. ⁽⁷⁵⁾

El extracto de citrus paradisi está compuesto de semillas de pomelo y partes de la membrana de la fruta. Básicamente, la extracción natural de la planta es una manera particularmente eficaz de reciclado de restos, puesto que las semillas de pomelo y la membrana de la fruta son productos residuales que no se utilizan para la producción del zumo de pomelo. El proceso de producción de zumo de pomelo implica el pelado mecánico de los frutos para evitar que los aceites esenciales y principios amargos que contiene la piel se mezclen con el zumo.

Faleye ^{76(1p)} ‘investigó la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto de semillas de Citrus paradisi “toronja” utilizando el método de difusión en agar contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las estructuras de los compuestos aislados se establecieron utilizando estudios de espectroscopía y fueron identificados como obacunona, nomilina, limonina y ácido nomilínico. Ninguno de los compuestos aislados mostró actividad antimicrobiana pero el ácido nomilínico mostró una débil propiedad antioxidante’.

La investigación determinó la composición fitoquímica, actividad antimicrobiana y antioxidante de diferentes concentrados de zumos de cítricos. ‘Los frutos de toronja (*Citrus paradisi*), mandarina, limón y lima fueron cortados en mitades y extraídos con un extractor de jugo. Evaluó la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar con pozos contra cinco bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*) y tres hongos (*Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Penicillium spp.*). El zumo de toronja a la concentración de 200 µl/mL mostró zonas de inhibición de 8 mm sobre cepas de *Candida albicans*, En comparación con los otros cítricos, la toronja fue menos eficaz como agente antibacteriano y antifúngico, sin embargo tuvo una mejor actividad antioxidante’. Oikeh ^{77(2p)}

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Metodología

3.1.1 Tipo y diseño de la investigación

De acuerdo a las características de esta investigación se determinó que es un estudio:

Experimental

Ya que se pretende mediante pruebas de laboratorio controladas la utilización de discos embebidos con extracto de toronja (*Citrus paradisi*) en concentraciones del 50, 25 y 5%, se variará el tiempo de exposición (24 y 48 horas) con la finalidad de demostrar el efecto inhibidor del extracto sobre el cultivo de *Streptococcus mutans*.

In vitro

Debido a que se llevó a cabo fuera de un ser vivo en un ambiente totalmente controlado con normas y procedimientos adecuados, dentro del laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.

3.1.2 Población de estudio y muestra

Población: Considerando las características del estudio a realizarse, la muestra estará constituida por cepas de microorganismos liofilizados de *Streptococcus mutans* ATCC25175 obtenida del importador MEDIBAC, las cuales serán manipuladas en condiciones controladas, determinados por personal especializado en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador con ayuda de la Licenciada Yolanda Andrade. (Anexo B).

Muestra: La muestra del presente estudio ha sido seleccionada de forma no probabilística, de acuerdo a la conveniencia de la investigación y tomando como referencia el estudio realizado por Churata O. D. “Efecto antifúngico de citrus pardisi sobre cepas de candida albicans aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica”, Lima-Peru 2016, la muestra de estudio será: 12 cajas Petri inoculadas de *Streptococcus mutans* ATCC25175

3.2. Criterios de inclusión y exclusión

3.2.1 Criterios de inclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 puras sin contaminación.
- Extracto de toronja almacenado en condiciones controladas en ambientes específicos y en las concentraciones de 50, 25 y 5%.

3.2.2 Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 con contaminación durante el procedimiento experimental.
- Cepas que no se lograran activar en medio de cultivo.
- Extracto de toronja que presenten alguna alteración o alguna concentración que no sea la indicada anteriormente para ser usados en el estudio.

3.3 Variables

3.3.1 Conceptualización de las variables

Variables independientes

- Extracto de toronja (*Citrus paradisi*): Extracto de toronja (*Citrus paradisi*): El extracto de semilla de pomelo es un compuesto antimicrobiano de amplio espectro no tóxico sintetizado a base de las semillas, pulpa y membranas blancas de la toronja. ⁽⁶¹⁾ Extracto de toronja (*Citrus paradisi*) a concentraciones de 50%, 25% y 5%.
- Tiempo: Parámetro para describir y explicar la duración de la exposición del cultivo. ⁽⁷⁸⁾ Tiempo de exposición (24 y 48 horas).

- Inhibición de *Streptococcus mutans*: Observación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas y pulpa de toronja (*Citrus paradisi*).⁽⁷⁹⁾

Variable interviniente

- Clorhexidina al 0,12%: La clorhexidina es una bisbiguanida catiónica. La forma en base es mínimamente soluble en agua, La actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, que alteran el equilibrio osmótico y causan precipitación de los contenidos celulares.⁽⁸⁰⁾
- Agua destilada: Es aquella a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante destilación.⁽⁸¹⁾

3.4 Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	CLASIFICACIÓN	INDICADOR CATEGÓRICO	ESCALAS DE MEDICIÓN
EXTRACTO DE TORONJA	El extracto de semilla de pomelo es un compuesto antimicrobiano de amplio espectro no tóxico sintetizado a base de las semillas, pulpa y membranas blancas de la toronja. ⁽⁶¹⁾	Independiente	Cualitativa	Porcentajes de concentración 50% 25% 5%	Nominal 1 2 3
TIEMPO	Parámetro para describir y explicar la duración de la exposición del cultivo. ⁽⁷⁸⁾	Independiente	Cualitativa	24 horas 48 horas	Nominal 1 2
INHIBICIÓN DEL CULTIVO STREPTOCOCCUS MUTANS	Observación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas y pulpa de toronja (<i>Citrus paradisi</i>). ⁽⁷⁹⁾	Dependiente	Cualitativa	Diámetro de halo de inhibición en milímetros	Ordinal (mm) Según Duraffour: Nula (-) ≤ 8 mm. Sensible (sensible =+): 9 - 14 mm. Muy sensible (muy sensible = ++): 15-19 mm. Sumamente sensible (S.S.= +++): ≥ 20 mm.

GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%	La clorhexidina es una bisbiguanida catiónica, actividad es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, que alteran el equilibrio osmótico. ⁽⁸⁰⁾	Interviniente	Cualitativa	Concentración del 0,12%	Nominal 1
AGUA DESTILADA	Es aquella a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante destilación. ⁽⁸¹⁾	Interviniente	Cualitativa	Volumen de agua destilada	Nominal 1

Fuente: elaborado por el investigador

3.5 Procedimientos y técnicas

3.5.1 Materiales y métodos

Métodos:

Se realizó la siguiente documentación: Se recibió el permiso del Laboratorio del Centro Académico de Química de la universidad Central del Ecuador y del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.

Materiales:

Se utilizaron los siguientes materiales para la elaboración de la presente investigación:

- Soportes universales
- Codo de destilación
- Cabezal de destilación
- Dos mangueras
- Embudo de decantación
- Cámara del extractor Soxhlet
- Pinzas
- Probeta de 50 ml

- Balón de 500 ml
- Muestra de toronjas
- Muestra biológica de cepas de *Streptococcus mutans*
- Doce cajas Petri con medios de cultivo de Agar sangre
- Pinzas esteriles
- Mechero
- Guantes
- Hisopos
- Mascarillas
- Incubadora
- Pipetas desechables
- Discos de papel filtro
- Asas bacteriológicas

Soluciones:

- Gluconato de clorhexidina al 0.12%
- Agua destilada
- Extracto de toronja
- Alcohol al 70%

3.5.1.1 Recolección de la muestra de toronja

Las muestras de *Citrus paradisi* se recolectaron por el investigador, las cuales debían presentar las características adecuadas es decir que no estén lesionados en estado de madurez y con una coloración amarilla.



Figura No. 4 Muestras de toronja

Fuente: Investigador

Posteriormente se procedió a extraer las semillas del fruto para que a continuación se realice el pesaje de las mismas, luego se colocaron en un recipiente limpio, seco y ventilado evitando su deterioro, a continuación las semillas fueron transportados hasta el centro de Química de la Universidad Central del Ecuador.



Figura No. 5 Pesaje de las semillas de toronja

Fuente: Investigador

3.5.1.2 Obtención del extracto de toronja (*Citrus paradisi*)

El extracto se obtuvo en el Centro de Química de la Universidad Central del Ecuador, para lo cual el procedimiento consistió básicamente en la extracción sólido-líquido. Básicamente, la extracción natural de la planta es una manera particularmente eficaz de reciclado de restos, puesto que las semillas de toronja son productos residuales que no se utilizan.

Una vez obtenidas las semillas son colocadas en un sitio para ser secadas, a continuación se procedió a pelar cada una de las semillas para que de esta manera el producto obtenido sea colocado en un recipiente con alcohol y dejarlo reposar por 24 horas.



Figura No. 6 Semillas de toronja

Fuente: Investigador



Figura No. 7 Semillas de toronjas peladas

Fuente: Investigador

Posteriormente la muestra que se obtuvo que fue de 100 g fue colocada en un cartucho de material poroso que se situó en el equipo Soxhlet junto con el alcohol potable que actuó como solvente, para obtener el extracto de toronja en base alcohólica para un posterior filtrando, finalmente el extracto es colocado en un recipiente estéril.

Una adecuada estandarización garantiza el contenido de vitamina C y el contenido de bioflavonoides naturales de la toronja obtenidos de las semillas.



Figura No. 8 Equipo Soxhlet **Fuente:** Investigador

El extracto obtenido se lo colocó en envases de vidrio ámbar que no permitieron el paso de la luz solar, fueron cerrados herméticamente y colocados en un lugar fresco a temperatura ambiente, libre de humedad y con su debida rotulación.



Figura No. 9 Extracto obtenido

Fuente: Investigador

Dilución del extracto

Una vez que se obtuvo el extracto se procedió a realizar la dilución con agua destilada consiguiendo las tres concentraciones distintas: 50%, 25% y 5%. Para lo cual al procedimiento a seguir fue, parte del extracto concentrado y se calcula el volumen del extracto requerido, mediante la siguiente formula:

$$V1C1 = V2C2$$

Dónde:

V1 = Volumen de extracto concentrado

C1= Concentración del extracto = 60%

V2 = Volumen de extracto diluido a preparar

C2 = Concentración del extracto diluido.



Figura No. 10 Diluciones del extracto

Fuente: Investigador

3.5.1.3 Ensayo microbiológico

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.

Obtención de los microorganismos

La investigación se realizó con una cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*, la cual se obtuvo comercialmente una cepa pura de *Streptococcus mutans*, mediante el laboratorio MEDIBAC, en estado liofilizado, mantenida en baja temperatura.



Figura No. 11 Cepa del Streptococcus mutans

Fuente: Investigador

Reactivación de la cepa bacteriana

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se reactivó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología, inoculando una asada de colonias en 2 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusion) en tubos de ensayo estériles e incubando hasta que el crecimiento en el caldo sea equivalente a una turbidez de 0.5 en la escala de Mc Farland.

Análisis microbiológico

Se preparó 12 cajas Petri con agar sangre (Mueller Hinton suplementado al 5% con sangre) en el cual se inoculó el *Streptococcus mutans* en las placas Petri debidamente rotuladas.



Figura No.12 Cajas Petri con agar sangre

Fuente: Investigador



Figura No.13 Cepa del *Streptococcus mutans*

Fuente: Investigador

Mediante la utilización de un hisopo estéril para la toma de muestra de la cepa activada, el cual se frotó rotando en posición de 60° tanto de ida y como de vuelta por tres veces, con la finalidad de garantizar que exista una inoculación de distribución homogénea.



Figura No. 14 Siembra de *S. mutans* en las placas Fuente: Investigador

Posterior a la inoculación se colocó sobre la placa los discos de papel de filtro de aproximadamente 6 mm. En esta investigación fueron 5 discos embebidos en las tres diferentes concentraciones en estudio 5, 25 y 50%, un disco con la clorhexidina al 12% (control positivo) y otro con agua destilada (control negativo). El procedimiento consistió en retirar el disco que se encontraba en refrigeración 2 horas antes del ensayo para que se equilibren a la temperatura ambiente y evitar la formación de la humedad.

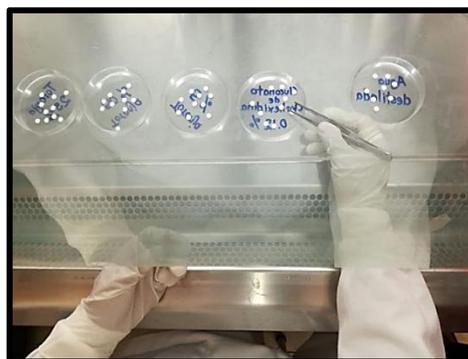


Figura No. 15 Discos de papel filtro

Fuente: Investigador

Finalmente las placas serán incubadas a una temperatura de 37°C, a un tiempo de exposición de 24 y 48 horas.



Figura No. 16 Colocación de los discos de papel filtro en placas inoculadas

Fuente: Investigador

Medición del diámetro de los halos de inhibición

Se midió el halo de inhibición con un calibrador milimetrado, registrando los valores en la hoja de reporte de datos prevista para el efecto.

Los valores obtenidos del diámetro del halo de inhibición del *Streptococcus mutans* al cultivo con extracto *Citrus paradisi* a las 24 y 48 horas de exposición se compararon entre sí y con el control positivo según las referencias establecidas por Duraffourd (1983).

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm
- Sensible (Sensible =+) de 9 a 14 mm
- Muy sensible (muy sensible =++) de 15 a 19 mm
- Sumamente sensible (S.S.=+++) si fue igual o superior a 20 mm

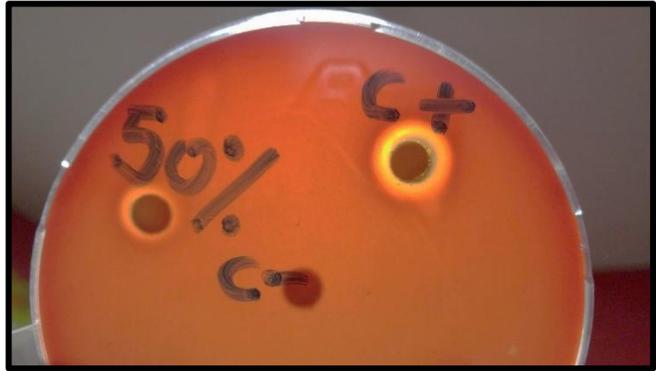


Figura No.17 Formación de los halos de inhibición

Fuente: Investigador

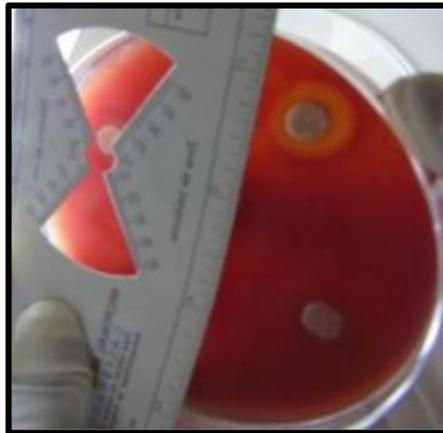


Figura No. 18 Medición de los halos de inhibición Fuente: Investigador

3.5.1.4 Eliminación de desechos

En el proceso el personal encargado del laboratorio cumplió con normas de bioseguridad como barreras de protección: mandil, gorro desechable, guantes desechables, mascarilla, gafas y zapatones.

Una vez que se concluyó con la lectura de resultados se procede a la recolección interna de desechos, colocando las cajas Petri en el autoclave para esterilizar, para su posterior

colocación en fundas para desechos infecciosos señalizando que es un desecho altamente contaminante, finalmente se procedió al almacenamiento temporal para su posterior desecho.

3.5.2 Medición de variables y procedimientos

Los datos obtenidos se registraron en una hoja de recolección de información, donde se anotaron los valores del diámetro del halo de inhibición de cada concentración de la sustancia en estudio, del control positivo y negativo en relación con la variación de las horas de exposición.

Estos datos se analizaron en el programa informático estadístico SPSS, para realizar la comparación de las medias entre los grupos de estudio, mediante la prueba de T de student, con cuyos resultados se verificó el logro de los objetivos de la investigación y se analizó si se mantienen o rechazan las hipótesis de la investigación.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Resultados

Tabla 2 Resultados de halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans* a las 24 horas.

No.	Halo de inhibición (mm)				
	Extracto 5%	Extracto 25%	Extracto 50%	Clorhexidina al 0.12 %	Agua destilada
1	2	3	6	10	0
2	2	3	5	9	0
3	2	3	6	10	0
4	2	3	5	10	0
5	1	3	5	10	0

6	2	4	7	10	0
7	0	4	7	11	0
8	2	5	4	10	0
9	2	3	6	10	0
10	0	3	6	11	0
11	1	2	7	10	0
12	0	2	7	10	0

Número de repeticiones y medición del halo inhibitorio con el extracto de toronja al 5%, 25% y 50% a las 24 horas.

Tabla 3 Resultados de halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans* a las 48 horas

No.	Halo de inhibición (mm)				
	Extracto 5%	Extracto 25%	Extracto 50%	Clorhexidina al 0.12 %	Agua destilada
1	3	5	9	13	0
2	2	4	8	12	0
3	3	4	9	13	0
4	3	5	9	12	0
5	2	5	9	13	0
6	2	6	10	13	0
7	2	6	10	13	0
8	3	6	9	12	0
9	3	5	9	12	0
10	2	6	10	13	0
11	3	5	10	13	0
12	2	5	9	12	0

Número de repeticiones y medición del halo inhibitorio con el extracto de toronja al 5%, 25% y 50% a las 48 horas.

4.2 Análisis de resultados

En primera instancia se verificó si las muestras tomadas provienen de una población con distribución **Normal**, esto se realizó con las pruebas de Kolmogorov - Smirnov o con la prueba de Shapiro - Wilk (menor a 20 datos).

En el caso de que se defina que las muestras provienen de poblaciones con distribución normal entonces se realizará pruebas paramétricas: media, desviación estándar, T student, ANOVA. Si las muestras NO provienen de poblaciones con distribución normal entonces se realizará pruebas no paramétricas (orden, signos): Mann Whitney, Kruskal Wallis, Wilcoxon

Para cada prueba de Hipótesis, se compara el valor de significación con el 0,05 (95% de confiabilidad), si el nivel de significación es superior a 0,05 se acepta H_0 (las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal), si es inferior a 0,05 se acepta H_a (las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal).

Prueba de Normalidad

H_0 : Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal

H_a : Las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal

Advertencias: Agua destilada, 24 Horas es constante; Agua destilada, 48 Horas es constante.

Tabla 4 Pruebas de normalidad

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Extracto 5%, 24 Horas	0,460	12	0,000	0,552	12	0,000
Extracto 25%, 24 Horas	0,198	12	0,200	0,894	12	0,134
Extracto 50%, 24 Horas	0,169	12	0,200	0,940	12	0,495
Clorhexidina 0,12%, 24 Horas	0,209	12	0,153	0,824	12	0,018
Extracto 5%, 48 Horas	0,331	12	0,001	0,650	12	0,000
Extracto 25%, 48 Horas	0,398	12	0,000	0,699	12	0,001
Extracto 50%, 48 Horas	0,245	12	0,044	0,895	12	0,137
Clorhexidina 0,12%, 48 Horas	0,191	12	0,200	0,935	12	0,440

Como se observa en la tabla, en la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk, algunos valores del nivel de significación (Sig) son inferiores a 0,05 (95% de confiabilidad). Por tanto, se acepta H_a , esto es las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal, entonces para la comparación de grupos en estos casos se utiliza pruebas no paramétricas: Kruskal Wallis.

A. Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis: Comparación a las 24 Horas

H_0 : Las muestras proceden de poblaciones con la misma distribución de probabilidad (Medias similares)

H_a : Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones.

Tabla 5 Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis a las 24 Horas

Halo de inhibición (24Horas)						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
Extracto 5%	12	1,33	0,452	0,131	0	2
Extracto 25%	12	3,16	0,965	0,279	2	5
Extracto 50%	12	5,91	1,215	0,351	4	7
Clorhexidina 0,12%	12	10,08	0,793	0,229	9	11
Agua destilada	12	0,00	0,000	0,000	0	0
Total	60	4,09	3,471	0,448	0	11

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

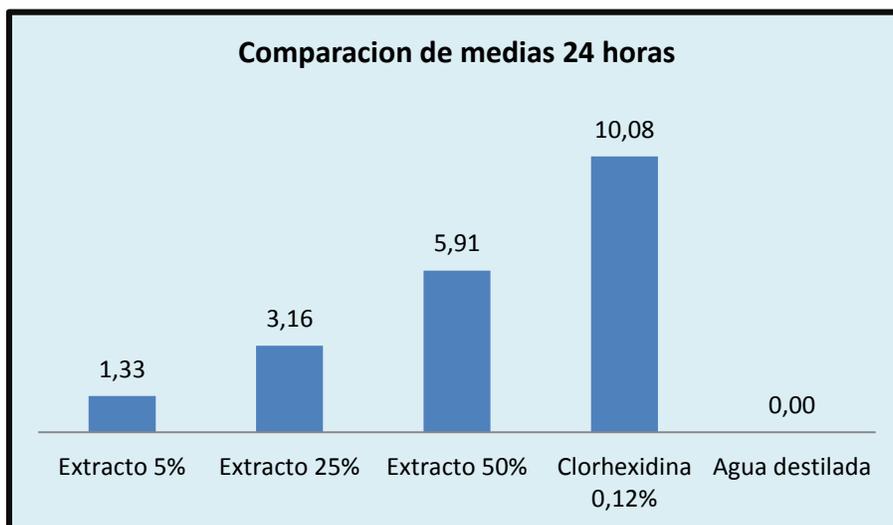


Gráfico No. 1 Comparación de medias 24 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

Análisis: se puede indicar en este gráfico que la clorhexidina sigue siendo la sustancia que forma un halo de inhibición mayor equivalente a 10,08 mm siendo una sustancia muy efectiva contra la cepa que se utilizó para la presente investigación.

En la gráfica se observa que la media del Extracto 5% es de 1,33; del Extracto 25% es de 3,16; del Extracto 50% es de 5,91. La Clorhexidina 0,12% presenta una media de 10,08, es

decir muy por encima de las sustancias en estudio; y prácticamente nula el Agua destilada. Para verificar si estas diferencias son significativas se realizan las pruebas no paramétricas:

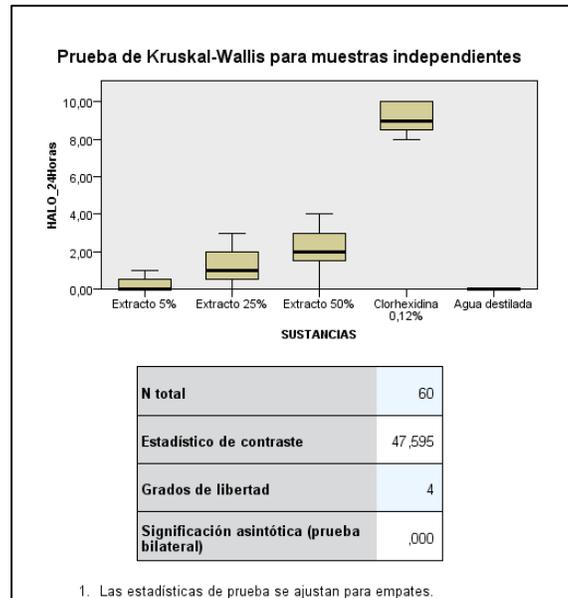


Figura No. 19 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, datos de 24 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

De la Prueba de Kruskal-Wallis, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral)) = 0,000) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), por lo tanto se acepta H_a , es decir, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones, por lo tanto, no todas las medias, medianas de las muestras son similares.

Este resultado orienta a determinar cuáles son similares o diferentes mediante la prueba dos a dos:

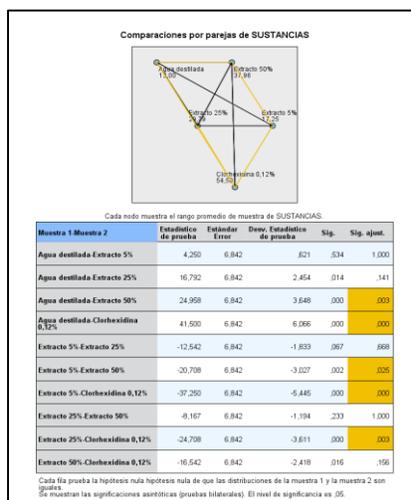


Figura No. 20 Comparaciones dos a dos, datos de 24 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

Los resultados estadísticos manifiestan que al obtener un valor de significancia mayor a 0,05 las medias de halos de inhibición a las 24 horas son similares en los siguientes pares:

- Agua destilada es similar a Extracto 5%
- Extracto 5% es similar a Extracto 25%.
- Extracto 25% es similar a Extracto 50%.

Así mismo al obtener un valor de significancia menor a 0,05 las medias de halos de inhibición a las 24 horas son significativamente distintas en los siguientes pares:

- Agua destilada No es similar a Extracto 50%
- Agua destilada No es similar a Clorhexidina al 0,12%
- Extracto 5% No es similar a Extracto 50%.
- Extracto 5% No es similar a Clorhexidina al 0,12%
- Extracto 25% No es similar a Clorhexidina al 0,12%
- Extracto 50% No es similar a Clorhexidina al 0,12%

B. Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis: Comparación a las 48 Horas

Ho: Las muestras proceden de poblaciones con la misma distribución de probabilidad (Medias similares)

Ha: Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones.

Tabla 6 Pruebas no paramétricas, Kruskal Wallis a las 48 Horas

Halo de inhibición (48Horas)						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
Extracto 5%	12	2,5	0,522	0,151	2	3
Extracto 25%	12	5,16	0,515	0,149	4	6
Extracto 50%	12	9,25	0,996	0,288	8	10
Clorhexidina 0,12%	12	12,58	1,115	0,322	12	13
Agua destilada	12	0,00	0,000	0,000	0	0
Total	60	5,89	3,646	0,471	2	13

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

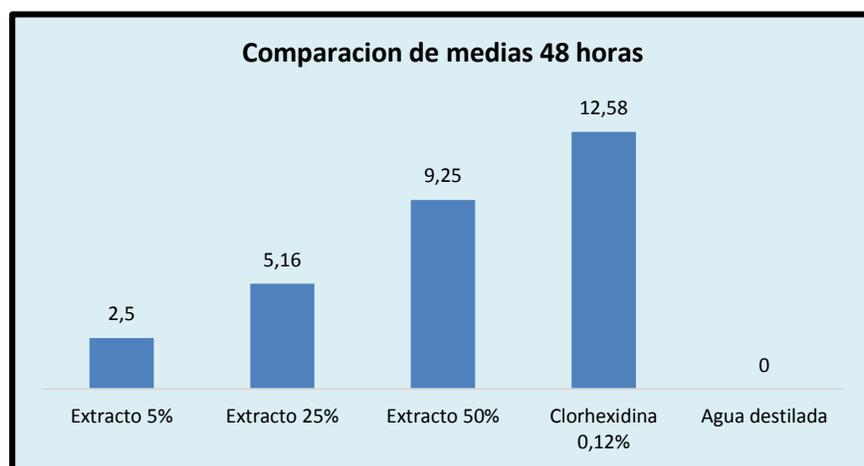


Gráfico No. 2 Comparación de medias 48 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

Análisis: En el gráfico se puede observar que existe un mayor efecto inhibitorio del extracto de toronja al 50% a las 48 horas de incubación contra la cepa del *Streptococcus mutans* demostrando así que al 50% tiene mayor efectividad el extracto.

En la gráfica se observa que la media del Extracto 5% es de 2,50; del Extracto 25% es de 5,16; del Extracto 50% es de 9,25; muy por encima se encuentra la Clorhexidina 0,12% con una media de 12,58 y prácticamente nula el Agua destilada. Para verificar si estas diferencias son significativas se realizan las pruebas no paramétricas:

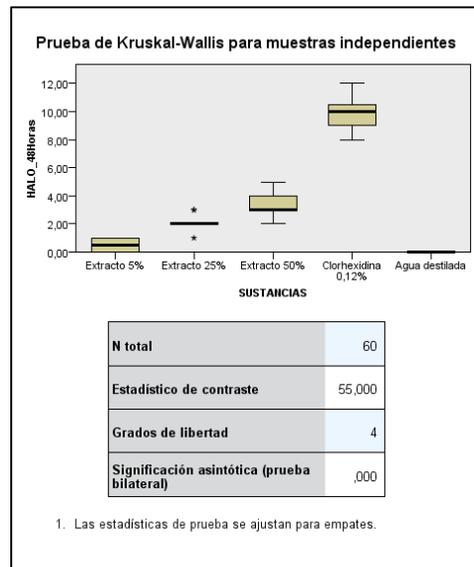


Figura No. 21 Pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, datos de 48 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

De la Prueba de Kruskal-Wallis, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral)) = 0,000 es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), entonces se acepta H_a , es decir, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones, por lo tanto, no todas las medias o medianas de las muestras son similares. Este resultado orienta a determinar cuáles son similares o diferentes mediante la prueba dos a dos:

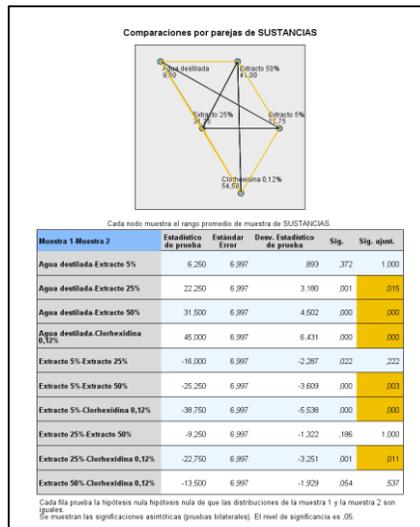


Figura No. 22 Comparaciones dos a dos, datos de 48 horas

Fuente: investigación **Elaboración:** estadístico

Así mismo al obtener un valor de significancia menor a 0,05 las medias de halos de inhibición a las 48 horas, son significativamente distintas en los siguientes pares:

- Agua destilada No es similar a Extracto 25%
- Agua destilada No es similar a Extracto 50%
- Agua destilada No es similar a Clorhexidina al 0,12%
- Extracto 5% No es similar a Extracto 25%.
- Extracto 5% No es similar a Extracto 50%.
- Extracto 5% No es similar a Clorhexidina al 0,12%
- Extracto 25% No es similar a Clorhexidina al 0,12%

En la Prueba de Mann Whitney, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral)) = 0,000) es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), se acepta H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. No son similares Extracto 50% vs Clorhexidina 0,12%.

Análisis según la escala de Duraffourd

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm

- Sensible (Sensible =+) de 9-14 mm
- Muy sensible (muy sensible ++) de 15-19 mm
- Sumamente sensible (S.S = +++) si fue igual o superior a de 20 mm

En el análisis cualitativo según las pautas de Duraffourd se observa que el grado de sensibilidad de las sustancias estudiadas en relación a la escala de referencia manifiesta lo siguiente:

24 horas de exposición:

- Extracto al 5% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 1,33 mm de halo de inhibición se ubica como “Nula” (-).
- Extracto al 25% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 3,16 mm de halo de inhibición se ubica como “Nula” (-).
- Extracto al 50% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 5,91 mm de halo de inhibición se ubica como “Nula” (-).

48 horas de exposición:

- Extracto al 5% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 2,50 mm de halo de inhibición se ubica como “Nula” (-).
- Extracto al 25% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 5,16 mm de halo de inhibición se ubica como “Nula” (-).
- Extracto al 50% al tener un promedio de efecto inhibitorio de 9,25 mm de halo de inhibición se ubica como “Sensible” (+)

A partir de este estudio lo que se comprobó fue la acción inhibitoria de la concentración mayor que en este caso se utilizó para la presente investigación del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) sobre cepas de *Streptococcus mutans*, y que este proyecto de investigación servirá de estrategia como prevención contra la caries. Además se pudo observar que existen diferencias significativas entre el extracto de toronja en las concentraciones de 5% y 25% con respecto a la clorhexidina.

CAPITULO V

DISCUSION

Según Okunowo et al ⁽⁶⁹⁾ a *Citrus paradisi* se le atribuye un sin número de propiedades debido a que los componentes que especialmente se los pueden encontrar en la semilla y corteza de la toronja poseen una conocida actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante, antiviral, y conservante. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de la cáscara de toronja sobre algunos aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *E. coli* ATCC 25292, *Klebsellia pneumonia*, *Pseudococcus sp.*, *Salmonella typhmurium*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* y aislados fúngicos de *Cándida albicans*, demostró que la mezcla de aceite de etanol inhibió las bacterias de ensayo y *C. albicans*.

Sin embargo, al realizar el ensayo para *Streptococcus mutans* los resultados de este estudio evidencian que la clorhexidina al 0,12% presentó un mayor efecto antibacteriano sobre la cepa de *Streptococcus mutans* que el extracto de toronja (*Citrus paradisi*) en sus diferentes concentraciones, los mayores halos de inhibición los presenta el extracto de 50%, en comparación al de 5% y 25%.

Por otro lado, en el 2016 Oikeh et.al. ⁽⁷⁷⁾ manifiestan que al investigar la composición fitoquímica, actividad antimicrobiana y antioxidante de diferentes concentrados de zumos de cítricos, se determinó que los frutos de toronja (*Citrus paradisi*), mandarina, limón y lima fueron evaluados en su actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar con pozos contra cinco bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* y tres hongos: *Cándida albicans*, *Aspergillus niger* y *Penicillium spp.*; observando que el zumo de toronja a la concentración de 200 µl/mL mostró zonas de inhibición de 8 mm sobre cepas de *Cándida albicans*, además en comparación con los otros cítricos, la toronja fue menos eficaz como agente antibacteriano y antifúngico, sin embargo tuvo una mejor actividad antioxidante.

Esta referencia investigativa es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio en ambos tiempos de análisis (24 y 48 horas), en el cual se determinó estadísticamente que el efecto antimicrobiano del fruto del *Citrus paradisi* sobre *Streptococcus mutans* es Nulo (-) en las concentraciones 5% y 25% utilizando como referente la escala de sensibilidad de Duraffourd; por el contrario se pudo apreciar que la concentración de 50% presentó una actividad antibacteriana límite e inclusive se verifica que las concentraciones de 5%, 25% y 50% son significativamente distintas al efecto antimicrobiano de la clorhexidina sobre *S. mutans*.

Por otro lado los resultados obtenidos por Uysal ⁽⁷⁰⁾ que evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de toronja contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* y *Proteus vulgaris*, con zonas de inhibición que van desde 11 a 53 mm, lo cual indica una actividad antibacteriana límite. Mientras que el extracto de toronja (*Citrus paradisi*) que ha sido utilizado en esta investigación de igual forma mostró que en una sola de las concentraciones hubo un efecto inhibitorio límite.

Por lo que los resultados de este proyecto de investigación determinan que el extracto hidroalcohólico de *Citrus paradisi* en concentraciones de 5% y 25% es nulo según la escala de Duraffourd sobre cepas de *S. mutans* ATCC® 25175™, resultado obtenido a través de un estudio in vitro, se concluyó además que estas cepas son ligeramente sensibles a una concentración mayor como fue la de 50%.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- Existe efecto inhibitorio in vitro del extracto de toronja (*Citrus paradisi*) en la concentración de 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- El extracto al 50% con un promedio de efecto inhibitorio de 9,25 mm de halo de inhibición a las 48 horas, se ubica como actividad inhibitoria “Sensible” (+), según las pautas de Duraffourd.
- El Extracto al 25% con un promedio de efecto inhibitorio de 3,16 mm de halo de inhibición a las 24 horas y 5,16 mm a las 48 horas, se ubica como “Nula” (-), según las pautas de Duraffourd.
- El Extracto al 5% con un promedio de efecto inhibitorio de 1,33 mm de halo de inhibición a las 24 horas y 2,50 mm a las 48 horas, se ubica como “Nula” (-), según las pautas de Duraffourd.
- Al comparar la actividad antimicrobiana entre las tres concentraciones se observa diferencias significativas entre la concentración del 5% comparado con la de 25% y 50%; los promedios de las concentraciones de 25% con la de 50% son distintas. Finalmente todas las concentraciones son significativamente distintas en relación al efecto inhibitorio de la clorhexidina en ambos tiempos de análisis.

6.2 Recomendaciones

- Elaborar estudios posteriores enfocándose en la preparación del extracto de toronja cuyas concentraciones sean mayores, para observar su efectividad contra las bacterias patógenas orales.
- Sería indispensable la realización de nuevos estudios sobre los fitofármacos a nivel odontológico, de tal manera que se pueda coadyuvar al mejoramiento de las diferentes patologías orales que se presentes en los diferentes pacientes.
- Se debería procurar la realización de más investigaciones sobre la toronja (*Citrus paradisi*) a diferentes concentraciones sobre otros microorganismo patógenos de la como la cavidad oral, comparando resultados con el *Streptococcus mutans*.
- Enfocar investigaciones mucho más profundas sobre los efectos secundarios de la toronja (*Citrus paradisi*) y lo que esto implicaría en un futuro.

BIBLIOGRAFIA

1. Mouton C. Bacteriología bucodental [versión española de la obra original en lengua francesa]. Barcelona: Masson; 1995
2. Rodríguez A, González OA. Fisiopatología de la caries dental. Univ Odontol. 2000 may; 20(supl. 1): 21-7.
3. Hamburger M, Hostettman K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. Phytochemistry. 199; 30 (1): 3864-3874.
4. O'Sullivan DM, Thibodean EA. Caries experience and mutans Streptococci as indicators of caries incidence. Pediatr Dent 1996;18(5):371-4
5. Linossier A, Valenzuela C, Soler E, Contreras E. Colonización de la cavidad oral por Streptococcus grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo. Revista Chilena de Infect. 2011 Junio; 28(3): p. 230-237.
6. Duque de Estrada Riverón J. Factores de riesgos asociados con la enfermedad caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol 2003;40(2).
7. Patto G, Dias Vene M. Production of acid in vitro by streptococcus mutans samples and caries risk. Rev Odontol UNESP 1999;28 (2):329-43.
8. Buitrón X. Ecuador. Uso y comercio de plantas medicinales Cambridge: TRAFFIC International; 1999.
9. Corrales I, Reyes J, Piña R. Plantas medicinales de interés estomatológico. Medigraphic. 2014; 14(5): p. 79-98
10. Matapí U, Melendez I, Pérez Manuel, et al (2013). Plantas y Territorio en los Sistemas Tradicionales de Salud en Colombia. Bogotá, Colombia: Instituto Humboldt.
11. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Caries. Guías de Práctica Clínica (GPC). Quito; 2015.
12. Alzazhi B, Diab A, Essa S, Ahmed G. Antibacterial Activity of the Ethanolic Extracts of Allium Sativum L. Bulbs and Zingiber Offinale Roscoe Rhizomes as irrigating solutions. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014 Abril; 3(6): p. 14
13. Rojas-Vargas A, Montero-Salazar O. Equivalencia entre el Método ICDAS II y el Iceberg de la Caries Dental. Rev Científ Odontol (Rev Electr)

[artículo en Internet]. 2012 [citado 12 ene 2013] Disponible en: <http://colegiodentistas.org/revista/>

14. Harris R, Nicoll A, Adair P, Pine C. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community Dent Health*. [Meta-Analysis Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2004; 21(1 Suppl):71-85

15. Ramón Jimenez Ruth, Dr. Mario Castañeda Deroncelé, Dra. Marcia Hortensia Corona Carpio, Dra. Gladys Aída Estrada Pereira y Dra. AnaMaria Quinzán Luna. Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5 a 11 años. Cuba.2016

16. Rodríguez Lorenzo E, Rodríguez Lorenzo C. Comportamiento de la caries dental en escolares. Clínica Estomatológica “Hermanos Gómez”, 1994-2000. *Rev Habanera Ciencias Médicas*. 2004 [citado 12 Jun 2015]; 3(8). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/rhab/articulo_rev8/ccdent.htm

17. Pardo García N, Ruano Ravina A, Feàns Garazo L. Factores de riesgo de la caries. Un estudio transversal en Galicia, España. *Cad Aten Primaria*. 2012 [citado 12 Jun 2015];18(4). Disponible en: http://www.agamfec.com/wp/wpcontent/uploads/2014/07/18_4_Orixinais_3_Cadernos.pdf

18. Hidalgo I, Duque de Estrada J, Pérez JA. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. *Rev. Cub. Estomatología.*; 23 (3):56-61; 2007, Oct 26.

19. Graciano ME, Correa YA, Martínez CM, Burgos A, Ceballos JI, Sánchez LF. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. *Revista Nacional de Odontología*. 2012; 8(14): 32-45.

20. Gutiérrez SJ, García DA, Santacoloma S, Mejía JP. Caries dental: ¿influyen la genética y la epigenética en su etiología? *Univ Odontol*. 2013

21 .El Desafío de las Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. 2ª ed. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015.

22. Aricapaba Barrera Diana P. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos criogénicos. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias básicas. Bogotá 2009

23. Ciampi Díaz Nicole. Efecto del tratamiento rehabilitador integral de caries temprana de la infancia en los niveles de *Streptococcus mutans* salivales de niños atendidos en la Clínica de Odontopediatría de la Escuela de Graduados de la Universidad de Chile. Santiago-Chile 2013

24. Carozo, B. Importancia de una correcta higiene bucal para el control de la placa bacteriana <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/03-Medicas/2006-M-106.pdf> (25 de marzo 2013)
25. Fernández E. (2013). Formación de biofilms bacterianos sobre distintas superficies de implantes dentales. *Formación de biofilms bacterianos sobre distintas superficies de Implantes.pdf* Recuperado el 3 de mayo de 2016 de http://eprints.sim.ucm.es/22535/1/Eva_Fernandez_Vidal
26. Sedlacek M.J. y Walker C. (2007). Antibiotic resistance in an in vitro subgingival biofilm model. *Oral Microbiol Immunol* 22(5): 333-339
27. Diaz, P. I., Chalmers N. I., Rickard A. H., Kong C., Milburn C. L, Palmer Jr. R. J., Kolenbrander P. E. (2006). Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:2837–2848.
28. Kolenbrander, P. E., Andersen R. N., Blehert D. S., Eglund P. G., Foster J. S, Palmer Jr. R. J. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 66:486–505.
29. Cuadrado D., Peña R., Gómez J., El concepto de caries: hacia un tratamiento no invasivo *Concept of dental caries: towards a non invasive treatment.* Recuperado el 12 de abril de 2016 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2013/od132c>.
30. Gamboa Martinez. Luis Fernando, *Epidemiología de la caries. Epidemiology of dental caries, univers odont, mayo 2000; (suple1): 13-17.*
31. Keijsers BJ, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, et al. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res.* 2008;87:1016–20.
32. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012; 486:207–14. [PMC free article] [PubMed]
33. Zaura E, Keijsers B, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy «core microbiome» of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 2009;9:259.
34. Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. *Dent Res J.* 2014;11(3):291- 301.
35. Díaz-Zúñiga J, Yáñez Figueroa J, Melgar Rodríguez S, Álvarez Rivas C, Rojas Lagos C, Vernal Astudillo R. Virulencia y variabilidad de *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y su asociación a la periodontitis. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 2012; 5(1):40-45.

36. Henostroza G. Caries Dental. Principios y procedimientos para el diagnóstico Lima: Ripano; 2007.
37. Koneman, W. Elber. Diagnóstico microbiológico. ISBN 950061250X . 5° Edicion. Buenos Aires ; Bogotá : Médica Panamericana, 2009
38. Gamboa F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. Univ Odontol. 2014 Jul-Dic; 33(71):65-73. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo33-71.icmf>
39. Lamas M. Estudio de la colonización por estreptococos mutans y hábitos dietéticos durante la lactancia y primera infancia. Madrid 2003.
40. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. J. Clin. Microbiol. 2004;42(1):198-202.
41. Chamorro A, Ospina A, Arango J, Martinez C. Acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia del *Streptococcus mutans* al diente humano. CES Odont. 2013; 26
42. Rojas S. Caries temprana de infancia: ¿Enfermedad infecciosa? Departamento de Odontología, Odontopediatría. Clínica Las Condesncia. Chile 2014
43. Od RMA, Carlos L, Od MC, Constanza M, Od VR, C SJG. Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 " in vitro." NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 2005;3(3):25-30.
44. Totorá G. Introducción a la Microbiología. Buenos Aires : Médica Panamericana. ; 2007.
45. Ojeda-Garcés Juan Carlos, Oviedo-García Eliana, Salas Luis Andrés. *Streptococcus mutans* and dental caries. CES odontol. [Internet]. 2013 Jan [cited 2017 July 05] ; 26(1):4456.Availablefrom:http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120971X2013000100005&lng=en.
46. León, J.; Liza, L.; Soto, I.; Cuadra, D.; Patiño, L. y Zerpa, R. Actinomycetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. Rev. Peru. Biol. 2007; 14(2): 259-270.
47. Munayco, E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Tesis para título de cirujano dentista. Lima. Odontol. Sanmarquina; 2011.

48. Fonnegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia Antioquia: Universidad de Antioquia; 2007
49. Plantas medicinales. Tus plantas medicinales. [Online]; 2013 [cited 2016]. Available from: <http://www.tusplantasmedicinales.com/hierba>
50. Cañigüeral, S. & R. Vila (2001)“Principios de la Fitoterapia”, en “Plantas medicinales y Fitoterapia”, Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Madrid, Vol 1, págs. 173-193
51. Torres Camacho, Vanesa y Castro Canaviri, Andrés Elías. Fitoterapia. Rev. Act. Clin. Med [online]. 2014, vol.42 [citado 2017-06-25], pp. 2185-2189. Disponible en: <http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000300001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 2304-3768.
52. Anónimo. Taller de fitoterapia en atención primaria. Dpto. Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM. INFITO. 2012. URL disponible en: <http://www.comsegovia.com/pdf/cursos/fitoterapia/FITOTERAPIA%20-%20GENERALIDADES.pdf> Accedido en fecha 8 de marzo de 2014.
53. Buitrón, Ximena. Ecuador: uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para la conservación. Quito: Traffic International, 1999.
54. Zambrano L, Buenaño M, Mancera N, Jiménez E. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. Universidad y Salud. 2015 Mayo; 17(1).
55. Varoni, E.M., Lodi, G., Sardella, A., Carrassi, A., Iriti, M. Plant polyphenols and oral health: old phytochemicals for new fields. *Curr Med Chem*, 19(11):1706-1720, 2012
56. Machado, A.C.; Oliveira, R.C. Medicamentos Fitoterápicos en la odontología: evidencias y perspectivas sobre el uso de la Aroeira-del-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Alleman). Laboratório de Bioquímica, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo (FOB-USP). CEP: 17012-901, Bauru-SP, Brasil. *rodrigocardoso@usp.br. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.2, p.283-289, 2014.
57. Moreno Montoya Arisleidis, Cañada Rodríguez Alfredo, Antúnez Coca José, Díaz Montes de Oca Cristina Idania, M. Pineda Ana. Use of herbal medicine in 3 dental clinics in Santiago de Cuba. *MEDISAN* [Internet]. 2011 Abr [citado 2017 Jun 25]; 15(4): 489-494. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192011000400013&lng=es.

58. García Iturrioz Mikel. Extracto de semilla de pomelo. El antimicrobiano natural. El Mundo del Bienestar www.elmundodelbienestar.es. 1ª edición Diciembre 2008
59. Martínez J, Gutiérrez A, Molina M, García E, Rodríguez J. Fertilización en cítricos en el estado de Nuevo León. México: Fac. Agronomía, UANL. 2010: 1-30.
60. Carrera Costales Stephanie Andrea. Proyecto de factibilidad para la exportación de jugo de toronja a Suecia vía marítima. Universidad Tecnológica Equinoccial Escuela de comercio exterior, integración y aduanas. Facultad de Ciencias Económicas. Quito-Ecuador 2013.
61. Macías WG. Proceso de obtención de extracto a partir de la semilla de toronja (*Citrus paradisi*) y su aplicación en desinfección de vegetales o frutos y superficies planas. Tesis de Bachiller. Guayaquil: Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil; 2014
62. Casa Pia, todo lo relacionado con temas de salud natural (2013) El Pomelo: Propiedades nutritivas y principios activos. Disponible en: <http://www.casapia.com/Paginacast/Paginas/Paginasdemenu/MenudeInformaciones/ComponentesNutricionales/Extracto-Semilla-Pomelo.htm>(2013, 6 de mayo)
63. Coello Salazar Sally Caroly. Evaluación del rendimiento en la determinación de aceite esencial y pectina de tres cítricos limón “chino”, mandarina “criolla” y toronja “blanca” en el cantón Ventanas año 2014. Universidad Técnica estatal de Quevedo Facultad de ciencias de la ingeniería. Escuela de ingeniería para el desarrollo agroindustrial. Quevedo-Ecuador 2014.
64. Gupta V, Kohli K, Ghaiye P, Bansal P, Lather A. Pharmacological Potentials of citrus paradisi- an overview. International journal of phytotherapy research. Volume 1 Issue 1 2011.
65. Del Rio JA, Fuster MD, Sabater F, Porras I, García-Lidon A, Ortuno A. Selection of citrus varieties highly productive for the neohesperidin dihydrochalcone precursor. Food Chem. 1997; 59: 433-437.
66. Sauls J. W. 2008. Nutrition and Fertilization. Texas Citrus and Subtropical Fruits. Professor and Extension Horticulturist Texas AgriLife Extension.
67. Gupta V, Kohli K, Ghaiye P, Bansal P, Lather A. Pharmacological potentials of Citrus Paradisi - An overview. Int J of Phytother Res. 2011; 1(1): 8-17.
68. Gómez Ugarte, Magaly et al. Propiedades medicinales del pomelo, beneficios nutricionales y su aplicación en la estética. Rev. Inv. Inf. Salud [online]. 2015, vol.10, n.24, pp. 49-52. ISSN 2075-6194.

69. Okunowo W, Oyedeji O, Afolabi L, Matanmi E. Essential Oil of Grape Fruit (*Citrus paradisi*) Peels and Its Antimicrobial Activities. *Am. J. Plant Sci.* 2013; 4:1-9.
61. Sharma M, Sharma S. Phytochemical Screening and In vitro Antimicrobial Activity of Combined *Citrus paradisi* and *Ficus carica* Linn Aqueous Extracts. *Intl. J. Microbiol. Res.* 2010; 1(3): 162-165.
70. Uysal B, Sozmen F, Aktas O, Oksal B, Kose E. Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus paradisi*. L) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2011; 46(7): 1455–1461.
71. Ruiz Giraldo Martha, Susunaga Susunaga Clara 2000, actividad antimicrobiana en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens* (Burseraceas), frente a microorganismos como: *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium*
72. Pardo J. Patentabilidad de los extractos vegetales. Disponible en: http://www.pcb.uv.es/centrepatents/pdf/cursos/dillunsCP/pardo_patentesextractosplantas.pdf. descargado en: 2011/09/29
73. Regnault C, P. Bernard, V. Charles. Biopesticidas de origen vegetal. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa; 2004.
74. Mejía, G. (3 de Agosto de 2011). Quimica-Gabriel.blogspot.com. Obtenido de Quimica-Gabriel.blogspot.com: <http://quimica-gabriel.blogspot.com/2011/08/extraccion.html>
75. Bernal, H.Y. (2013), Apuntes de clase sobre plantas medicinales de Colombia de la Asignatura Botánica Económica de la Carrera de Biología de la Pontificia Universidad Javeriana.
76. Faleye F, Ogundaini A, Olugbade A. Antibacterial and Antioxidant activities of *Citrus Paradisi* (Grapefruit seed) extracts. *JPSI.* 2012; 1(3): 63-66.
77. Oikeh E, Omoregie E, Oviasogie E. Oriakhi K. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Sci and Nutr.* 2016; 4(1): 103-109.
78. Pacheco C. M. Adolfo. Conceptos de espacio y tiempo en la física. Universidad pedagógica nacional.
79. Cvetnic Z, Vladimir-Knezevic S. Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharm.* 2004; 54(3): 243-250

80. Maya JJ, Ruiz SJ, Pacheco R, Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. Asociación colombiana de infectología. Cali, Colombia. 2011.

80. Aquiahuatl Ramos María de los Angeles & Pérez Chabela María de Lourdes. Manual de Prácticas del laboratorio de Microbiología. Universidad Autónoma Metropolitana México. 2004.

81. Aquiahuatl Ramos María de los Angeles & Pérez Chabela María de Lourdes. Manual de Prácticas del laboratorio de Microbiología. Universidad Autónoma Metropolitana México. 2004.

ANEXOS

Anexo 1. Solicitud de uso del laboratorio del Centro de Química



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION**

Oficio No. 01045- 2017-CUTGI

Quito, D.M 15 de Junio del 2017

ASUNTO: USO LABORATORIO Y ASESORAMIENTO

Señor Doctor
FERNANDO NOVILLO
COORDINADOR DEL CENTRO DE QUIMICA
Presente

De mi consideración:

Solicito a usted de la manera más comedida permita acudir a la Institución que tan acertadamente dirige al(a) señor(ita) VINICIO RAMIRO MALDONADO GUACHO, egresado(a) 2016-2016 de la Facultad de Odontología, para realizar la elaboración del extracto de **TORONJA** del proyecto de investigación cuyo tema es: **“Efecto inhibitorio del extracto de toronja (citrus paradisi) en diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans. Estudio in vitro”**. Para el efecto se requerirá del uso de los laboratorios, equipos además de la respectiva asistencia técnica a cargo del Químico Max Bonilla. Requisito previo para la obtención del título de Odontólogo.

Cabe aclarar que los materiales que se utilizarán en dicha investigación serán suministrados por el señor egresado de la Facultad.

Por la favorable atención que se digna dar a la presente, anticipo mis agradecimientos,

Atentamente,


Dra. Karina Farfán
COORDINADORA UTGI

SB



Anexo 2. Certificado otorgado por el Químico en la elaboración del extracto



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR CENTRO ACADEMICO DE QUIMICA

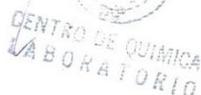
Quito 25 de julio de 2017

INFORME

Yo Max Alexander Bonilla Rea con C.I. 1711464535, docente del Centro Académico de Química informo que el Sr. Vinicio Ramiro Maldonado Guacho con C.I. 1720244977, egresado de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, realizó el extracto de toronja (*Citrus Paradisi*) en el Centro de Química bajo mi responsabilidad técnica, controlando los parámetros de calidad que este tipo de productos requieren para el proyecto de investigación cuyo tema es **“EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO”** Adjunto el programa de actividades para la obtención del mismo.

Es todo lo que puedo certificar en honor a la verdad. El mencionado señor puede ser uso de este certificado como bien le parezca.

Atentamente 


CENTRO DE QUIMICA
LABORATORIO

Químico Max A. Bonilla Rea Msc.

C.I. 1711464535

Anexo 3. Solicitud de uso del laboratorio de Microbiología



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION**

Oficio 1007-2017- CUITG

Quito, D.M. 7 de junio del 2017

ASUNTO: USO EQUIPOS Y ASESORAMIENTO

Doctor
Juan Viteri
Jefe del Laboratorio de Microbiología
Presente

De mi consideración:

Solicito a usted de la manera más comedida permita acudir al Laboratorio de Microbiología, y preste el asesoramiento técnica para el desarrollo del proyecto de investigación al(a) señor(ita): **VINICIO RAMIRO MALDONADO GUACHO**, egresada(o)/estudiante de la Facultad de Odontología período 2016-2016, para realizar el Proyecto de Investigación cuyo tema es: **"EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISE) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO IN VITRO"**. Para la realización de su trabajo requiere utilizar la incubadora y otros equipos para los análisis correspondientes. Requisito previo para la obtención del título de Odontólogo.

Por la favorable atención que se digne dar a la presente, anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,

Dra. Karina Farfán
COORDINADORA UTGI

Sb

Cc: Lic. Yolanda Andrade

FECHAS EN LABORATORIO:.....

HORAS A UTILIZAR

7-06-2017
13:53 p

Anexo 4. Certificado otorgado por coordinador del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la U.C.E.



Quito 15 de septiembre del 2017

INFORME

Yo, Yolanda Andrade con C.I. 1705366480 licenciada del Laboratorio de microbiología de la facultad de odontología informo que el señor Vinicio Ramiro Maldonado Guacho con C.I. 1720244977 egresado del periodo 2016-2016 realizo el trabajo experimental de su tesis cuyo tema es: **"EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO"**, bajo mi responsabilidad como encargada del Laboratorio de Microbiología.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad. El mencionado señor puede hacer uso de este documento como bien le pareciera.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, reading "Yolanda Andrade", written over a horizontal line.

Lic. Yolanda Andrade

Laboratorista

Anexo 5. Certificado del Subcomité de Ética de la Universidad Central del Ecuador



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

EL SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR SEISH - UCE

CERTIFICA:

Que conoció la evaluación realizada por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Odontología al Protocolo de Investigación presentado por el (la) señor (ita), **Vinicio Ramiro Maldonado Guacho**, egresado (a) de Grado de la Facultad de Odontología, con el tema:

“Efecto inhibitorio del extracto de toronja (citrus paradisi) en diferentes concentraciones sobre el Streptococcus Mutans estudio In - Vitro.”

Una vez analizados los fundamentos metodológicos, bioéticos y jurídicos del mencionado estudio, el Subcomité certifica la **VIABILIDAD ÉTICA**.

Quito, 27 de septiembre del 2017.

Dr. Fernando Salazar Manosalvas
PRESIDENTE

Dr. Patricio Pazán León
SECRETARIO

Germania R.

Dirección: Ciudadela Universitaria
Junto a Consejo Universitario

Teléfono: 2904-211 / 2902-192
E-mail: comite.etica@uce.edu.ec

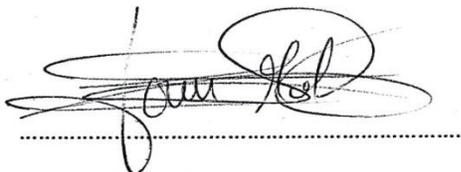
Anexo 6. Certificado del informe estadístico

Quito, DM 13 de octubre de 2017

A quien corresponda:

Yo, Ing. Jaime Molina con CI 170917527-5, por el presente renuncio a todos los derechos de autor y propiedad intelectual relacionado al trabajo estadístico, análisis de resultados, matriz o variables realizado en el trabajo titulado **"EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE TORONJA (CITRUS PARADISI) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO"** del Sr. Vinicio Ramiro Maldonado Guacho por lo tanto puede hacer uso del presente como a bien tuviere.

Atentamente:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jaime Molina', is written over a horizontal dotted line. The signature is stylized and somewhat cursive.

CI 170917527-5

Anexo 7. Abstract Certificado

TOPIC: Inhibitory effect of different concentrations of grapefruit (citrus paradisi) on the Streptococcus Mutans. In vitro study

Author: Maldonado Guacho Vinicio Ramiro

Tutor: B.F. María Fernanda Caicedo Breedy

ABSTRACT

Dental caries is defined as a universal pathology, which results from several factors and that is characterized by the localized and chemical dissolution of the hard tissues of the teeth due to organic acids that result from the fermentative metabolism of the sugar of bacteria. There are countless elements capable of inhibiting oral microorganisms associated with the formation of dental plaque, amongst which we can mention antibiotics, chemical agents such as chlorhexidine and certain vegetable extracts. When the moment medicinal plants were first used, there were known their healing properties, but it was unknown what active ingredient they had. This is an experimental study, proposed in order determine the inhibitory effect of the grapefruit extract through disks submerged in this substance in concentrations of 5, 25 and 50%, using chlorhexidine at 0.12% as positive control and distilled water as negative control, over the strain of *Streptococcus mutans*. The inhibitory halos were measures 24 and 48 hours after. The results obtained in this study in both time periods (24 and 48 hours) determined that the Citrus paradisi has no effect over the *Streptococcus mutans* (-) at 5% and 25%. However, at 50% there was sensitivity after 48 hours of exposure, using the Duraffourd scale as guide. It was even verified that concentrations at 5%, 25% and 50% are significantly different to the antimicrobial effect of chlorhexidine over this microorganism. Based on this results it was possible to establish that the grapefruit extract (Citrus paradisi) has an inhibitory effect over the strain of Streptococcus mutans in the in vitro study.

KEY WORDS: *STREPTOCOCCUS MUTANS*/ GRAPEFRUIT EXTRACT/
BACTERIAL INHIBITION.

I CERTIFY that the above is a true and correct translation of the original document written in Spanish.

Indira Sterwart
Lcda. Indira Sterwart.

C.C: 1757623044

Registro Senescyt: 862183198

UMACAPACITACIÓN
CAPACITACIÓN & CONSULTORIA
uma RUC: 0603266024001
E-MAIL: umacapacitacion@hotmail.com enter_pymes@hotmail.com
Quito: Pasaje Indoamérica Piso 2 Telf: 02-5150-706 / 0999794819

Anexo 8. Repositorio Biblioteca universidad Central del Ecuador

	FORMATO PARA EXPEDIENTE DEL ESTUDIANTE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL		CODIGO: slb-uce.
	<small>La información de este recuadro es para el control del registro. Favor no modificarla</small>		

Fecha de entrega:	Día: 13	Mes: noviembre	Año: 2017
-------------------	---------	----------------	-----------

INFORMACIÓN DE AUTOR (ES)

Nombres y apellidos:	VINICIO RAMIRO MALDONADO GUACHO	C.I. o pasaporte:	1720244977
Email:	vinic1929jm@hotmail.com	Año Nacimiento:	07-08-1985
Nombres y apellidos:		C.I. o pasaporte:	
Email :		Año Nacimiento	
Nombres y apellidos		C.I. o pasaporte:	
Email:		Año Nacimiento	

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL

Nombre de la Facultad:	Odontología										
Carrera:	Odontología										
Título a optar:	Odontólogo										
Pregrado:	<input checked="" type="checkbox"/>	Especialización:	<input type="checkbox"/>	Maestría:	<input type="checkbox"/>	Doctorado:	<input type="checkbox"/>	Institucional:	<input type="checkbox"/>	Otro:	<input type="checkbox"/>
Tutor (es):	B.F. María Fernanda Caicedo										

INFORMACIÓN Y CATEGORÍA DEL DOCUMENTO. Marque con X (uno o varios)

Artículo de Revista	Revista Académica / Científica	
Capítulo de Libro	Tesis (Maestría y Doctorado)	
Libro	Trabajo de grado (Pregrado y Especialización)	x
Memoria de Evento	Otro	
Ponencia	Cual?	
Producción Docente		

Título y subtítulo del documento: Efecto inhibitorio del extracto de toronja (Citrus Paradisi) en diferentes concentraciones sobre el Streptococcus mutans. Estudio in vitro.

DINÁMICA DE INVESTIGACIÓN (Definida por cada Facultad. Consultar con su Tutor)

Grupo de Investigación:	Biología estomatológica
Línea de Investigación:	Microbiología oral
Área:	Ciencias Odontológicas básicas
Tema:	Efecto inhibitorio del extracto de toronja (Citrus Paradisi) en diferentes concentraciones sobre el Streptococcus mutans. Estudio in vitro.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Por medio de este formato manifiesto (manifestamos) mi (nuestra) voluntad de autorizar a la Universidad Central del Ecuador, la publicación en texto completo, de manera gratuita y por tiempo indefinido en el Repositorio Digital de la Universidad Central del Ecuador, así como en índices, buscadores, redes de repositorios y Biblioteca Digital su difusión, el documento académico-investigativo objeto de la presente autorización, con fines estrictamente educativos, científicos y culturales, en los términos establecidos.

En virtud del reconocimiento y protección a los Derechos de Autor consagrados en la *Ley de Propiedad Intelectual en el Ecuador*, de lo señalado en la *Declaración de Berlín sobre el Acceso Abierto al Conocimiento en las Ciencias y Humanidades*, así como del uso de *Licencias de Creative Commons*, indico mi decisión respecto a publicar mi (nuestro) trabajo en el Repositorio Institucional de Acceso Libre Nacional e Internacional, de la Universidad Central del Ecuador.

Como autor (autores) manifiesto (manifestamos) que el presente documento académico-investigativo es original y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es de mi (nuestra) exclusiva autoría y poseo (poseemos) la titularidad sobre la misma. La Universidad de Central del Ecuador, no será responsable de ninguna utilización indebida del documento por parte de terceros, será exclusivamente mi (nuestra) responsabilidad atender personalmente cualquier reclamación que pueda presentarse a la Universidad. Autorizo (autorizamos) al Repositorio Institucional de la Universidad Central del Ecuador, convertir el documento al formato que el repositorio lo requiera (impreso, digital, electrónico o cualquier otro conocido o por conocer) con fines de preservación documental, académico y de investigación. Esta autorización no implica renuncia a la facultad que tengo (tenemos) de publicar posteriormente la obra, en forma total o parcial, por lo cual podré (mos), dando aviso por escrito a la Biblioteca de la Universidad Central del Ecuador, con no menos de un mes de antelación, solicitar que el documento deje de estar disponible para el público en el Repositorio Institucional de la Universidad de Central del Ecuador, así mismo, cuando se requiera por razones legales y/o reglas del editor de una revista.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Firma autor*		Cédula:	172024497-7
Firma autor*		Cédula:	
Firma autor*		Cédula:	

ESPACIO EXCLUSIVO PARA EL ASESOR O REPRESENTANTE COMITÉ EVALUADOR DE FACULTAD

Entiendo los términos en los que el autor acepta la publicación en texto completo, en especial aquellos en los que asume la autoría del documento y que excluye a la Universidad Central del Ecuador o a mi persona por cualquier reclamo o litigio de terceros, haciéndose responsable de los efectos que ello conlleva. He leído integralmente el texto completo y evaluado este documento en su componente académico e investigativo; utilicé mecanismos de detección antiplagio y/o buscadores comerciales en línea que permiten detectar indicios de fraude académico; según los conocimientos adquiridos en mi área de especialidad profesional certifico un alto nivel de confiabilidad de autoridad, que cumple con los requisitos de calidad exigidos por la Universidad Central del Ecuador para efectos de visibilidad y prestigio nacional e internacional y por lo tanto avalo la calidad de este trabajo y su inclusión en texto completo y referencial en la Colección de Trabajos de Titulación.

AVAL DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Nombre tutor*	MARÍA FERNANDA CAICEDO	Email	fcaicedo@uce.edu.ec
---------------	------------------------	-------	---------------------



Firma

*Se aceptan firmas originales y/o digitales, tanto para autor(es) como para tutor (es), las cuales son **requisitos indispensables** para la entrega en Biblioteca.