

Efectividad *in vitro* e *in vivo* de un colutorio a base de *Myrciaria dubia* “camu camu” sobre bacterias de importancia oral

Effectiveness in vitro and in vivo of a mouthwash based Myrciaria dubia on important oral bacteria

HILDA MOROMI NAKATA¹, DONALD RAMOS PERFECTO², ELBA MARTÍNEZ CADILLO³,
EDITH CHÁVEZ ALVARADO⁴, FREDDY ESPINOZA⁵.

-
- 1 Bióloga, Magister. Profesora Principal de Microbiología. D. A. Ciencias Básicas. UNMSM. Investigaciones en el área de Microbiología bucal, Manuales y Guías de la especialidad. Coautora del libro Temas de Microbiología oral 2013. E-mail: hmnbio@hotmail.com
 - 2 Cirujano Dentista. Profesor Auxiliar de Microbiología. Egresado de la Maestría en Microbiología y especialidad en Periodoncia. UNMSM. D. A. Ciencias Básicas. E-mail: dramos_37@hotmail.com
 - 3 Biólogo. Profesor Asociado de Microbiología. Egresada de la Maestría en Biotecnología. Diplomado en docencia universitaria. UNMSM D.A Ciencias Básicas. E-mail: emcadillo@hotmail.com
 - 4 Cirujano Dentista. Profesor de Bioquímica. UNMSM. D. A. Ciencias Básicas. E-mail: edithodonto@hotmail.com
 - 5 Biólogo, Magister. Profesor asociado de Microbiología de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. E-mail: Freddy_0607@yahoo.es

Resumen

El objetivo del estudio fue establecer la efectividad *in vitro* del extracto hidroalcohólico sobre cepas patrones ATCC de *Streptococcus mutans* y *P. gingivalis*; y la eficacia *in vivo* de un colutorio a base de dicho extracto. Los resultados *in vitro* mostraron la formación de halo de inhibición frente a las cepas mencionadas, con diámetros entre 13-17 mm para *S. mutans* y 7-8 mm de diámetro para *P. gingivalis*, en concentraciones de 10 %, 20 %, 50 % y 100 %, donde la efectividad aumentó en relación directa con la concentración del extracto. La efectividad del colutorio aplicado en 10 sujetos fue evidente en la reducción de la flora microbiana presente en la saliva hasta los 10 minutos, notándose una recuperación de dicha flora, luego de 30 minutos, tanto en el recuento total de microorganismos en el Agar Tripticasa soya, así como del *S. mutans* en el Agar mitis salivarius bacitracina. Solo hubo diferencia significativa en el caso de los recuentos de *S. mutans*. Se concluye que hay evidencia del efecto antimicrobiano del *Myrciaria dubia* tanto *in vitro* como *in vivo*.

Palabras clave: *Myrciaria dubia*, Saliva, bacterias orales, colutorio, *S.mutans*, *P. gingivalis*

Abstract

The study aimed to establish the effectiveness of the hydroalcoholic extract *in vitro* on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and *P. gingivalis* ATCC 33277, and the *in vivo* efficacy of a mouthwash base to extract. The *in vitro* results showed the formation of inhibition zone versus the strains mentioned with diameters between 13-17 mm for *S. mutans* and 7-8 mm in diameter for *P. gingivalis*, in concentrations of 10 %, 20 %, 50 % and 100%, with increased effectiveness in direct relation to the concentration of the extract. The effectiveness of the mouthwash applied in 10 subjects was evident in the reduction of the microbial flora present in saliva for 10 minutes, noticing that recovery of microorganism after 30 minutes, both the total count of microorganisms in Trypticase Soy Agar , and of *S. mutans* in the Mitis salivarius bacitracin Agar. Only significant differences in the case of *S. mutans* counts. It is concluded that evidence of *Myrciaria dubia* antimicrobial effect *in vitro* and *in vivo*.

Key words: *Myrciaria dubia*; saliva, oral bacteria, mouthwashing, *S.mutans*, *P. gingivalis*

Introducción

La salud oral es el resultado de la interrelación de los diversos factores presentes en la cavidad oral, entre estos los microorganismos, siendo los de mayor importancia el *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, los relacionados con las dos patologías más comunes en tal ecosistema como son la caries dental y las enfermedades periodontales. Los esfuerzos en las investigaciones para la prevención, control y tratamiento así como una mejor comprensión de estas enfermedades, se dirigen con énfasis hacia estas bacterias. Diversos estudios han demostrado los beneficios de las plantas medicinales como la *Myrciaria dubia*; teniendo como referencia la definición de la OMS sobre una planta medicinal a toda especie vegetal en la que todo o parte está dotada de actividad farmacológica, que puede ser usada para propósitos terapéuticos. En la actualidad, las bacterias productoras de enfermedades infecciosas están generando una alta resistencia a los antimicrobianos y por ello la búsqueda de nuevos productos que tengan un origen en plantas medicinales, como la *Myrciaria dubia*, de la Amazonía peruana, que tiene múltiples beneficios entre ellos: antibacteriano, antioxidante y otros—ha motivado el desarrollo de este estudio.

La caries dental es una enfermedad de alta prevalencia en el Perú y su origen microbiano asociado a otros factores deja en la población una pérdida de la estructura dentaria en las diferentes etapas de la vida. Se han reportado muchos estudios respecto al *Streptococcus mutans*, que determinan sus características de crecimiento, factores de virulencia, metabolismo⁹ y tratamiento a base de antimicrobianos que dan resultados positivos⁴ Por otra parte, las enfermedades periodontales se inician y se sustentan en el biofilm dental⁴ siendo los factores genéticos y externos modificadores de su gravedad. Si bien es cierto que su etiología es polimicrobiana, la bacteria más relacionada con este proceso es *Porphyromonas gingivalis*⁹ que con sus múltiples factores de virulencia, como sus toxinas y enzimas la hacen sumamente agresiva. En el tratamiento y prevención de estos procesos, se utilizan una serie de procedimientos mecánicos (fresado de superficie dentaria, raspaje y alisado radicular), productos químicos de uso comercial

como colutorios que complementan el tratamiento. Una de estas alternativas complementarias es el uso de productos a base de plantas, por sus características y propiedades así como la posibilidad de acceso a la población de menos recursos económicos.

El objetivo del estudio fue determinar la efectividad in vivo e in vitro de un colutorio elaborado del extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre bacterias de importancia en procesos o patologías orales, con el fin de contribuir a la posible aplicación individual y masiva, en la prevención y control de las principales enfermedades generales con énfasis en las bucales, presentar alternativas de fácil acceso a la población en general para complementar y optimizar el control de los microorganismos presentes en los procesos bucales.

La *Myrciaria dubia* es un producto de la Amazonía peruana que crece en forma silvestre en los suelos aluviales que son inundados durante las épocas de lluvia.⁵ Sus propiedades están sustentadas en varios estudios que muestran beneficios como el ser antibacteriano,⁶ antioxidante,^{2,3} antiinflamatorio,¹⁴ así como un inmunoestimulante.

Entre sus principales componentes se identifican a los flavonoides, ácido ascórbico,¹⁵ tiamina, riboflavina, niacina, siendo el primero el que presenta una actividad antibacteriana comprobada.⁶ La presencia del ácido ascórbico estaría dirigida a reducir la acción citoletal de bacterias como *Porphyromonas gingivalis*¹³ y una mejor recuperación de los tejidos periodontales, ya que estimularía la formación de colágeno.¹⁰⁻¹² Por otro lado, la carencia de la vitamina C incrementa la permeabilidad de la mucosa y epitelio del surco gingival a las endotoxinas y disminuyen la quimiotaxis de los neutrófilos que afecta la destrucción oxidativa de los microorganismos. Estudios recientes del 2010 realizados por la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana han demostrado su actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas.⁶ Otro estudio² ha evaluado la actividad antibacteriana de frutos cítricos, indicando la responsabilidad de los flavonoides de la acción antibacteriana sobre bacterias Gram positivas y negativas.

Es evidente entonces que los productos naturales han sido y siguen siendo una gran alternativa

para la solución de muchas enfermedades. Estos requieren de mayor investigación para determinar sus beneficios, ya que países como el Perú es rico en una flora tan variada que aún falta mucho por descubrir.

Hipótesis

La efectividad del colutorio a base de *Myrciaria dubia* está relacionada con la concentración del extracto y el tiempo utilizado.

Objetivo general:

Determinar la efectividad *in vitro* e *in vivo* del colutorio elaborado del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia*.

Objetivos específicos:

1. Identificar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* sobre cepas ATCC de *S.mutans* y *P.gingivalis* en concentraciones porcentuales: 100, 50, 20, 10 y 1.
2. Identificar el efecto antibacteriano *in vitro* del colutorio de *Myrciaria dubia* en concentraciones porcentuales: 100, 50, 20, 10 y 1.
3. Identificar la efectividad *in vivo* del colutorio de *Myrciaria dubia*, a intervalos de 10 y 30 minutos después de su aplicación.

Material y métodos

Recolección de las plantas

La colección de las muestras de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh, se realizó en el campo; luego de identificarlas, se lavaron y procesaron en el herbario amazense de la Universidad Nacional de la Amazonía. Fig 1



Preparación del extracto⁶

1. Las muestras de las hojas fueron pesadas por separado.
2. Se cortaron en pequeños fragmentos.
3. Se maceró en alcohol de 96 °C a temperatura ambiente (32 °C).
4. La extracción fue realizada por 5 días por 3 veces.
5. Se filtró.
6. Se concentró al vacío mediante el rotavapor.

Preparación del colutorio

A partir del extracto de *Myrciaria dubia*, se realizó una dilución en alcohol de 96°, incorporando previo filtrado a la solución conteniendo: alcohol 25 %, agua, propilenglicol, *stevia*, benzoato de sodio, ácido benzoico, colorante verde. Para la preparación se procedió a disolver el benzoato de sodio en caliente a temperatura no mayor a 50 °C. En el mismo recipiente se incorporó, previa disolución en agua, cantidades proporcionales de *stevia*, colorante verde y ácido benzoico. En otro recipiente se incorporó alcohol con el total del extracto (el extracto previamente fue reconstituido con alcohol y filtrado para evitar el contenido de materia insoluble en ella). Se incorporó al contenido total del producto. Finalmente se obtuvo aproximadamente 600 mL de producto final, como colutorio bucal.

Prueba experimental

Estudio *in vivo*

La población en estudio consistió en 10 estudiantes con los siguientes criterios de inclusión:

1. Presentar caries dental y/o gingivitis.
2. No tener enfermedad sistémica.
3. No fumador.
4. No haber consumido antibióticos en un periodo anterior a 30 días.
5. Aceptación a participar (consentimiento informado).

Toma de muestra y transporte

1. Muestra 1, antes del colutorio: previo cepillado y enjuague con agua, se procedió a la recolección de la saliva no estimulada por dos minutos.

2. Muestra 2: se obtuvo luego de diez minutos de la aplicación del colutorio, a razón de 10 mL haciendo buches por espacio de un minuto.
3. Muestra 3: se obtuvo luego de 30 minutos de aplicación del colutorio.

Las muestras fueron recolectadas en recipientes estériles para su inmediato transporte al laboratorio.

Procesamiento:

Cada una de las muestras fueron homogeneizadas y diluidas correspondientemente para la siembra en medio de Agar tripticosa soya (ATS) para el recuento total de las colonias y en el Agar mitis salivarius bacitracina (AMSB) para el recuento del *S. mutans*, la incubación a 37 °C en aerobiosis y en CO₂ al 5 %, respectivamente, a las 24 y 48 horas, mediante el número de unidades formadoras de colonias (UFC) y el cálculo correspondiente a la dilución de la placa.

Estudio *in vitro*:

A partir del extracto de *Myrciaria dubia*, elaborado con 800 mg/mL para constituir el 100 %, se procedió a la preparación de las soluciones con alcohol de 96° en las concentraciones de 1 % (8 mg) , 10 % (80 mg), 20 % (160mg), 50 % (400 mg).

Las cepas utilizadas para el estudio fueron *S. mutans* ATCC 25175 y *P. gingivalis* ATCC 33277

Procedimiento:

Para la observación del efecto del extracto en las diversas diluciones se utilizó la técnica de difusión mediante discos embebidos con las diferentes concentraciones. Previamente se procedió a la siembra con hisopo de 100 µL de la suspensión de cada cepa a la concentración de 0.5 de la escala de Mac Farland en el medio de A. Shadler para *P. gingivalis*, incubados en anaerobiosis por 7 días a 35-37 °C y en Agar mitis salivarius para *S. mutans*, incubado por 48 horas a 37 °C. Se utilizó como control negativo el alcohol y control positivo la clorhexidina al 0,2 %.

Efecto del colutorio:

El colutorio a base de extracto fue enfrentado a las cepas en estudio, por medio de la técnica de difusión en disco, las lecturas se realizaron considerando los halos de inhibición a las 48 horas para el *S. mutans* y 7 días para *P. gingivalis*.

Resultados y discusión

La efectividad del colutorio aplicado en 10 sujetos fue evidente en la reducción de un promedio del 55 % de la flora microbiana presente en la saliva hasta los 10 minutos de su aplicación, notándose una recuperación de un promedio del 84 % de dicha flora luego de 30 minutos en el recuento total de microorganismos anaerobios facultativos en el Agar Tripticosa soya, no habiendo diferencia significativa en los tres momentos. Cuadro 1, Fig 2

Cuadro 1 Recuento bacteriano de la saliva en Agar Tripticosa soya por acción del colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia*

Muestra	Antes del colutorio	10 minutos después	30 minutos después
1	310 x 10 ³	200 x 10 ³	336 x 10 ³
2	320 x 10 ³	34 x 10 ³	136 x 10 ³
3	142 x 10 ³	398 x 10 ²	200 x 10 ³
4	240 x 10 ³	19 x 10 ³	134 x 10 ³
5	280 x 10 ³	50 x 10 ³	180 x 10 ³
6	288 x 10 ³	70 x 10 ³	280 x 10 ³
7	320 x 10 ³	152 x 10 ³	240 x 10 ³
8	200 x 10 ³	45 x 10 ³	265 x 10 ³
9	240 x 10 ³	104 x 10 ³	194 x 10 ³

10	320 x 10 ³	124 x 10 ³	280 x 10 ³
Promedio	266,6 x 10 ³ ± 60,044	119,60 x 10 ³ ± 113,334	224,50 x 10 ³ ± 66,672

Luego de la aplicación del ANOVA p 0,054, se encontró que no hay diferencia en el recuento bacteriano en saliva en ATS entre los tres momentos de evaluación.

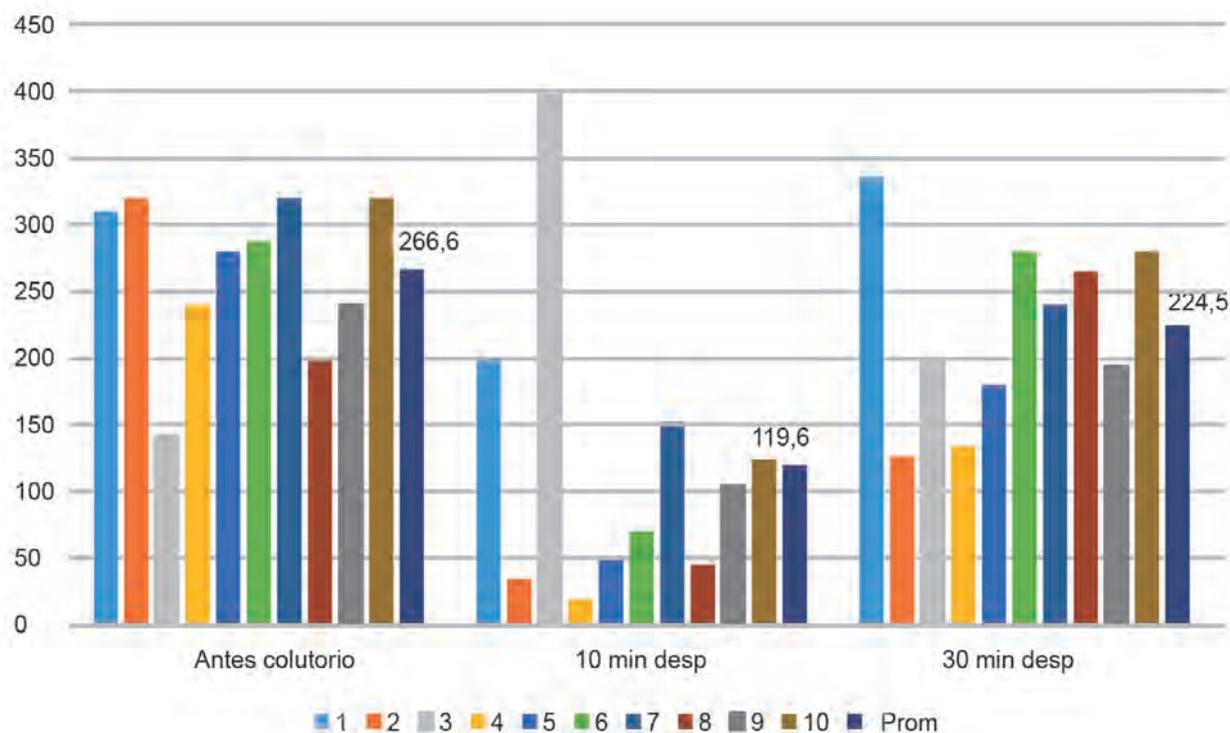


Figura 2. Recuento bacteriano x 10³ de la saliva en Agar Tripticasa soya por acción del colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia*. Luego de la aplicación del ANOVA p 0,054, se encontró que no hay diferencia en el recuento bacteriano en ATS en los tres momento de evaluación.

En el caso del recuento del *S. mutans* en el Agar mitis salivarius bacitracina, se observó una reducción del 85 % de la flora de la saliva a los 10 minutos, lo que muestra diferencias significativas entre los tres momentos. Cuadro 2, Fig 3

Cuadro 2. Recuento bacteriano de la saliva en Agar mitis salivarius bacitracina por acción del colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia*

Muestra	Antes del colutorio	10 minutos después	30 minutos después
1	3120 x 10 ²	520 x 10 ²	2440 x 10 ²
2	2400 x 10 ²	440 x 10 ²	4000 x 10 ²
3	2560 x 10 ²	120 x 10 ²	2160 x 10 ²
4	1320 x 10 ²	108 x 10 ²	2080 x 10 ²
5	2280 x 10 ²	680 x 10 ²	4040 x 10 ²
6	1920 x 10 ²	144 x 10 ²	1640 x 10 ²
7	2560 x 10 ²	125 x 10 ²	3400 x 10 ²

8	1200 x 10 ²	99 x 10 ²	960 x 10 ²
9	3200 x 10 ²	560 x 10 ²	1760 x 10 ²
10	2560 x 10 ²	312 x 10 ²	4400 x 10 ²
Promedio	2072,00 x 10 ² ± 987,171	310,80 x 10 ² ± 222,012	2688,00 x 10 ² ± 1185,213

Luego de la aplicación del ANOVA p 0.000, hay diferencia significativa en el recuento bacteriano en saliva en Agar mitis salivarius, entre las tres evaluaciones: antes, a los 10 y a los 30 minutos posteriores.

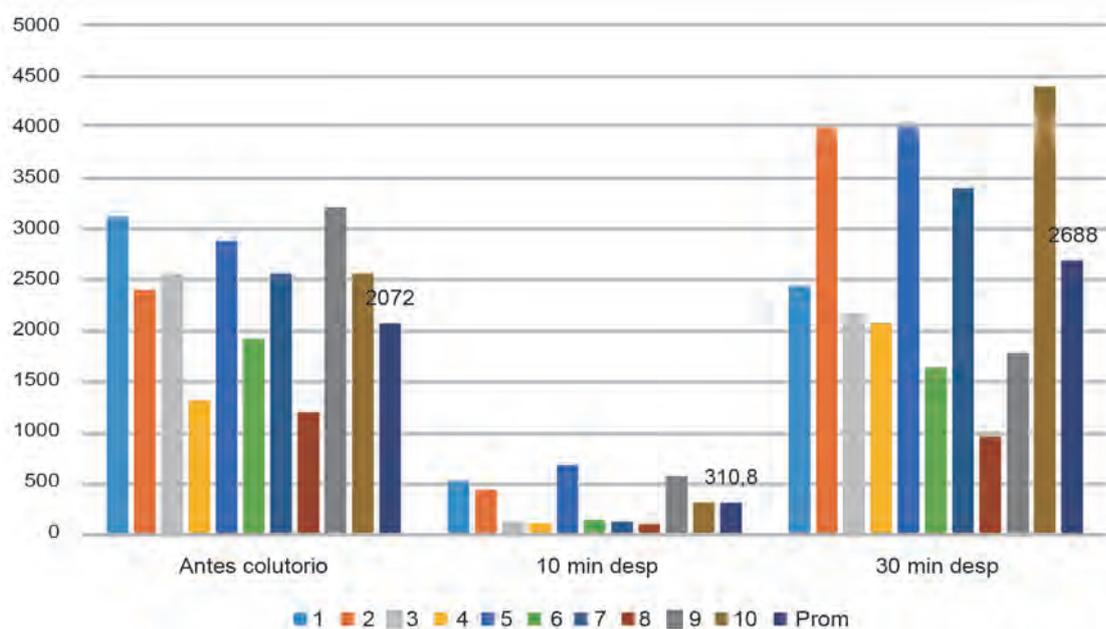


Figura 3. Recuento bacteriano x 10² de la saliva en Agar mitis salivarius bacitracina por acción del colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia*. Luego de la aplicación del ANOVA p 0.000, existe diferencia significativa en el recuento bacteriano en saliva en Agar mitis salivarius, entre las tres evaluaciones: antes, a los 10 y a los 30 minutos después.

El resultado refleja que solo ha sido posible evidenciar el efecto casi inmediato del colutorio no así un efecto residual, a diferencia de un estudio anterior utilizando soluciones de té verde, donde se evidenció una disminución a los 10 minutos y se mantuvo hasta los 30 minutos, inclusive.7

Por otro lado, el colutorio utilizado solo evidenció ligera acción *in vitro* frente al *S. mutans* en concentraciones de 10 %, 20 %, 50 % y 100 %, no se observó ninguna acción frente a *P. gingivalis*. Cuadro 3 y Fig 4 y 5.

Concentración porcentual de <i>Myrciaria dubia</i>	Diametro de inhibición en mm	
	<i>S.mutans</i>	<i>P. gingivalis</i>
100	17	8
50	13	8
20	13	7
10	-	-
1	-	-

Control negativo: Alcohol 96 °	6	7
Control positivo: Clorhexidina 0,2 %	15	8

Cuadro 3. Efectividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de hojas de *Myrciaria dubia*

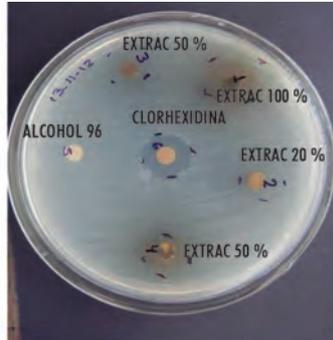


Figura 4.
Cultivo de *S. mutans*

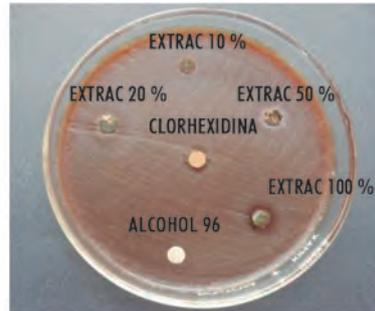


Figura 5.
Cultivo *P. gingivalis*

Como se aprecia en el cuadro 3 y 4, el extracto de *Myrciaria dubia* frente a cepas de *S. mutans* produjo un mayor halo de inhibición en las diferentes concentraciones con énfasis al 100 % (800 mg/mL) comparado como el colutorio.

Para el caso de *P. gingivalis* solo se observó ligero halo de inhibición en el caso del extracto.

Concentración porcentual	Diametro de inhibición en mm	
	<i>S.mutans</i>	<i>P. gingivalis</i>
100	8	6
50	7	6
20	7	6
10	8	-
1	6	-
Control negativo: Alcohol 96 °	6	6
Control positivo: Clorhexidina 0,2 %	15	13

Cuadro 4. Efecto *in vitro* del colutorio de *Myrciaria dubia* frente a cepas de *S. mutans* y *P. gingivalis*

Los resultados coinciden en que el extracto de *Myrciaria dubia* tiene acción antibacteriana mostrado con *Staphylococcus aureus*,⁶ y en el presente estudio observado frente a la cepa de *S. mutans*. No se pudo evidenciar acción frente a *P. gingivalis*.

Es conocido que muchos productos naturales tienen acción antimicrobiana, entre otros, los extractos como mangos, guayaba, frente a *E. coli*,² dando halos de inhibición de 14 mm y *E. faecalis* de 10 mm de diámetro.

En general se considera a los polifenoles, ciertos flavonoides que se encuentran en los productos naturales de diversas presentaciones, como responsables de este efecto antimicrobiano, tal como los hallados

con *Erythroxylum novogranatense* (coca), *Minthostachys mollis* (muña), *Camellia sinensis* (té verde), *Plantago mayor* (llantén) 1,8 entre algunos de los que se han estudiado.

Conclusiones y recomendaciones

1. El colutorio a base del extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu) mostró efectividad in vitro frente al *S. mutans*, no así en *P. gingivalis*.
2. El colutorio base del extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu) redujo en un 55 % el recuento total de bacterias y en 85 % en el recuento de *S. mutans* de la saliva después de 10 minutos de su aplicación in vivo.
3. La mayor efectividad del extracto y del colutorio de *Myrciaria dubia* fue en la concentración del 100 %, observándose su efectividad a partir de la concentración del 20 %.
4. Los productos a base de extractos vegetales pueden ser una alternativa para ser utilizados en diversas formulaciones y contribuir a mejorar o mantener la salud oral de la población.
5. Considerando que *Myrciaria dubia* contiene gran contenido de Vitamina C, el consumo puede ayudar a mantener una buena salud periodontal, y aparejada de sus propiedades antimicrobianas evidenciadas, tanto in vitro como en in vivo; plantea la necesidad de continuar con otros estudios más detallados para complementar y fortalecer los conocimientos, a fin de optimizar su utilización.

Referencias bibliograficas

1. Alvarado VV y Moromi NH. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman* var *trxillenese* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina* 2010;13(2):21-25.
2. Benites VJ, Diaz GR, Lopez VJ, Gajardo SS, Kusch FF, Rojas AM. Actividad antioxidante y antibacteriana de seis cáscaras de frutos del oasis de Pica. 2011, *Biofarbo*. 2011;19(1):1-7.
3. Castañeda CB, Ramos LLE, Ibañez VL. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico* 2008; 8(1): 56-72.
4. Liebana J. *Microbiología Oral*. 2da ed. Madrid: Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2002:567,578,375.
5. Maues MM, Couturier G, Biología floral e fenología reproductiva do camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh, Myrtaceae) no estado Pará, Brasil. *Revista Brasil Bot.* 2002;25(4):441-48.
6. Mori A, Ruiz SE, Bardeales GJ, Garcia DM, Treseira AA, Arevalo EL. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* "Camu Camu" y *Cyperus luzulae* "Piripiri" sobre microorganismos patógenos. *Facultad de Biología UNAP*. 2010:1-17.
7. Moromi NH, Martinez CE y Ramos PD. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la UNMSM. *Odontol.Sanmarquina*. 2009,12(1):25-28.
8. Moromi NH y colab. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontol Sanmarquina*. 2007;10(2):12-14.
9. Negroni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2da ed. Buenos Aires: Edit. Médica Panamericana. 2009:251-253,236.
10. Nishida M, Gross SG, Dunford RG, Ho AW, Trevisan M, Genco RJ. Dietary Vitamin C and the risk for periodontal disease. *J. Periodontol*. 2000;71(8):1215-23.
11. Porras CI, Vitamina C y Enfermedad Periodontal. *ODOVTOC*. 2009;11:100-102.
12. Pussinen JP, Laatikainen T, Alfthan G, Asikainen S, Jousilahti P. Periodontitis is associated a low concentration of vitamin C in plasma. *Clin Diagn. Lab. Immunol*. 2003;10(5):897-902.
13. Staudte H, Guntsch A, Volpel A, Sigusch BW. Vitamin C attenuates the cytotoxic effects of *Porphyromonas gingivalis* on hu-

man gingival fibroblasts. Arch Oral Biol. 2010;55(1):40-45.

14. Yazawa K, Suga K, Honma A, Shiroasaki M, Koyama T. Anti-inflammatory effects of seeds of the tropical fruit camu camu (*Myrciaria dubia*). J Nutr Sci Vitaminol 2011;57: 104-107
15. Zapata MS, Dufour JP. Camu Camu *Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh chemical composition of fruit. J. Sci Food Agric. 1993;61:349-51.

Relación de figuras y gráficos

Fig 1 Plantes identificados.

Fig 2 Recuento bacteriano en Agar triptica-sa soya

Fig 3 Recuento bacteriano en Agar mitis salivarius

Fig 4. Cultivo de *S. mutans*

Fig 5 Cultivo de *P. gingivalis*

Relación de Cuadros

Cuadro 1. Recuento bacteriano en Agar triptica-sa soya

Cuadro 2. Recuento bacteriano en Agar mitis salivarius

Cuadro 3. Efectividad antimicrobiana in vitro del extracto de hojas de *Myrciaria dubia*

Cuadro 4. Efecto in vitro del colutorio de *Myrciaria dubia* frente a cepas de *S. mutans* y *P. gingivalis*.