



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL
AREA DE MICROBIOLOGIA**

“Evaluación *in vitro* de la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente a un Sustituto Salival Casero en Base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de Linaza (*Linum usitatissimum*)”.

Valentina Daniela Arcos Elgueta

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Patricia Palma Fluxá

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Blanca Urzúa Orellana

Prof. Dra. Irene Morales Bozo

Adscrito a Proyecto FONIS SA12|2207 “Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia de un sustituto salival casero, en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de linaza (*Linum usitatissimum*), en el alivio de la sensación de boca seca de distinto origen”.

Santiago – Chile

2016



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y MEDICINA ORAL
AREA DE MICROBIOLOGIA**

“Evaluación *in vitro* de la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente a un Sustituto Salival Casero en Base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de Linaza (*Linum usitatissimum*)”.

Valentina Daniela Arcos Elgueta

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Patricia Palma Fluxá

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Blanca Urzúa Orellana

Prof. Dra. Irene Morales Bozo

Adscrito a Proyecto FONIS SA12|2207 “Ensayo clínico aleatorizado para evaluar la eficacia de un sustituto salival casero, en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de linaza (*Linum usitatissimum*), en el alivio de la sensación de boca seca de distinto origen”.

Santiago – Chile

2016

**“Sólo el amor con su ciencia
Nos vuelve tan inocentes”.**

Violeta Parra.

**Para el Tata y la Mamá Ani
Ellos estarían orgullosos porque terminé esta etapa**

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Anita y Juan, por su apoyo, paciencia y aguante conmigo en esta etapa, y a lo largo de toda la vida.

A mis hermanos Iván y Paulina, por mostrarme la vida de forma distinta, por sus consejos, y por sus risas y cariños de siempre.

A Millaray, por ser una mamá más, por su preocupación, su apoyo, su alegría, sus historias, y todo el tiempo que hemos compartido juntas a lo largo de nuestras vidas, Gracias por estar aquí.

A mi familia, Jacqueline, Josefita, Chachi, Davicho, Guaco, Max, por ser parte de mi vida, por su apoyo, por quererme y cuidarme siempre.

A mis amigos Cristóbal, Pamela, Yassna, Francisca y Daniela, por sus consejos, su comprensión y alegría, y por haber elegido estar conmigo toda la vida, incluso hoy.

A Gustavo, Claudia, Cecilia, Rocío, Jami, Kathy, Daniel y Chobal por su compañía a lo largo de los años de universidad, sus consejos, su comprensión, las risas y por todo el cariño.

A Tirsa, por sus buenos consejos y porque nunca me dejó sola.

Agradezco también a todas las personas que hicieron este escrito posible, Dra. Patricia Palma, tutora de esta tesis, quién estuvo paso a paso conmigo en el desarrollo de este trabajo, gracias por su apoyo, confianza, dedicación y paciencia.

A la Prof. Leyla Gómez por su excelente disposición, ayuda y orientación en el desarrollo de este proyecto, Prof. Blanca Urzúa y Prof. Irene Morales, co tutoras en este trabajo. Gracias por su preocupación y buena voluntad.

A las encargadas del laboratorio de microbiología Oral de la FOUCH Dani, Darny y Carmencita, por tantos buenos momentos que tuvimos juntas haciendo este trabajo, por tantas risas e infidencias. Y a Andreita del Laboratorio de Bioquímica, por ayudarme siempre con el sustituto.

A todos los funcionarios de la Escuela que durante todos estos años me han brindado su apoyo y cariño.

Gracias por tanto.

ÍNDICE

1. RESUMEN	8
2. MARCO TEÓRICO	10
2.1 Sensación de boca seca.....	11
2.2 Factores predisponentes de la sensación de boca seca.	12
2.3 Consecuencias de la sensación de boca seca.	13
2.4 Sustitutos salivales como paliativos de la sensación de boca seca.	13
2.5 Microbiota comensal de la cavidad oral	15
2.6 Plantas Medicinales como alternativa para aliviar trastornos de la mucosa bucal	17
2.7 Propiedades de la manzanilla (<i>Matricaria chamomilla</i>) y evidencia en el alivio de trastornos de la mucosa oral.	18
2.8 Evidencia del uso de semillas de linaza (<i>Linum usitatissimum</i>) en el alivio de trastornos de mucosa y de sensación de boca seca.....	20
2.9 Sustituto salival en base a manzanilla y linaza	22
3. HIPÓTESIS.	24
4. OBJETIVO GENERAL.....	24
5. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	24
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
6.1 Tipo de estudio:	25
6.2 Cepas:.....	25
6.3 Obtención de las cepas en medio sólido:.....	25
6.4 Identificación de colonias.....	26
6.5 Obtención de las cepas en medio líquido.....	26
6.6 Aislamiento y resiembra	26
6.7 Obtención y preparación de los colutorios	26
6.8 Ensayo de Difusión en Agar:	27
6.9 Ensayo de Dilución en Placa:	28
6.10 Killing Test:	28
7. RESULTADOS.....	29
7.1 Ensayo de Difusión en Agar:	29
7.2 Ensayo de Dilución en Placa:	30
7.3 Killing Test/ Test de contacto:.....	33
8. DISCUSIÓN	39
9. RESUMEN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	44
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
11. ANEXOS Y APÉNDICES	57

1. RESUMEN

Introducción: La sensación de boca seca o xerostomía es la sensación subjetiva de sequedad bucal, que se produce cuando la tasa de producción de flujo salival es menor que la tasa de pérdida de fluidos de la boca. Como terapia para la sensación de boca seca se indica el uso de sustitutos salivales, que lubrican de forma transitoria las estructuras bucales. Algunos productos utilizados para aliviar la sensación de boca seca en su formulación incluyen sustancias con efectos antimicrobianos que pueden causar importantes desequilibrios en la microbiota comensal de la cavidad oral. Esta microbiota entre otras cosas se encarga de impedir la colonización de otros microorganismos (potencialmente patógenos), activar el sistema inmune y producir nutrientes necesarios para otras especies también protectoras. En el área de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se ha desarrollado un sustituto salival formulado en base a manzanilla y linaza. Este sustituto se caracteriza por ser un producto de elaboración casera, económica, no tóxico, reconocido como alimento, por tanto puede ser ingerido. Cuenta con evidencia clínica de ser un buen reductor de la sensación de boca seca. El objetivo de este trabajo fue estudiar el posible efecto protector del sustituto salival recién descrito, sobre microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral.

Material y métodos: Para evaluar la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente al contacto con un colutorio en base a manzanilla y linaza se realizaron ensayos de difusión, dilución y ensayos de contacto (*Killing test*), utilizándose como medios de cultivo placas de agar TYCS y TSB. Se utilizó como producto de comparación un colutorio comercial formulado para aliviar la xerostomía (Xeros, Dentaïd®), como control positivo Clorhexidina 0,12% y como control negativo suero fisiológico. Se realizó medición de zonas de inhibición de crecimiento bacteriano para los distintos productos en el ensayo de difusión, recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en los ensayos de dilución y contacto. Los resultados fueron analizados mediante el test de Shapiro Wilk

y ANOVA no paramétrico para el análisis de normalidad y el test de *Kruskal Wallis* para afirmar o refutar la hipótesis de igualdad de rango promedio. En el ensayo de Dilución las comparaciones se evaluaron empleando el test *U de Mann Whitney* para muestras independientes con la corrección de *Bonferroni*.

En el ensayo de contacto, se utilizó el análisis ANOVA para ver la distribución de la normalidad de las muestras y además, debido a que se trabajó con 2 variables independientes, se utilizaron modelos de regresión lineal múltiple para ver la distribución del recuento de colonias bacterianas en relación al volumen de los colutorios y al tiempo de contacto entre ellos.

Resultados: Xeros® generó una variación significativa en el recuento de colonias bacterianas pertenecientes a la microbiota comensal oral del género *Streptococcus*, específicamente *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis*, siendo éste menor en comparación con el recuento de colonias bacterianas obtenidos con el sustituto salival casero y con el suero fisiológico. El efecto de Xeros® se mantiene en el tiempo.

El sustituto en base a manzanilla y linaza no generó una variación significativa en el recuento de colonias bacterianas estudiadas en comparación con suero fisiológico (control negativo), lo que se mantiene en el tiempo.

Conclusiones: El sustituto salival en base a manzanilla y linaza no modificó los recuentos bacterianos de microorganismos comensales orales, a diferencia del sustituto comparado, Xeros®, lo que representa una ventaja frente a éste. Se requiere de investigaciones adicionales en relación a otros posibles efectos de manzanilla y linaza sobre una variedad mayor de microorganismos orales, de modo de generar mayor evidencia sobre la interacción de estos productos naturales con la microbiota comensal y patógena de la cavidad oral.

Esta evidencia sería fundamental para la toma de decisiones en el tratamiento paliativo de sequedad bucal de los pacientes xerostómicos en Chile y permitiría efectivamente mejorar su calidad de vida.

2. MARCO TEÓRICO

La población de adultos con enfermedades en Chile está en aumento. Según información del Instituto Nacional de Estadísticas (INE), en el 2010 los adultos mayores sobrepasaron los 2 millones de personas, representan alrededor del 13 % de la población del país y se espera que para el 2020 ésta cifra aumente a 3, 2 millones representando el 20% de la población.

De acuerdo a la información entregada en la Encuesta Nacional de Salud 2009-2010 del MINSAL, de la población chilena mayor de 65 años, el 13 % es fumador, el 75 % es hipertenso, el 26 % es diabético y el 11 % sufre de depresión. La misma encuesta reporta que de los adultos mayores de 65 años, un porcentaje importante requiere de soluciones a la problemática de la sensación de boca seca, generada por diferentes causas. Las que pueden ser asociadas al propio envejecimiento, a distintas enfermedades, a factores externos o consumo de fármacos y por esto que se presenta en una alta prevalencia en individuos de mayor edad, generando problemas, ya sea funcionales (habla, masticación, deglución, percepción gustativa), sensación de ardor y dolor permanente, enfermedades asociadas a microorganismos como caries, enfermedad periodontal e infecciones oportunistas, que impactan en la calidad de vida de este grupo etario (Catastro de población Adulta mayor, INE 2003; Encuesta Nacional de Salud Chile. ENS 2009-2010).

En nuestro país, son escasos los estudios sobre la prevalencia de sensación de boca seca en la población general y en el adulto mayor. Un estudio indica que el 60% de los adultos mayores desdentados y el 42% de los no desdentados presentan sequedad bucal, siendo prevalente en el 54% de las mujeres y en el 28% de los hombres (Soto y cols., 2007). La literatura mundial, reporta rangos de xerostomía entre 10 y 50%; con un 20% en la población general, un 30% en mujeres y un 50% en adultos mayores (Orellana y cols., 2006; Hopcraft y Tan, 2010; Villa y Abati, 2011). Una reciente revisión sistemática de la literatura, en que se incluyen estudios publicados entre 1989 y 2010, sobre prevalencia y causas de xerostomía en adultos mayores, reporta una prevalencia de 17 % a 40 % en

adultos mayores no institucionalizados, de 20 % a 72 % en adultos mayores institucionalizados (aquellos que viven en residencias de ancianos o que permanecen por largo plazo en hospitales) y de 55 % en adultos mayores con enfermedades sistémicas (Liu y cols., 2012).

2.1 Sensación de boca seca.

La saliva es una solución fundamental para la adecuada función del sistema estomatognático, al recubrir y lubricar las estructuras bucales (Dawes, 2004; Dawes y Odlum, 2004). Posee mucinas salivales sulfatadas y sialiladas junto a otras proteínas salivales que retienen gran cantidad de agua y así, contribuyen a generar un gel hidrofílico esencial para la lubricación del epitelio oral (Amerongen y cols., 1995). Este gel forma un biopelícula protectora que permite el desplazamiento de la mucosa bucal sobre los dientes durante la masticación, facilita la deglución y fonarticulación de las palabras (Berg. y cols., 2003).

Además, la saliva mantiene la integridad de las estructuras duras y blandas de la cavidad oral, aportando componentes antimicrobianos y otros sistemas de protección para evitar el desarrollo de patologías como caries, enfermedad periodontal y lesiones de la mucosa oral (Pedersen y cols., 2002; Doods y cols., 2005).

La xerostomía o sensación de boca seca es la sensación subjetiva de sequedad en la boca que se produce cuando la tasa de producción de flujo salival es menor que la tasa de pérdida de fluidos de la boca por evaporación y por absorción de agua a través de la mucosa oral (Dawes, 2004). También se puede deber a una disminución de la cantidad de saliva secretada y/o a la alteración de su composición, impidiendo la formación apropiada del biopelícula oral (Dawes, 2004; Dawes y Odlum, 2004; Brosky, 2007).

En individuos xerostómicos se ha descrito una disminución de las mucinas salivales, asociada a una disminución de las sulfataciones que éstas glicoproteínas presentan (Alliende y cols., 2008; Chang y cols., 2011).

Un estudio (Dawes, 2004) sugiere que los individuos que refieren xerostomía, pueden no presentar una completa falta de saliva en la boca. Más bien, puede haber zonas de sequedad localizadas, sobre todo en el paladar duro, donde la película salival particularmente fina, se encuentra sujeta a la evaporación por la respiración bucal y a la absorción de agua por parte de la mucosa. Situación que puede estar además asociada a una reducción de la secreción de las glándulas salivales menores del paladar blando, que contribuyen a la formación de esta película.

Como se mencionó anteriormente, una de las causas más importantes de la sensación de boca seca es la llamada hiposialia o hiposecreción salival, la cual se define como un flujo salival por debajo de 0,1-0,2 ml/min en la saliva total de reposo y por debajo de 0,4-0,7 ml/min en la saliva total estimulada (Silvestre-Donat y cols., 2004).

Los individuos xerostómicos pueden presentar hiposialia, una reducción en la secreción salival que no alcanza a afectar la tasa de flujo salival normal o los síntomas de boca seca pueden ocurrir sin una reducción en la producción de la saliva (Guggenheimer y Moore, 2003; Gómez-Moreno y cols., 2012).

2.2 Factores predisponentes de la sensación de boca seca.

Se ha descrito la participación de múltiples factores en la etiopatogénesis de ésta condición: a) Diversas patologías locales o sistémicas afectan la secreción salival produciendo sensación de boca seca. Entre ellas se encuentran: Diabetes mellitus, hipertensión arterial, artritis reumatoídea, depresión, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, cirrosis biliar primaria, deshidratación, entre otras; b) Factores como tabaquismo, respiración bucal, radioterapia local en el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello, también se asocian a xerostomía; c) Una amplia variedad de fármacos xerostomizantes producen como efecto colateral, disminución del flujo salival. Entre estos se describen: antidepresivos, antihistamínicos, diuréticos, expectorantes, antihipertensivos, antieméticos, antiparkinsonianos, anticonvulsionantes,

antiespasmódicos, anorexígenos, broncodilatadores, descongestionantes, relajantes musculares, etc. (Pajukoski y cols., 2001; Orellana y cols., 2006; Pedersen y cols., 2005; Atkinson y cols., 2005; Brosky, 2007; von Bültzingslöwen y cols., 2007; Pijpe y cols., 2007; Porter y cols., 2004; Thelin y cols., 2008; Liu y cols., 2012).

2.3 Consecuencias de la sensación de boca seca.

Como consecuencia de la sensación de boca seca, se produce: dificultad significativa en las funciones de masticación, deglución, fonación y percepción del gusto; mayor susceptibilidad a caries y a enfermedades periodontales; menor tolerancia y retención de prótesis dentales en el caso de pacientes desdentados totales o parciales; malestar bucal generalizado como sensación de boca urente, labios secos, ulceración de las mucosas, menor tolerancia a irritantes como ácidos, condimentos y temperaturas extremas de los alimentos (Dawes, 2004). Más aún, existe evidencia de que la sensación de boca seca en el adulto mayor, además de generar las alteraciones mencionadas se asocia a desnutrición (Dormenval y cols., 1998; Cassolato y Turnbull, 2003; Samnieng y cols., 2012).

La persistencia de la disminución salival a lo largo del tiempo, provoca un estado de irritación permanente de la mucosa bucal (Cassolato y Turnbull, 2003; Guggenheimer y Moore, 2003; Atkinson, 2005; Napeñas y cols., 2009) y además aumenta la predisposición a infecciones bucales oportunistas (Dawes, 2004).

2.4 Sustitutos salivales como paliativos de la sensación de boca seca.

La terapia para la sensación de boca seca permanente y progresiva, se encuentra restringida a medidas paliativas, sobre todo cuando la función de las glándulas salivales se encuentra afectada de un modo significativo, de tal forma que no es posible estimular la secreción salival, por tanto se indica el uso de sustitutos salivales. Éstos alivian la sensación de boca seca y sus síntomas asociados, por medio de la lubricación transitoria de las estructuras bucales. Estos elementos se aplican sobre la mucosa oral ya sea en forma de líquido, gel o spray. (Amerongen y cols., 1995; Shiboski y cols., 2007; Hahnel y cols., 2009).

Los sustitutos salivales comerciales introducidos en el mercado internacional, difieren en su composición, viscosidad y presentación. Entre los componentes lubricantes incorporados en ellos se encuentran: mucina, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, goma xantana, semillas de linaza o polietilenglicol. (Shiboski y cols., 2007; Hahnel y cols., 2009). Recientemente, se ha publicado una revisión sistemática sobre los estudios reportados entre 1950 y octubre de 2011, sobre la efectividad de las terapias tópicas en el alivio de los síntomas de boca seca. En esta revisión se incluyeron 32 ensayos clínicos, en que se testeaban sustitutos salivales aplicados a la mucosa oral en todas sus presentaciones (Furness y cols., 2011). De ellos, 9 ensayos comparaban la efectividad de sustitutos salivales contra placebo, 5 ensayos comparaban sustitutos salivales con estimulantes de la secreción salival y 18 ensayos comparaban la efectividad de 2 sustitutos salivales entre sí. Los autores concluyen que no existe evidencia que avale la efectividad de ninguna de las terapias analizadas en el alivio de los síntomas de xerostomía (Furness y cols., 2011; Chiappelli, 2012). En contraste, un estudio reciente, comprueba el alivio de los síntomas de la xerostomía, con dos sustitutos salivales, en pacientes con xerostomía de distinto origen (Morales-Bozo y cols., 2012).

En Chile contamos en el comercio con Xeros® de Dentaïd, en base a xilitol y betaína, colutorio indicado para el alivio de la sensación de boca seca, que se vende en farmacias en una presentación única de 500 ml. Entre sus componentes destacan:

- Betaína 1,33 % → Humectante.
- Xilitol 3,30 % → Hidratante, antibacteriano y remineralizante.
- Fluoruro Sódico 0,05 % → Antibacteriano y remineralizante.
- Alantoína 0,10 % → Hidratante, ayuda a regenerar el epitelio bucal.

El mecanismo de acción del xilitol no se conoce totalmente pero varios estudios afirman que actúa inhibiendo el crecimiento de microorganismos en saliva y en placa, basándose en el establecimiento de un ciclo estéril de consumo de energía intracelular que rompe la cadena energética del fosfato e inhibe *in vitro* la

producción de polisacáridos en cepas del género *Streptococcus*. Ejemplo de ello es el caso de *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus salivarius*, colonizadores comensales de la boca, que en busca de nutrientes incorporan xilitol, no siendo degradado por ellos. No se han encontrado resultados similares con *Lactobacillus spp.*, (bacterias secundarias en la formación de la biopelícula), ni con las cepas de *Actinomyces spp.*, *Veillonella dispar* y *Fusobacterium nucleatum*, que no se ven inhibidas por xilitol (Milgrom P. y cols, 2009; Mäkinen KK. y cols, 1995; Renko M. y cols, 2008; Martínez EA. Y cols, 2002; Söderling E. y cols, 2011).

2.5 Microbiota comensal de la cavidad oral

Podemos definir la microbiota comensal de un individuo como el conjunto de microorganismos que colonizan permanentemente a la mayoría de los individuos sanos de la población, y que ejercen sobre éstos un efecto beneficioso al encargarse de:

- impedir la colonización por otros microorganismos no adaptados a ese hábitat (fenómenos de competencia interespecie).
- activar el sistema inmune, por ejemplo, estimulando la producción de *Ig A* secretora.
- producir nutrientes esenciales, por ejemplo, algunas especies como *E. coli* o *Bacteroides spp.* sintetizan vitamina B y K, además de enzimas capaces de desconjugar sales biliares y hormonas sexuales (Tanner, A. C. R.; 2002, Aas, J. A., 2005).

Estos microorganismos se organizan en auténticos ecosistemas microbianos que confieren al hospedero grandes beneficios, entre los que se encuentra la protección contra organismos patógenos que intentan colonizar la misma zona, compitiendo con ellos por espacios vitales y nutrientes. Esa protección se basa entre otros, en la secreción de sustancias como *bacteriocinas*, en el caso de las bacterias, mientras que ellas adquieren un soporte donde multiplicarse, una temperatura estable y un aporte de nutrientes. Esta relación biológica entre hospedero y microbiota se denomina **simbiosis**. Cuando los ecosistemas se

alteran tiene lugar un fenómeno de **disbiosis**, haciendo al hospedero en este caso susceptible de sufrir infecciones por patógenos oportunistas (Crielaard, Wim. 2011; Avila, M., 2009).

Entonces, la función de la microbiota comensal oral es impedir el establecimiento de patógenos orales oportunistas, colaborando con los mecanismos de defensa del hospedero para controlar el crecimiento y reproducción de los microecosistemas que moran en la cavidad bucal. Cuidar la composición de estos microsistemas bióticos permite prevenir enfermedades locales y disminuir las consecuencias asociadas a problemas que tengan relación con su permanencia en la boca (Crielaard, Wim. 2011; Avila, M., 2009).

En la cavidad oral, los primeros microorganismos que colonizan son los llamados “colonizadores primarios”, y en su conjunto constituyen la comunidad microbiana pionera, consistente en especies aerobias y anaerobias facultativas. Los principales organismos son *Streptococcus*, y en particular *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis*. Estos microorganismos son los pioneros en la formación de la placa dental. Posteriormente van apareciendo otras bacterias como: *S. gordonii*, *S. sanguinis*, *Neisseria spp.* y otros. A los siete días de la colonización los *Streptococcus* son la especie predominante en la placa, y a las dos semanas comienzan a abundar los bacilos Gram negativos. A medida que la placa aumenta de grosor, las zonas más profundas de la misma evidencian un déficit de oxígeno, por lo que las bacterias aerobias van desapareciendo de esta zona y se añaden otras con un potencial de óxido reducción más bajo. De modo que los anaerobios estrictos o menos aerotolerante se sitúan en la zona más profunda de la placa, los aerobios en las más superficiales y los estreptococos en cualquier lugar de la misma.

Estas especies continúan creciendo y colonizan hasta que se encuentran con resistencia ambiental física y química. Las restricciones nutricionales y condiciones desfavorables de pH y las propiedades antibacterianas de la saliva,

son barreras químicas que pueden limitar el crecimiento (Marsh PD y Martin MV, 2009).

Algunos productos utilizados para aliviar la sensación de boca seca en su formulación incluyen sustancias con efectos antimicrobianos, con el fin de prevenir caries y enfermedad periodontal, Sin embargo, al ser utilizados varias veces al día y en forma sostenida y prolongada pueden causar importantes desequilibrios en la microbiota comensal de la cavidad oral, promoviendo el inicio de otras enfermedades orales como infecciones oportunistas (Torres Zamanillo C., 2009).

2.6 Plantas Medicinales como alternativa para aliviar trastornos de la mucosa oral

La OMS define planta medicinal como todo vegetal que posee sustancias que pueden ser utilizadas con finalidades terapéuticas o que sean precursores de fármacos semisintéticos (Bulletin of the World Health Organization, Ginebra 1998). El uso de plantas medicinales con fines terapéuticos es una práctica antigua, basada en el conocimiento del sentido común en un contexto histórico, representando así parte de la cultura de un pueblo y un conocimiento que es difundido de generación en generación, convirtiéndose de esta forma en una práctica muy utilizada en la salud humana.

El interés en el descubrimiento de extractos vegetales con diferentes actividades biológicas ha crecido enormemente en los últimos años. En este contexto, las plantas que muestran actividad antioxidante son de gran interés, ya que la presencia de radicales libres se asocia con varios factores tales como la mutación del ADN, la oxidación de proteínas y la peroxidación de lípidos, que contribuyen al desarrollo de cáncer, diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios y envejecimiento (Finkel T., 2000). Del mismo modo, las plantas con actividad antimicrobiana son también importantes debido al hecho de que muchos microorganismos han demostrado ser resistentes, no sólo a los antibióticos ya pre-establecidos, sino que también a antibióticos de última generación, causando graves problemas de salud pública (Prates M., 2001).

En nuestro medio, algunas plantas medicinales en el área de la salud dental están siendo utilizadas en diversas formulaciones farmacéuticas, así tenemos: enjuagues bucales, colutorios, pastas dentales, soluciones tópicas, entre otros. Los beneficios que ofrecen a la población son mejores tanto en el aspecto terapéutico como económico, ya que generan menos efectos adversos y son más fáciles de producir (Cotos, M. R. C., 2006).

2.7 Propiedades de la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y evidencia en el alivio de trastornos de la mucosa oral.

Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), planta herbácea de la familia Asteraceae, es una de las plantas medicinales más utilizadas en el mundo. Contiene aceite esencial y flavonoides con efectos sedantes, antiespasmódicos, antiinflamatorios, antimicrobianos y antifúngicos (Jamalian y cols., 2012; Singh Ompal y cols., 2011). Aproximadamente 120 metabolitos secundarios se han identificado en manzanilla, incluyendo 28 terpenoides y 36 flavonoides. Los principales componentes del aceite esencial extraído de las flores de manzanilla son los terpenoides alfa-bisabolol y sus óxidos (bisabolóxidos A, B, C y bisabonolóxidos), azulenos (como camazuleno), cumarinas (dioxicumarina, herniarina, umbeliferona), espiroéteres y polisacáridos, además de los flavonoides apigenina, quercetina y luteolina, entre otros, que constituyen el grupo hidrofílico de la planta (McKay y Blumberg, 2006; Orav y cols., 2010; Srivastava y cols., 2010). Estos compuestos son solubles en agua caliente y las cantidades obtenidas en infusiones son significativas (Barene y cols., 2003).

Varios estudios avalan los diversos efectos de la manzanilla. Un estudio clínico realizado en pacientes hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos con ventilación mecánica, sostiene que enjuagues en base a extracto de manzanilla presentan efectos antibacterianos significativos en el recuento de *S. pneumoniae* y *S. aureus* (Darvishi y cols., 2013).

Saderi y cols. (2005) sugiere el uso de enjuagues naturales en base a manzanilla para el control de *Porphyromonas gingivalis* en individuos con periodontitis.

En relación al efecto antifúngico de la manzanilla, se ha descrito que su aceite esencial es capaz de inhibir el crecimiento de 10 tipos de hongos de importancia clínica. En este mismo estudio se describe que el camazuleno sería el principal componente de este aceite (61,3 %) y se sugiere que la propiedad antifúngica contra los dermatófitos y saprófitos observada puede atribuirse a este componente.

Por otro lado, Pauli y Schilcher (2004) evaluaron los efectos terapéuticos del aceite esencial de la manzanilla y de su componente α -bisabolol para el tratamiento oral de dermatofitosis en modelos de rata y ratón. El efecto de α -bisabolol fue comparable con antifúngicos conocidos como nistatina, griseofulvina, fluconazol, itraconazol y ketoconazol.

Abdoul-Latif (2011) en un estudio *in vitro*, afirma que el aceite esencial de manzanilla y su extracto de metanol tuvieron un efecto antifúngico para *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Otro estudio *in vitro* sugiere un efecto antifúngico sobre especies de *Cándida*. obtenidas de individuos con otitis aguda externa (Nogueira, 2008). Adicionalmente, debido a sus propiedades, el extracto de manzanilla ha sido evaluado en la protección o reparación de lesiones de mucosa.

Un estudio experimental realizado en ratones, reporta un efecto protector de α -bisabolol administrado por vía oral, en la aparición de úlceras en la mucosa gástrica inducidas por fármacos o etanol (Rocha y cols., 2010). El mismo resultado se obtuvo al utilizar el extracto acuoso de manzanilla (Al-Hashem, 2010).

Otro estudio evaluó el efecto del extracto de manzanilla en la reparación de úlceras inducidas quirúrgicamente en la lengua de animales de experimentación. En este estudio se observó una estimulación de la re-epitelización y del contenido de fibras colágenas producidas en la herida a los 10 días de tratamiento (Duarte y cols., 2011). También se ha estudiado el efecto de los derivados de las flores de manzanilla en lesiones de la mucosa oral en humanos.

Un estudio determinó el efecto del uso de un enjuagatorio bucal que contenía extracto de manzanilla, aplicado a 32 pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a radiación o quimioterapia y que presentaban irritación de la mucosa oral. En estos pacientes se produjo alivio del malestar bucal y los signos clínicos de mucositis desaparecieron en la primera semana de aplicación del enjuague. (Carl y Emrich 1991). También se reporta un caso en que se utiliza un enjuague con infusión de manzanilla, para el alivio de la mucositis inducida por terapia con metotrexato en un paciente con artritis reumatoídea (Mazokopakis y cols., 2005).

Un estudio clínico evalúa el efecto del extracto de manzanilla en el alivio del dolor en pacientes con úlceras recurrentes orales, en donde se observó un efecto analgésico significativo en los individuos del estudio (Ramos-e-Silva y cols., 2006). En pacientes xerostómicos es frecuente la aparición de lesiones traumáticas e irritativas de la mucosa oral ya que la baja presencia de saliva debilita el epitelio y su ulceración es más frecuente, debido a que la mucosa seca es más vulnerable a trauma. Es por lo anterior que, los individuos con sensación de boca seca, podrían verse beneficiados por estas propiedades reparativas de la manzanilla (Pinna y cols., 2015).

2.8 Evidencia del uso de semillas de linaza (*Linum usitatissimum*) en el alivio de trastornos de mucosa y de sensación de boca seca.

Las semillas del lino (*Linum usitatissimum*), planta herbácea de la familia *linaceae*, son ricas en proteínas, aceites insaturados, fibras insolubles y fibras solubles o mucílagos (Singh KK y cols., 2011). Cuando las semillas de linaza se humedecen, las células de la cubierta de la semilla liberan grandes cantidades de mucílago que forman una cápsula gelatinosa que las rodea (Naran y cols., 2008). Este mucílago soluble en agua, contiene una mezcla de polímeros de alto peso molecular galacto-arabino-xilano y rhamno-galacturonano (Warrand y cols., 2005a; Naran y cols., 2008). Estos polímeros se unen a través de interacciones intermoleculares, lo que les otorga propiedades viscoelásticas (Warrand y cols., 2005b) similares a las que presentan las mucinas salivales encargadas de

mantener hidratada a la mucosa oral (Van der Reiden y cols., 1994; Park y cols., 2007).

En un estudio experimental realizado en ratas, se evaluó el efecto del mucílago de semillas de linaza, en la prevención de la generación de lesiones en la mucosa gástrica inducidas por etanol. Los resultados indicaron que el mucílago redujo en forma significativa, el número y tamaño de las úlceras gástricas inducidas por el irritante (Dugani y cols., 2008).

Otro estudio realizado también en ratas, evaluó el uso del mucílago de semillas de linaza como un agente mucoadhesivo, con la intención de crear microesferas que optimicen la absorción de fármacos por la mucosa oral. El análisis *in vitro*, indicó que las microesferas que contenían mayor porcentaje de mucílago en su composición, presentaban también mayor adhesividad a las mucosas (Nerkar y cols., 2011).

En relación a su uso en humanos, en un estudio piloto realizado en el año 1994, un sustituto salival comercial en base a extractos de semilla de linaza, fue evaluado en el alivio de la sensación de boca seca en 37 individuos. Los resultados indicaron que los individuos con sintomatología más severa, presentaban mayor alivio al usar el sustituto salival (Johansson y cols., 1994).

Este mismo producto fue evaluado en el alivio de la sensación de boca seca de 20 individuos con xerostomía consecutiva a radiación terapéutica por cáncer de cabeza y cuello, contrastado con un sustituto salival en base a carboximetilcelulosa. El sustituto salival en base a semillas de linaza, produjo mayor alivio a la sintomatología de boca seca (Andersson y cols., 1995).

En un estudio posterior, un enjuagatorio bucal conteniendo mucílago de semilla de linaza con o sin adición de clorhexidina, fue evaluado en el tratamiento paliativo de la sensación de boca seca en pacientes con síndrome de Sjögren. Los resultados indicaron que ambos enjuagatorios, disminuyeron significativamente los síntomas de sequedad bucal, la sensación de boca urente y los problemas al hablar

(Johansson y cols., 2001). Aunque los resultados de estos estudios no fueron avalados como significativos en la revisión sistemática reciente de Furness y cols. (2011), constituyen evidencia de su uso en la cavidad oral de seres humanos con disfunción salival.

2.9 Sustituto salival en base a manzanilla y linaza

El individuo con xerostomía, debe lubricar su mucosa oral al menos 4 veces al día, durante todos los días de su vida, razón por la cual requiere de la adquisición de los sustitutos salivales a permanencia. Esta situación conlleva una carga económica adicional a la ya existente. Además los sustitutos salivales comerciales, utilizados en los estudios descritos en la literatura, contienen agentes antimicrobianos que alteran el fino equilibrio del ecosistema oral y no se encuentran en el mercado farmacéutico nacional a excepción de uno de ellos, que requiere prescripción médica para su formulación en una cadena farmacéutica del país.

En el área de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se ha desarrollado un sustituto salival formulado en base a manzanilla y linaza. Este sustituto se caracteriza por ser un producto de elaboración casera, económica, no tóxico, reconocido como alimento, por tanto puede ser ingerido. Cuenta con evidencia clínica de ser un buen reductor de la sensación de boca seca. Adicionalmente, se dispone de algunos antecedentes en relación a su acción como agente antimicrobiano de algunos microorganismos patógenos como levaduras del género *Candida* y *Streptococcus mutans*. (Cavagnola. S., 2015); (Morales-Bozo I. y cols., 2012). Pero no existe evidencia acerca de cuál podría ser su efecto sobre microorganismos comensales de la cavidad oral considerando que su forma de administración recomienda su uso diario, en forma frecuente y sostenida en el tiempo.

Con el fin de contribuir con la población que presenta disfunción salival, se han realizado esfuerzos por formular este sustituto con características favorables para el paciente y eficacia demostrada. Sin embargo, aún falta evidencia que permita

demostrar que no presenta efectos adversos sobre bacterias colonizadoras primarias. De acuerdo a estos antecedentes, en este estudio se evaluó la actividad del colutorio en base a manzanilla y linaza sobre distintos microorganismos colonizadores de la cavidad oral.

3. HIPÓTESIS.

El colutorio en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*) permite la viabilidad *in vitro* de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral.

4. OBJETIVO GENERAL

Estudiar *in vitro* la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente a un colutorio en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*).

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar el crecimiento de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente al colutorio en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*). mediante ensayos de difusión.
2. Evaluar la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente al colutorio en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*), a través de ensayos de dilución.
3. Evaluar la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente al colutorio en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y linaza (*Linum usitatissimum*) en relación al tiempo, mediante ensayos de contacto (Killing test).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio: En el presente estudio, de tipo experimental *in vitro*, se realizaron tres ensayos con el fin de estudiar la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral frente al contacto con un colutorio en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y Linaza (*Linum usitatissimum*). Se utilizó como producto de comparación un colutorio comercial formulado para aliviar la xerostomía (Xeros, Dentaïd[®]) y como control positivo y negativo de viabilidad Clorhexidina 0,12% (Perio-Aid[®]) y suero fisiológico (0,9%), respectivamente.

6.2 Cepas: Para este estudio se utilizaron las siguientes cepas:

Especie Bacteriana	Cepa de referencia
<i>Streptococcus oralis</i>	ATCC 35037
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC 13419
<i>Streptococcus mitis</i>	Cepa clínica donada por Dra. Patricia Palma
<i>Streptococcus sanguinis</i>	ATCC 10556
<i>Streptococcus gordonii</i>	ATCC 10558

6.3 Obtención de las cepas en medio sólido:

Para el cultivo en medio sólido se utilizó agar (TYCS) se preparó según lo reportado por Wan, A. K. L. y cols, (2002). Se esterilizó en autoclave dejando enfriar hasta 45-50°C bajo campana de flujo laminar, se dispensó aproximadamente 20 ml de medio por placa.

En una placa de Agar TYCS se sembró una asada criopreservada de cada cepa ATCC (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus gordonii*) más la cepa clínica (*Streptococcus mitis*) y se incubó a 37°C durante 24 h. para *S. salivarius* y por 48 h en capnofilia para *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii*

6.4 Identificación de colonias

La identificación de colonias de *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii* se realizó mediante análisis de la morfología colonial (macroscópico) y celular (microscópico) realizando la observación bajo microscopio óptico y lupa estereoscópica Zeiss®.

6.5 Obtención de las cepas en medio líquido

Una vez crecidas las cepas en agar, se traspasó entre 3 y 5 colonias a medio Todd Hewitt (Hart, A. y cols, 1997) y los cultivos líquidos fueron traspasados nuevamente a medio sólido TYCS como testimonio o control de viabilidad y pureza de los inóculos. Las cepas en medio líquido para los ensayos se ajustaron a Mc Farland 5.

6.6 Aislamiento y resiembra

Los aislados de las cepas utilizadas se mantuvieron mediante resiembras cada 2 días para *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii* y posterior al cultivo, en las mismas condiciones ya descritas, mientras duraron los ensayos. Esto, con el fin de mantener las condiciones de experimentación de todos los aislados en forma simultánea.

6.7 Obtención y preparación de los colutorios

1. **Sustituto salival:** El sustituto salival casero en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de linaza (*Linum usitatissimum*) definido como sustituto experimental, correspondió a una infusión de semilla de linaza y manzanilla para un litro de agua. Para su preparación, a las flores secas de manzanilla, se le agregó agua en ebullición, se agitó y se separó la infusión. El mucílago de linaza y la infusión de manzanilla obtenida previamente, fueron mezclados en partes iguales, dando origen al sustituto salival casero, el que fue almacenado en un envase estéril, hermético y rotulado a, 4°C. El sustituto salival se utilizó hasta 4 días después de su elaboración para los ensayos, ya que su duración como componente activo es de 7 días. Luego de los 4 días de uso y para continuar con los ensayos, se trabajó con sustituto salival nuevo

y de elaboración reciente (Elaborado en el laboratorio de bioquímica, FOUCH).

2. **Xeros®:** El colutorio comercial Xeros® de Dentaïd, fue adquirido en una farmacia, y almacenado en un envase estéril, hermético y rotulado, a 4°C. Este colutorio, de uso diario e indicado para el alivio de la sensación de boca seca contiene entre sus componentes:
 - Xilitol
 - Fluoruro sódico (225 ppm)
3. **Suero fisiológico:** Se trabajó con ampollas de suero fisiológico estéril Braun® al 0,9%, las cuales fueron rotuladas y almacenadas, a 4°C.
4. **Clorhexidina:** Los ensayos se realizaron con Digluconato de Clorhexidina 0,12%+ Cloruro de cetilpiridinio 0,05% (Perio-aid®) antiséptico bucal indicado para el tratamiento y mantenimiento de las enfermedades periodontales y periimplantarias. Ambos antisépticos, Clorhexidina y Cloruro de cetilpiridinio, actúan sinérgicamente (Herrera D. y cols., 2003) manteniendo el control del crecimiento de la biopelícula oral, también conocido como placa bacteriana. Este colutorio fue almacenado en un envase estéril, hermético y rotulado, a 4°C.

6.8 Ensayo de Difusión en Agar

Se prepararon placas de Agar TYCS, las que se cubrieron con 4 ml de agar blando (8%) al que se le agregó 200 µL de cada suspensión bacteriana de *S. mitis*, *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii* por separado en cada placa, luego se depositó una alícuota de 20 µL y 10 µL de clorhexidina, manzanilla-linaza, Xeros® y suero fisiológico en cada placa. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h para *S. salivarius* y en jarra con vela por 48 h para *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii*. Posterior a esto se midieron las zonas de inhibición con una regla milimetrada, las que se registraron en una tabla para su análisis estadístico.

6.9 Ensayo de Dilución en Placa

Se preparó medio TYCS al que se le adicionó colutorio de manzanilla-linaza; Xeros®, colutorio de clorhexidina (0,12%) y suero fisiológico (0,9%) previo a la preparación de las placas en proporción 9:1. De cada cepa bacteriana se sembró en placas independientes 100 µL, 50 µL y 25 µL distribuyendo uniformemente con el asa de Drigalsky. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h para el cultivo de *S. salivarius* y se llevaron a jarra con vela por 48 h para el cultivo de *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii*. Luego de este tiempo se realizó el recuento de UFC (unidades formadoras de colonias) obtenido en cada ensayo.

6.10 Killing Test

Las cepas de *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii* se sembraron en Agar TYCS, después del tiempo de incubación, fueron traspasadas a caldo Todd Hewitt para la obtención de una suspensión bacteriana ajustada a una turbidez de 5 Mc Farland. Para cada ensayo se inoculó 100 µL de cada suspensión en 2 ml, 4 ml y 10 ml del colutorio Manzanilla-Linaza, Xeros®, clorhexidina y suero fisiológico, respectivamente. Luego se sembró inmediatamente 10 uL de cada preparación en placas de TSB, según lo reportado por Hassan, A. N. y cols en 2004, para cultivar. Se volvieron a realizar siembras de las soluciones de colutorio más cepa bacteriana después de 30, 60 y 120 minutos a t° ambiente. Esto con el fin de comparar diferencias entre los recuentos bacterianos de las distintas soluciones en relación al tiempo. Posteriormente, las soluciones se incubaron a 37°C durante 24 h para *S. salivarius* y se llevó a jarra con vela por 48 h para *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguinis* y *S. gordonii*. Pasado el tiempo de incubación se realizó el recuento de colonias obtenidas en cada ensayo, bajo lupa estereoscópica (Zeiss®).

Se realizó un recuento cuantitativo considerando entre 30 y 300 UFC (unidades formadoras de colonias) por ¼ de placa. Se valoró congruencia entre los duplicados y finalmente se realizó el análisis estadístico para la sobrevivencia de las cepas al contacto con los colutorios en el tiempo.

Los datos obtenidos en los ensayos de dilución y *Killing test* fueron procesados y analizados mediante el programa IBM SPSS versión 22.

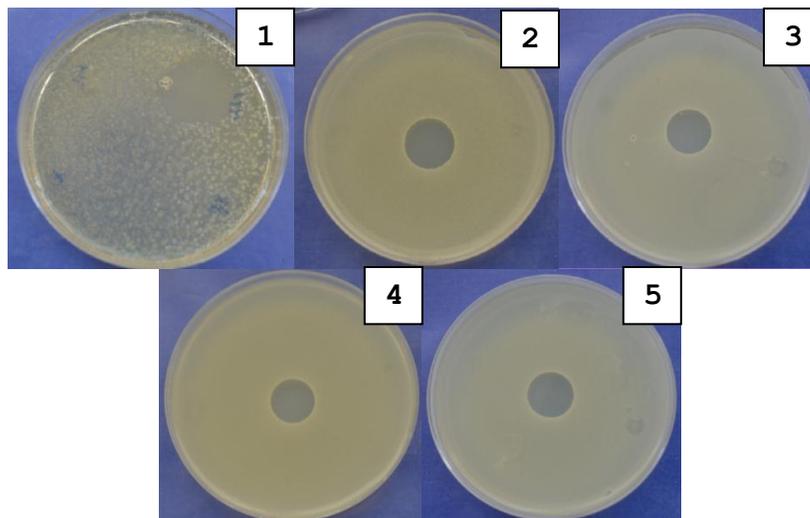
7. RESULTADOS

7.1 Ensayo de Difusión en Agar

Luego de la siembra y cultivo se observó el crecimiento bacteriano de las especies estudiadas, distribuido de forma uniforme en las placas de agar TYCS.

En relación a las zonas de inhibición, figuras A, B, C, D y E. producidas por los colutorios estudiados (sustituto salival manzanilla-linaza, Xeros®, suero fisiológico, clorhexidina) sólo se registraron zonas de inhibición de crecimiento bacteriano para clorhexidina 0,12%, en todos los ensayos de difusión y en sus duplicados, siendo estos de medidas similares para *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis*, y de menor magnitud para *S. salivarius*, como podemos observar en la tabla n°1.

Los otros colutorios estudiados, a saber, sustituto salival manzanilla-linaza, Xeros® y suero fisiológico no generaron zonas de inhibición de crecimiento bacteriano para las especies estudiadas empleando las concentraciones dadas.



Figuras 1, 2, 3, 4 y 5. Zonas de inhibición en cultivo de *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis* con spot de clorhexidina 0,12%

Tabla N°1. Efecto del sustituto salival sobre el crecimiento bacteriano en medio sólido

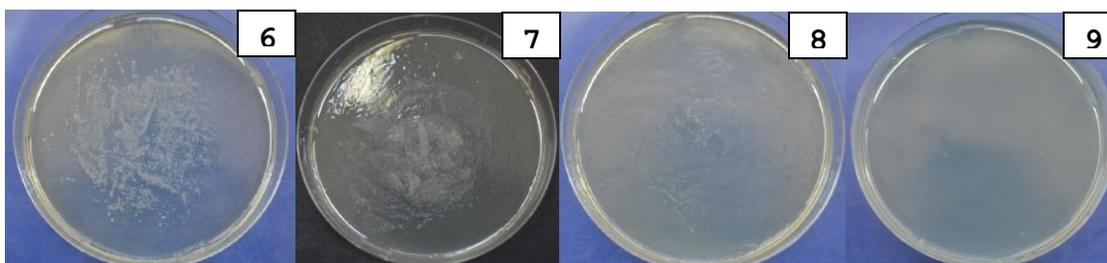
Ensayo de Difusión								
	Suero fisiológico		Sustituto salival		Xeros®		Clorhexidina 0,12%	
	20µl	10µl	20µl	10µl	20µl	10µl	20µl	10µl
<i>S. salivarius</i>	0	0	0	0	0	0	32 mm	20 mm
<i>S. sanguinis</i>	0	0	0	0	0	0	36 mm	17 mm
<i>S. gordonii</i>	0	0	0	0	0	0	33 mm	18 mm
<i>S. oralis</i>	0	0	0	0	0	0	35 mm	18 mm
<i>S. mitis</i>	0	0	0	0	0	0	35 mm	20 mm

Diámetros de las zonas de inhibición promedio (mm) de los sustitutos salivales, control positivo y negativo, con respecto al crecimiento de cada grupo bacteriano estudiado.

7.2 Ensayo de Dilución en Placa

Luego de la siembra y cultivo, se observó el crecimiento bacteriano de las 5 especies estudiadas (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S.gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis*), distribuido de forma uniforme en las placas de agar TYCS.

Como se observa en la tabla n°2, hubo mayor desarrollo bacteriano en las placas de *S. salivarius* en comparación a *S. sanguinis*, *S.gordonii* y *S. oralis* y un desarrollo bacteriano levemente disminuido en las placas de *S. mitis* en comparación a *S. sanguinis*, *S.gordonii* y *S. oralis*. En las figuras F, G, H e I podemos ver el crecimiento bacteriano de *S. salivarius* en relación a suero fisiológico, colutorio de manzanilla linaza, Xeros® y clorhexidina 0,12%, respectivamente.



Figuras 6, 7, 8 y 9. Desarrollo de colonias bacterianas de *S. salivarius* con suero fisiológico, sustituto de manzanilla y linaza, Xeros® y clorhexidina 0,12% en ensayo de dilución.

En la tabla n°2 se muestra el número de colonias contabilizadas por placa en el caso de cada cepa bacteriana, en relación a los distintos volúmenes sembrados.

Tabla n°2 Ensayo de Dilución (N° de colonias)						
Suspensión bacteriana (Mc Farland 5)	Suero fisiológico		Sustituto salival		Xeros®	
	50µL	25µL	50µL	25µL	50µL	25µL
<i>S. salivarius</i>	3,2x10 ⁸	2, x10 ⁷	3,0x10 ⁷	1,9x10 ⁷	2,3x10 ⁷	1,0 x10 ⁷
<i>S. sanguinis</i>	2,9x10 ⁷	1,8x10 ⁷	2,8x10 ⁷	1,7x10 ⁷	7,3x10 ⁶	4,1 x10 ⁶
<i>S. gordonii</i>	3,0 x10 ⁷	1,9x10 ⁷	3,2x10 ⁷	1,6x10 ⁷	1,0x10 ⁷	7,3 x10 ⁶
<i>S. oralis</i>	2,7x10 ⁷	1,7x10 ⁷	2,5x10 ⁷	1,4x10 ⁷	2,0x10 ⁷	1,3 x10 ⁷
<i>S. mitis</i>	2,4x10 ⁷	1,0x10 ⁷	2,2x10 ⁷	9,1x10 ⁶	9,4x10 ⁶	3,9 x10 ⁶

P < 0,05

Para el análisis de los datos obtenidos en este ensayo, no se consideraron los resultados obtenidos con un volumen bacteriano de 100µL, ya que para este volumen, el recuento de colonias en todos los casos fue mayor a 300 UFC (unidades formadoras de colonias) por cuadrante de placa , así como también en sus duplicados. De igual manera, no se consideró para el análisis, los resultados obtenidos con colutorio de clorhexidina 0,12%, ya que para todos los casos el recuento de colonias fue nulo.

Análisis de normalidad

A través de pruebas de normalidad para los diversos tipos de colutorios a un volumen bacteriano de 50 µL y 25 µL, se obtiene que, según el test de *Shapiro Wilk* (n<50) los datos no se aproximan a una distribución normal, dado que la significación es menor a 0,05.

Con los antecedentes anteriores, se realizó la prueba de *Kruskal Wallis* para afirmar o refutar la hipótesis de igualdad de rango promedio. Ante el caso que la significancia sea menor a 0,05 se realizaron tres comparaciones de rango promedio a través del test *U de Mann Whitney* para dos muestras independientes con la corrección de *Bonferroni* con el objeto de distinguir si persisten diferencias estadísticamente significativas, ya sea para 25µL como para 50µL (volumen bacteriano).

Tabla 3. Test de Kruskal Wallis

Estadísticos de prueba ^{a,b}		
	microlitro_25	microlitro_50
Chi-cuadrado	15,825	18,406
Gl	2	2
Sig. Asintótica	<0,001	<0,001

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tipo_suero

En este sentido, tanto para 25 μ L como para 50 μ L existe una significancia menor a 0,05, ante lo cual se puede refutar la hipótesis de igualdad de rango promedio entre cada uno de los colutorios a un 95% de confianza.

Figura 10. Rango promedio de UFC ajustado a Mann Whitney entre los 3 tipos de colutorios a 50 μ L

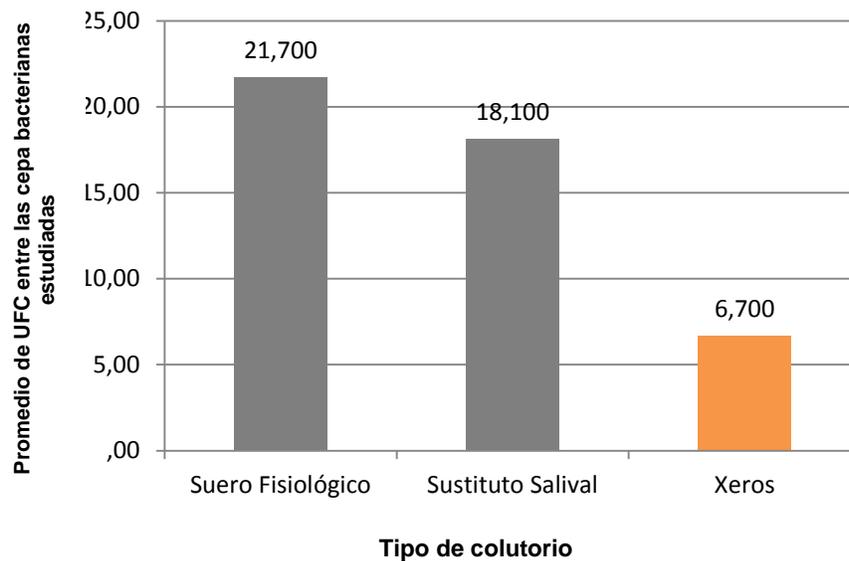
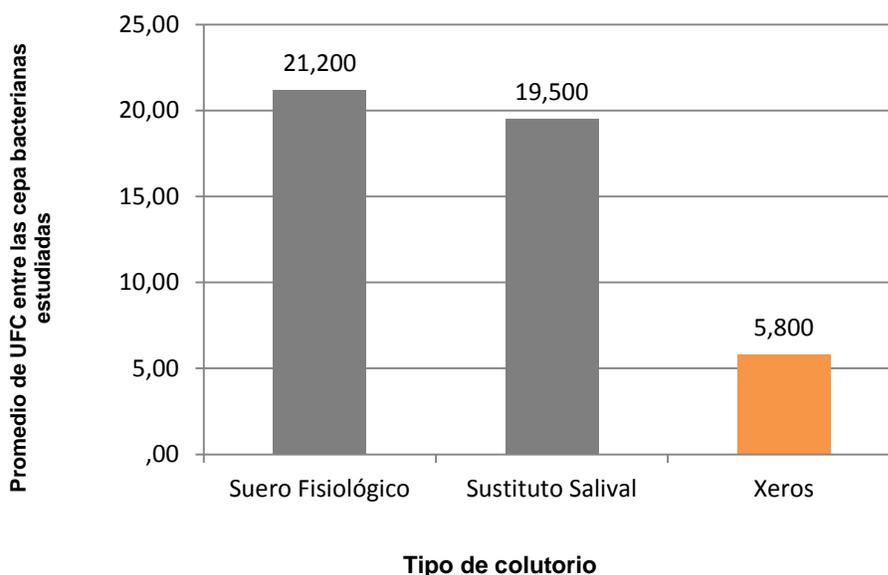


Figura 11. Rango promedio de UFC ajustado a *Mann Withney* entre los 3 tipos de colutorios a 25 μ L



En resumen, se obtiene que el rango promedio de recuento de colonias bacterianas a un volumen de 50 μ L y 25 μ L, cuando éstas se cultivan en medio con Xeros®, es menor y esta diferencia es estadísticamente significativa al rango promedio de recuento de colonias bacterianas, cuando éstas se cultivaron en suero fisiológico y en el sustituto salival de manzanilla y linaza en donde encontramos un recuento de colonias bacterianas similar para ambos volúmenes de colutorios, esto a un 95% de confianza.

7.3 Killing Test/ Test de contacto

En el test de contacto, se evidenció crecimiento bacteriano para todas las especies estudiadas en relación al contacto con los colutorios (Figuras n°12, n°13 y n°14), excepto para clorhexidina 0,12%, donde no hubo crecimiento de ninguna de las especies bacterianas estudiadas y tampoco en sus duplicados.

El recuento bacteriano fue menor en este experimento para todas las especies bacterianas, como podemos ver en las tablas n°4, n°5, n°6, n°7 y n°8 para *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis* respectivamente, en comparación al ensayo de dilución, debido a que la siembra de las especies bacterianas en contacto con los colutorios fue por spot de 10 μ L.

Tabla n°4. Killing Test. UFC de <i>S. salivarius</i> según el volumen de colutorio y tiempo de contacto												
	Suero Fisiológico			Sustituto Salival			Xeros®			Clorhexidina 0,12%		
	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml
0 min	31	26	30	22	25	28	18	13	8	0	0	0
30 min	34	28	26	31	24	28	19	15	9	0	0	0
60 min	30	30	27	26	27	31	17	13	7	0	0	0
120 min	33	27	24	28	26	26	21	11	8	0	0	0
D. Est.	1,825742	1,707825	2,5	3,774917	1,290994	2,061553	1,707825	1,632993	0,816497	0	0	0

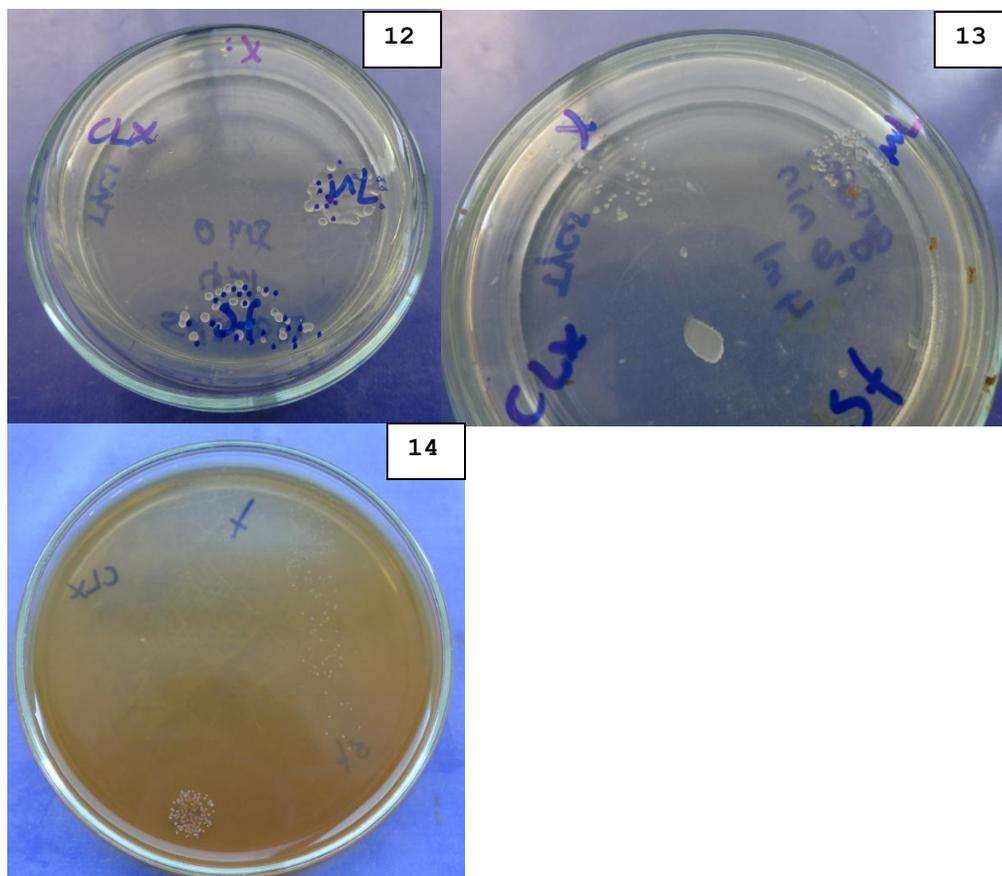
Tabla n°5. Killing Test. UFC de <i>S. sanguinis</i> según el volumen de colutorio y tiempo de contacto												
	Suero Fisiológico			Sustituto Salival			Xeros®			Clorhexidina 0,12%		
	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml
0 min	36	26	19	25	24	21	20	14	6	0	0	0
30 min	32	25	22	27	25	17	21	11	9	0	0	0
60 min	35	28	20	24	23	17	18	12	6	0	0	0
120 min	38	27	21	25	25	15	16	9	5	0	0	0
D. Est.	2,5	1,290994	1,290994	1,258306	0,957427	2,516611	2,217356	2,081666	0	0	0	0

Tabla n°6. Killing Test. UFC de <i>S. gordonii</i> según el volumen de colutorio y tiempo de contacto												
	Suero Fisiológico			Sustituto Salival			Xeros®			Clorhexidina 0,12%		
	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml
0 min	56	51	27	36	28	21	21	25	10	0	0	0
30 min	62	47	38	47	33	27	17	16	9	0	0	0
60 min	60	52	30	42	19	32	12	20	15	0	0	0
120 min	54	56	29	25	38	26	16	12	11	0	0	0
D. Est.	3,651484	3,696846	4,830459	9,469248	8,103497	4,50925	3,696846	5,560276	2,629956	0	0	0

Tabla n°7. Killing Test. UFC de <i>S. oralis</i> según el volumen de colutorio y tiempo de contacto												
	Suero Fisiológico			Sustituto Salival			Xeros®			Clorhexidina 0,12%		
	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml
0 min	89	48	26	77	51	26	32	21	17	0	0	0
30 min	96	59	19	83	43	17	26	16	12	0	0	0
60 min	71	46	21	88	47	22	29	11	9	0	0	0
120 min	83	52	28	72	38	26	23	18	13	0	0	0
D. Est.	10,59481	5,737305	4,203173	6,97615	5,560276	4,272002	3,872983	4,203173	3,304038	0	0	0

Tabla n°8. Killing Test. UFC de <i>S. mitis</i> según el volumen de colutorio y tiempo de contacto												
	Suero Fisiológico			Sustituto Salival			Xeros®			Clorhexidina 0,12%		
	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml	2 ml	4 ml	10 ml
0 min	21	16	8	29	13	7	12	7	0	0	0	0
30 min	16	13	11	12	16	10	10	4	0	0	0	0
60 min	23	11	9	26	22	11	9	12	0	0	0	0
120 min	28	22	16	31	14	14	13	9	0	0	0	0
D. Est.	4,966555	4,795832	3,559026	8,582929	4,031129	2,886751	1,825742	3,366502	0	0	0	0

- Se observa un recuento bacteriano similar en el caso del contacto de las especies bacterianas estudiadas (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S.gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis*) con el sustituto salival de manzanilla y linaza en comparación con el control negativo (suero fisiológico) (Tablas n°4, n°5, n°6, n°7 y n°8), para todos los volúmenes estudiados, se observa un resultado similar (2 ml, 4 ml y 10 ml).
- Se observa un recuento bacteriano menor en el caso del contacto de las especies bacterianas estudiadas (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis*) con Xeros®, en comparación con el control negativo (suero fisiológico) (Tablas n°4, n°5, n°6, n°7 y n°8), lo que se evidenció para todos los volúmenes ensayados (2 ml, 4 ml y 10 ml)



Figuras n°12, n°13 y n°14. Desarrollo de colonias bacterianas de *S.salivarius*, *S. sanguinis* y *S. gordonii* en ensayo de contacto.

Al existir 2 variables independientes en el desarrollo del test de contacto, tiempo y volumen, se realizaron regresiones lineales múltiples (Anexo) para cada una de las especies bacterianas utilizadas, con el fin de determinar diferencias significativas entre el recuento de colonias de *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis* y los colutorios evaluados. Estos resultados fueron expresados a continuación en las figuras n°15, n°16, n°17, n°18 y n°19 para *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis* respectivamente.

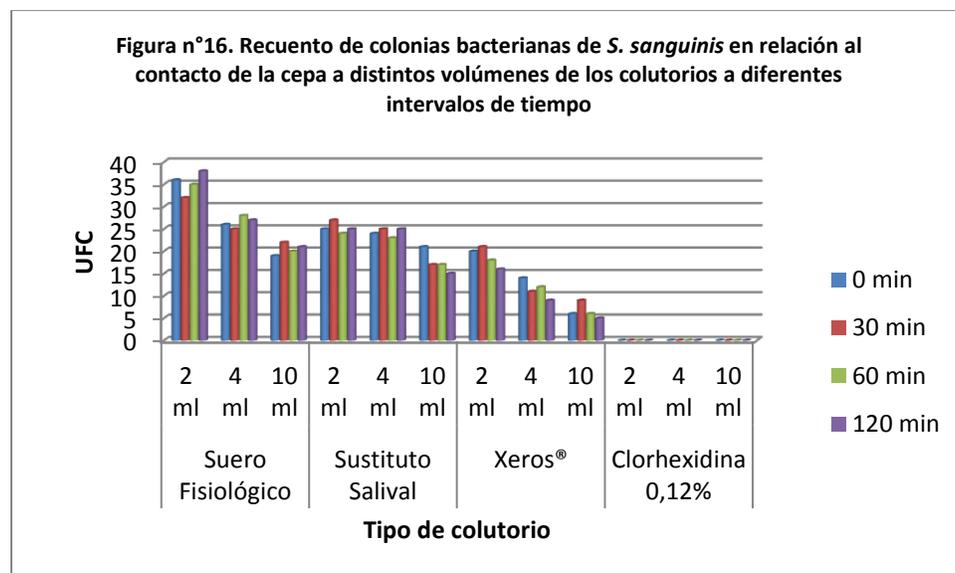
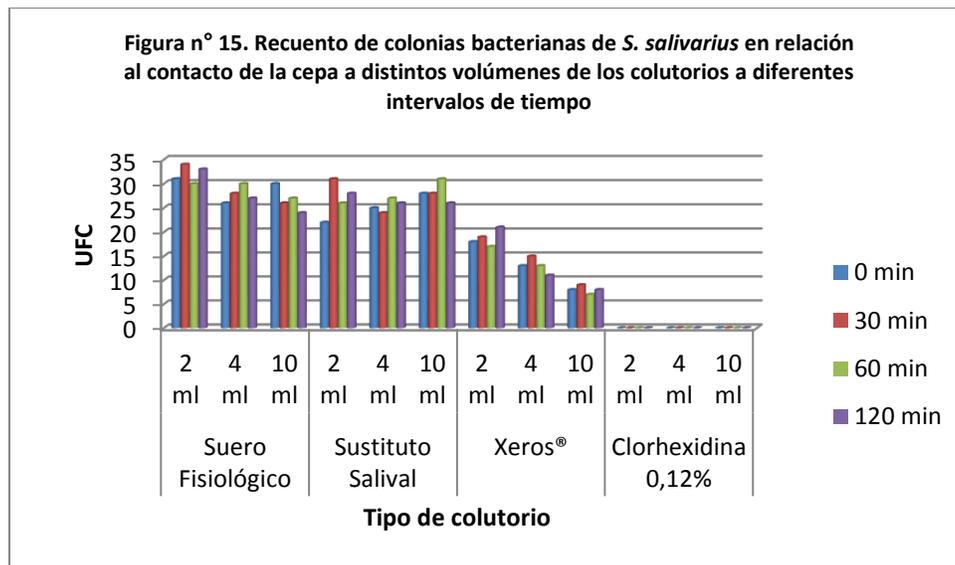


Figura n°17. Recuento de colonias bacterianas de *S. gordonii* en relación al contacto de las cepas a distintos volúmenes de los colutorios a diferentes intervalos de tiempo

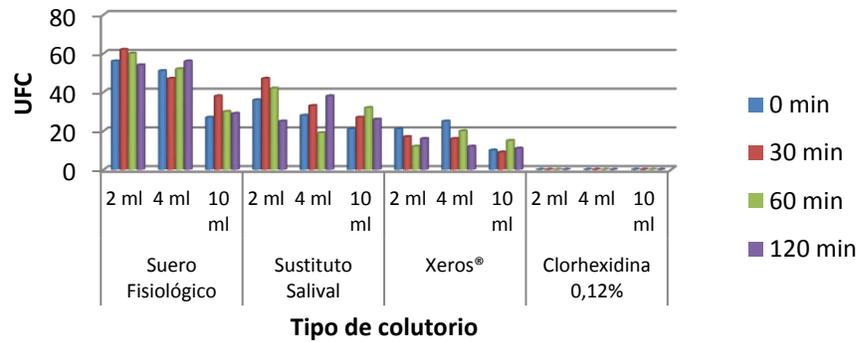


Figura n°18. Recuento de colonias bacterianas de *S. oralis* en relación al contacto de las cepas a distintos volúmenes de los colutorios a diferentes intervalos de tiempo

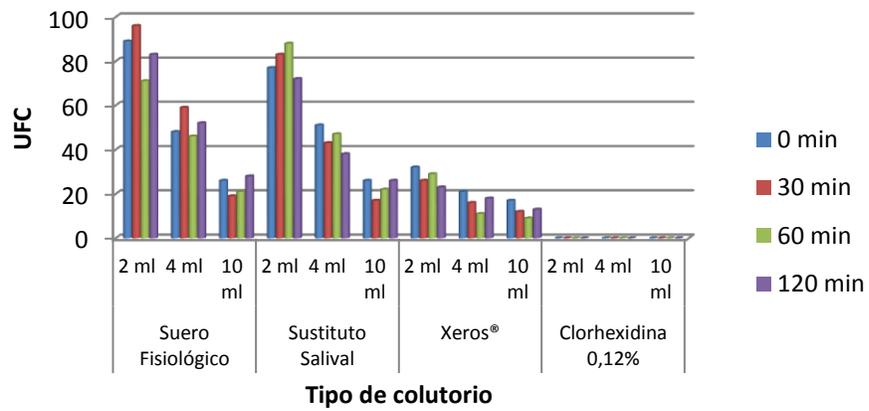
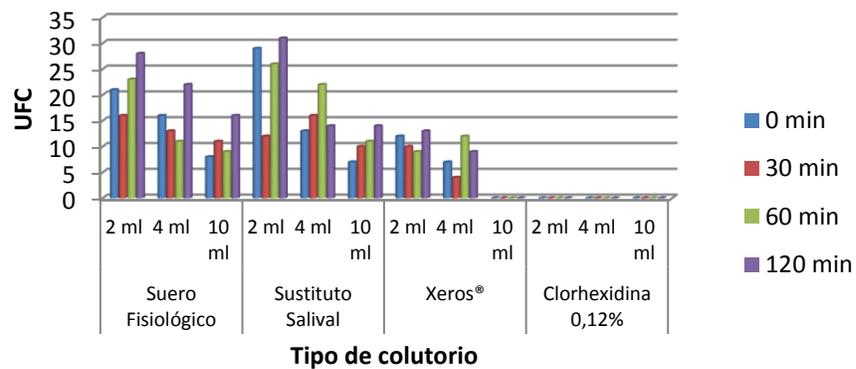


Figura n°19. Recuento de colonias bacterianas de *S. mitis* en relación al contacto de las cepas a distintos volúmenes de los colutorio a diferentes intervalos de tiempo



- En relación al volumen, se da una relación inversamente proporcional, es decir, a menor volumen de cada colutorio en contacto con cada cepa bacteriana (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S.gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis*) se detectó un mayor crecimiento de éstas, luego de la siembra y cultivo (figuras n°15, n°16, n°17, n°18 y n°19). Por tanto hay dependencia del volumen en relación al crecimiento de las cepas estudiadas.
- Con relación al tiempo, este no presenta variaciones significativas en el recuento de colonias de las cepas analizadas, ya que los recuentos de colonias bacterianas se mantienen constantes en relación a los volúmenes usados y al tiempo, esto es, se mantiene un recuento bacteriano menor de las cepas bacterianas en contacto con Xeros® en comparación al control negativo a través del tiempo y se mantiene un recuento similar de colonias bacterianas en contacto con el sustituto salival de manzanilla y linaza en comparación al control negativo (figuras n°15, n°16, n°17, n°18 y n°19). Por tanto no hay dependencia del tiempo en relación al crecimiento de las cepas estudiadas.

8. DISCUSIÓN

Bajo la premisa de que los sustitutos salivales utilizados para aliviar la sensación de boca seca deben usarse varias veces al día para lubricar las mucosas y a lo largo de toda la vida del paciente, es importante que éstos no afecten las condiciones de equilibrio en el ecosistema de la cavidad bucal; entre estas, la viabilidad de la microbiota comensal oral.

Luego de realizar los tres ensayos propuestos, comparando el sustituto salival en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y Linaza (*Linum usitatissimum*), Xeros®, Clorhexidina 0,12% y suero fisiológico sobre bacterias pertenecientes a la microbiota comensal oral, del género *Streptococcus*, específicamente *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis*; se determinó que para los ensayos de difusión, hubo crecimiento bacteriano de las especies estudiadas, NO se evidenciaron zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en relación a los colutorios estudiados, excepto para clorhexidina. Por tanto, por el comportamiento de las especies bacterianas (*S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis*) frente a los distintos colutorios, se sugiere que los colutorios estudiados no afectan el crecimiento de éstas, ya que presentan el mismo resultado que el control negativo (suero fisiológico).

Bisht y cols. (2011) en su estudio afirman que el aceite esencial de manzanilla tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias. Sugiere que el aceite esencial es una gran fuente de α - bisabolol y camazuleno, moléculas que serían las responsables de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial. Sin embargo a diferencia de lo observado en ese estudio, en este trabajo el sustituto salival en base a manzanilla y linaza no inhibió el crecimiento bacteriano de las cepas estudiadas, esto porque el sustituto presentado no es un extracto concentrado de manzanilla y linaza (a diferencia del estudio comparado), sino una infusión y por tanto no presenta el efecto antimicrobiano descrito anteriormente (donde se trabajó con un aceite esencial de manzanilla, concentrado de flores de la planta).

Un estudio realizado recientemente, describe las propiedades del aceite de *Linum usitatissimum* como un antibacteriano efectivo sobre distintos patógenos causantes de mastitis bovina (Kaithwas, G. y cols., 2011). Sin embargo, y al igual que el estudio anterior, en contraposición a lo realizado en este trabajo, la linaza se utilizó como un concentrado de ésta, no como infusión, aumentando de forma considerable sus propiedades antibacterianas.

Si para el sustituto salival presentado, usáramos aceites concentrados de manzanilla y linaza, esto afectaría la forma de fabricación del sustituto salival en base a manzanilla y linaza, haciéndola más engorrosa, lo que iría en desmedro de los objetivos propuestos para la fabricación de éste, el cual apunta a ser de fabricación casera y fácil. Además, a la fecha no hay estudios que avalen la acción antibacteriana, tanto de manzanilla como de linaza, sobre microorganismos pertenecientes a la microbiota comensal oral, ya que los estudios que existen en la literatura han sido realizados sobre patógenos orales.

En este ensayo, Xeros®, al igual que los otros colutorios estudiados, no inhibió el crecimiento bacteriano. En un estudio realizado en 2013, se evidenció que existe una relación entre la concentración de xilitol y su efecto inhibitorio frente a ciertas bacterias, siendo esta relación directamente proporcional. El mismo estudio comprobó además, que xilitol posee efecto bacteriostático, pero este último es también directamente proporcional a la concentración de xilitol (Rosa, M. D. S. A., & Guillermo, R. M. L. (2013). Por tanto se sugiere que la concentración de xilitol (Xeros®) utilizada en este ensayo fue menor que la concentración mínima de éste para generar algún efecto antibacteriano.

En el ensayo de dilución, se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de colonias bacterianas entre los colutorios estudiados. La siembra bacteriana en sustituto salival en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y Linaza (*Linum usitatissimum*) y en suero fisiológico, dio un recuento de colonias similar y mayor en comparación a Xeros®. No hubo desarrollo de colonias bacterianas como resultado de la siembra en medio con clorhexidina 0,12%.

Teniendo en cuenta el uso para el cual ambos colutorios fueron formulados, se podría esperar que el recuento de colonias bacterianas, de las especies de *Streptococcus* de la microbiota comensal, al contacto con el sustituto salival en base a manzanilla y linaza tanto como con Xeros®, fuera similar al obtenido con el control negativo (suero fisiológico), sin embargo esto sólo se cumple en el caso de sustituto salival en base a manzanilla y linaza y no en el caso de Xeros®, por lo cual podemos afirmar que Xeros® afecta la viabilidad de microorganismos colonizadores primarios de la cavidad oral.

Probablemente, la presencia de linaza en el sustituto salival de Manzanilla y Linaza, produzca un efecto protector *in vitro* sobre las bacterias de la microbiota comensal oral y les permita crecer y desarrollarse, ya que genera una sustancia visco elástica denominada mucílago, que ejerce un papel protector en las mucosas orales, generando un recubrimiento parcial de éstas.

En un estudio, se analizó el efecto de dos sustitutos salivales, uno en base a semillas de Linaza y otro en base a Carboximetilcelulosa, en la composición de la microbiota bucal en 19 individuos con hiposalivación consecutiva a radioterapia por cáncer de cabeza y cuello. Los resultados indicaron que ninguno de los sustitutos salivales utilizados provocó modificación de la microbiota oral (Johansson y cols, 2009).

Xeros® en su composición presenta Xilitol 3,30 %, alcohol de azúcar de cinco carbonos que inhibe el crecimiento de los estreptococos orales, lo cual explicaría el recuento bacteriano menor obtenido. En un estudio realizado se probó la sensibilidad de especies orales pertenecientes al género *Streptococcus* frente a Xilitol, en donde *S. gordonii* y *S. sanguinis* mostraron mayor sensibilidad, evaluado en base a la inhibición del crecimiento. *S. mutans* y *S. salivarius* mostraron inhibición del crecimiento bacteriano similar frente a Xilitol. *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pneumoniae*, *S. intermedius* y *S. Anginosus* mostraron relativamente baja sensibilidad a Xilitol (Na, H. S. y cols., 2014).

En el presente ensayo, quedó en evidencia que el sustituto salival en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y Linaza (*Linum usitatissimum*) no afecta la viabilidad de microorganismos pertenecientes a la microbiota comensal oral.

En 2015 se realizó un estudio *in vivo* donde se evidenció acción antimicrobiana del sustituto salival en base a manzanilla y linaza, éste se contrapone a lo encontrado en este trabajo. Sin embargo, en el estudio antes mencionado no se determinó el mecanismo de acción antimicrobiana. Los resultados de este trabajo sugieren que este efecto puede darse debido al arrastre mecánico que se genera en la cavidad oral al usar el sustituto salival en pacientes; Esto debe ser complementado con más estudios al respecto (Morales-Bozo I, 2012; Cavagnola S., 2015).

Luego de la incubación y el recuento de colonias en el test de contacto o Killing test, pudimos observar que, existe una relación inversamente proporcional entre el volumen de los colutorios y el recuento de colonias resultantes, esto es, a menor volumen de sustituto, mayor recuento de colonias (teniendo la concentración de cepas bacterianas en contacto con los colutorios como valor fijo), resultado consistente con los obtenidos en el ensayo de dilución.

Por otra parte el tiempo no fue un factor de variación significativo; si bien se registraron algunas diferencias entre recuentos bacterianos en relación al tiempo de contacto con un colutorio específico, estas no fueron estadísticamente significativas, tanto para el sustituto salival en base a manzanilla y linaza como para Xeros®.

Por tanto, esto significa que el volumen de los colutorios en contacto con las cepas bacterianas, es inversamente proporcional al recuento final de las mismas y además que no hay variaciones significativas en relación al tiempo de contacto entre las cepas bacterianas y los colutorios, ya que el recuento de colonias se mantiene constante.

Como se mencionó anteriormente, Xeros® dentro de su composición, presenta Xilitol 3,30 %, Ahora bien, Lif, Stecksén-Blicks, Sjöström, Öberg & Twetman (2006) han atribuido que el xilitol tiene una sustentividad de 8 minutos después de su uso y la

retención del producto está determinada por el vehículo utilizado, por tanto tiene efectividad como antibacteriano pero una baja sustentividad.

De acuerdo a los resultados presentados en este trabajo, Xeros® afecta la viabilidad de microorganismos pertenecientes a la microbiota comensal oral, acción que se mantiene en el tiempo, en comparación al sustituto salival en base a Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y Linaza (*Linum usitatissimum*) que no afecta la viabilidad de microorganismos pertenecientes a la microbiota comensal oral y su acción es mantenida en el tiempo.

9. RESUMEN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

- El sustituto salival en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de linaza (*Linum usitatissimum*) no generó variaciones significativas en el recuento de colonias bacterianas pertenecientes a la microbiota comensal oral, del género *Streptococcus*, específicamente *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis*.
- Xeros® generó variaciones significativas en el recuento de colonias bacterianas pertenecientes a la microbiota comensal oral del género *Streptococcus*, específicamente *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis*.
- La actividad antimicrobiana de Xeros® sobre microorganismos pertenecientes a la microbiota comensal de la cavidad oral del género *Streptococcus*, específicamente *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. gordonii* y *S. mitis* no es sostenida en el tiempo.

El presente estudio demuestra la importancia de evaluar los efectos no deseables de los sustitutos salivales en poblaciones de individuos xerostómicos, puesto que pueden afectar las condiciones de normalidad en la cavidad oral, afectando la microbiota comensal. El sustituto salival en base a manzanilla y linaza no presentó el efecto anteriormente descrito, lo que constituye una ventaja frente al único producto disponible en el mercado nacional (Xeros®).

Se requiere de investigaciones adicionales en relación a otros posibles efectos de manzanilla y linaza sobre una variedad mayor de microorganismos comensales orales, de modo de generar mayor evidencia sobre la interacción de estos productos naturales con la microbiota comensal y patógena de la cavidad oral. Evidencia que sería fundamental para la toma de decisiones en el tratamiento paliativo de la sequedad bucal de los pacientes xerostómicos en Chile y que permita efectivamente mejorar su calidad de vida.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*, 43(11), 5721-5732.

Abdoul-Latif Fatouma M., Mohamed Nabil, Prosper Edou, Adwa A. Ali, Samatar O. Djama, Louis-Clément Obame y cols. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(9), pp. 1512-1517.

Al-Hashem FH. (2010). Gastroprotective effects of aqueous extract of *Chamomilla recutita* against ethanol-induced gastric ulcers. *Saudi Med J*. 31(11): 1211-1216.

Alliende C, Kwon YJ, Brito M, Molina C, Aguilera S, Pérez P, y cols. (2008). Reduced sulfation of muc5b is linked to xerostomia in patients with Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis*. 67(10): 1480-1487.

Amerongen AV, Bolscher JG, Veerman EC. (1995). Salivary mucins: protective functions in relation to their diversity. *Glycobiology*. 5(8): 733-740.

Andersson G, Johansson G, Attström R, Edwardsson S, Glantz PO, Larsson K. (1995). Comparison of the effect of the linseed extract Salinum and a methylcellulose preparation on the symptoms of dry mouth. *Gerodontology*. 12(1): 12-17

Atkinson JC, Grisius M, Massey W. (2005). Salivary hypofunction and xerostomia: diagnosis and treatment. *Dent Clin North Am*. 49 (2): 309-326.

Avila, M., Ojcius, D. M., & Yilmaz, Ö. (2009). The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA and cell biology*, 28(8), 405-411.

Barene I, Daberte I, Zvirgzdina L, Iriste V. (2003). The complex technology on products of German chamomile. *Medicina (Kaunas)*. 39 Suppl 2: 127-131.

Berg IC, Rutland MW, Arnebrant T. (2003). Lubricating properties of the initial salivary pellicle--an AFM study. *Biofouling*. 19(6): 365-369.

Bisht SPS, Mishra R, Kumari K. (2011). Antimicrobial and free radical scavenging activity of Chamomile flower essential oil. *Asian J Pharm Health Sci* 1, 283-285

Brosky ME. (2007). The role of saliva in oral health: strategies for prevention and management of xerostomia. *J Support Oncol*. 5(5): 215-225.

Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.

Carl W, Emrich LS. (1991). Management of oral mucositis during local radiation and systemic chemotherapy: a study of 98 patients. *J Prosthet Dent*. 66(3): 361-369.

Cassolato SF, Turnbull RS. (2003). Xerostomia: clinical aspects and treatment. *Gerodontology*., 20(2): 64-77.

Cavagnola. Z., Soledad. (2015). "Efecto de un sustituto salival casero en base a manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y semillas de linaza (*Linum usitatissimum*) en el estatus de portación y variedad de especies de levaduras del género *Candida* en pacientes con xerostomía de diverso origen". Trabajo de investigación para optar al título de cirujano dentista. Departamento de Patología, facultad de Odontología, Universidad de Chile

Chang WI, Chang JY, Kim YY, Lee G, Kho HS. (2011). MUC1 expression in the oral mucosal epithelial cells of the elderly. *Arch Oral Biol.* 56(9): 885-890.

Chiappelli F. (2012). No strong evidence that any topical treatment is effective for relieving the sensation of dry mouth. *Evid Based Dent.* 13(1):16-17.

Crielaard, Wim, et al. "Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health." *BMC medical genomics* 4.1 (2011): 22.

Cotos, M. R. C. (2006). Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). *Kiru*, 3(2), 80-85.

Darvishi Khezri Hadi, Ali Haidari Gorji Mohammad, Morad Ali y Gorji Heidari. (2013). Comparación de los efectos antibacterianos de aseos bucales con matrica, Persica® y gluconato de clorhexidina en pacientes de UCI con ventilación mecánica: ensayo clínico doble ciego y aleatorio. *Rev Chilena Infectol* 30 (4): 361367.

Dawes C, Odlum O. (2004). Salivary status in patients treated for head and neck cancer. *J Can Dent Assoc.*70(6): 397-400.

Dawes C. (2004). How much saliva is enough for avoidance of xerostomia? *Caries Res.* 38(3): 236-240.

Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. (2005). Health benefits of saliva: a review. *J Dent.* 33(3): 223-233.

Dormenval V, Budtz-Jørgensen E, Mojon P, Bruyère A, Rapin CH. (1998). Associations between malnutrition, poor general health and oral dryness in hospitalized elderly patients. *Age Ageing.* 27(2): 123-128.

Duarte CM, Quirino MR, Patrocínio MC, Anbinder AL. (2011). Effects of Chamomilla recutita (L.) on oral wound healing in rats. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 16(6): e716-721.

Dugani A, Auzzi A, Naas F, Megwez S. (2008). Effects of the oil and mucilage from flaxseed (*linum usitatissimum*) on gastric lesions induced by ethanol in rats. *Libyan J Med.*, 3(4): 166-169.

Encuesta Nacional de Salud Chile. ENS 2009-2010. Tomo V: Resultados. Recuperado de en enero de 2011.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v.480, p.239-47,2000.

Furness S, Worthington HV, Bryan G, Birchenough S, McMillan R. (2011). Interventions for the management of dry mouth: topical therapies. *Cochrane Database Syst Rev*. (12):CD008934.

Gómez-Moreno G, Cabrera-Ayala M, Aguilar-Salvatierra A, Guardia J, RamírezFernández MP, González-Jaranay M, y cols. (2014). Evaluation of the efficacy of a topical sialogogue spray containing malic acid 1% in elderly people with xerostomia: a double-blind, randomized clinical trial. *Gerodontology*. 31(4):274-8.

Guggenheimer J, Moore PA. (2003). Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *J Am Dent Assoc*.134(1): 61-9; quiz 118-119.

Gupta A, Epstein JB, Sroussi H. (2006). Hyposalivation in elderly patients. *J Can Dent Assoc*.72(9): 841-846.

Hahnel S, Behr M, Handel G, Bürgers R. (2009). Saliva substitutes for the treatment of radiation-induced xerostomia--a review. *Support Care Cancer*. 17(11):1331-1343.

Hart, A.; et al. 1997. A comparison of the BioStar Strep A OIA™ rapid antigen assay, Group A Selective Strep Agar, and Todd-Hewitt broth cultures for the detection of group A Streptococcus in an outpatient Family Practice setting. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 29. (3). Páginas 139-14

Hassan, A. N., & Frank, J. F. (2004). Attachment of Escherichia coli O157: H7 grown in tryptic soy broth and nutrient broth to apple and lettuce surfaces as related to cell hydrophobicity, surface charge, and capsule production. *International journal of food microbiology*, 96(1), 103-109.

Herrera D, Roldán S, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0,12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an *in vitro* contact test and salivary bacterial counts study. *J Clin Periodontol* 2003;30:307-14.

Hopcraft MS, Tan C. (2010) Xerostomia: an update for clinicians. *Aust Dent J*. 55(3):238-244; quiz 353.

Jamalian A, Shams-Ghahfarokhi M, Jaimand K, Pashootan N, Amani A, RazzaghiAbyaneh M. (2012). Chemical composition and antifungal activity of *Matricaria recutita* flower essential oil against medically important dermatophytes and soilborne pathogens. *J Mycol Med*. Dec; 22(4):308-15.

Johansson AK, Johansson A, Unell L, Ekbäck G, Ordell S, Carlsson GE. (2012). Self-reported dry mouth in Swedish population samples aged 50, 65 and 75 years. *Gerodontology*. 29(2): e107-115.

Johansson G, Andersson G, Attstöm R, Edwardsson S. (2000). Oral mucous membrane flora in patients using saliva substitutes. *Gerodontology*. 17(2): 87-90.

Johansson G, Andersson G, Attström R, Glantz PO, Larsson K. (1994). The effect of Salinum on the symptoms of dry mouth: a pilot study. *Gerodontology*.11 (1): 4649.

Johansson G, Andersson G, Edwardsson S, Björn AL, Manthorpe R, Attström R. (2001). Effects of mouthrinses with linseed extract Salinum without/with chlorhexidine on oral conditions in patients with Sjögren's syndrome. A doubleblind crossover investigation. *Gerodontology*., 18(2): 87-94.

Kaithwas, G., Mukerjee, A., Kumar, P., & Majumdar, D. K. (2011). Linum usitatissimum (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *Inflammopharmacology*, 19(1), 45-52.

Lif Holgerson P, Stecksen-Blicks C, Sjostrom I, Oberg M y Twetman S. (2006). Xylitol concentration in saliva and dental plaque after use of various xylitol-containing products. *Caries Res*, 40(5), 393-397.

Liu B, Dion MR, Jurassic MM, Gibson G, Jones JA. (2012). Xerostomia and salivary hypofunction in vulnerable elders: prevalence and etiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 114(1): 52-60.

Marsh, P. D., Martin, M. V., Lewis, M. A., & Williams, D. (2009). *Oral microbiology*. Elsevier Health Sciences.

Martínez EA, Villarreal MLM, Almeida e Silva JB, Solenzal AIN, Canilha L, Mussatto SI. Uso de diferentes materias primas para la producción biotecnológica de xilitol. *Ciencia y Tecnología Alimentaria, Red de revistas científicas de América latina y el Caribe, España y Portugal 2002; Vol. 3(5): 295-301. 41.*

Mazokopakis EE, Vrentzos GE, Papadakis JA, Babalis DE, Ganotakis ES. (2005). Wild chamomile (*Matricaria recutita* L.) mouthwashes in methotrexate-induced oral mucositis. *Phytomedicine*. 2(1-2): 25-27.

Mäkinen KK, Bennett CA, Hujoel PP, Isokangas PJ, Isotupa KP, Pape HR Jr, Mäkinen PL. Xylitol chewing gums and caries rates: a 40-month cohort study. *J Dent Res*. 1995 Dec; 74(12):1904-13.

McKay DL, Blumberg JB. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res*. 20(7): 519-530.

Milgrom P, Kiet A. L, Ohnmar K., Lloyd Mancl, Marilyn C. Roberts, Kennar Briand, et al. Xylitol pediatric topical oral syrup to prevent dental caries: a double blind, randomized clinical trial of efficacy. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2009 July; 163(7): 601-607. †

Morales-Bozo I, Rojas G, Ortega-Pinto A, Espinoza I, Soto L, Plaza A, y cols. (2012). Evaluation of the efficacy of two mouthrinses formulated for the relief of xerostomia of diverse origin in adult subjects. *Gerodontology*. 29(2): e1103-1112.

Moreno E. y cols, Catastro de población adulta mayor; Adultos mayores por regiones, comunas y porcentajes, servicio nacional del adulto mayor, INE 2003.

Na, H. S., Kim, S. M., Song, Y. R., Choi, Y. H., & Chung, J. (2014). Xylitol Sensitivity among Oral Streptococci. *International Journal of Oral Biology*, 39(2), 81-86.

Napeñas JJ, Brennan MT, Fox PC. (2009). Diagnosis and treatment of xerostomia (dry mouth). *Odontology*. 97(2) 76-83.

Naran R, Chen G, Carpita NC. (2008). Novel rhamnogalacturonan 1 and arabinoxylan polysaccharides of flax seed mucilage. *Plant Physiol*,148: 132–1.

Nerkar PP, Gattani S. (2011). *In vivo, in vitro* evaluation of linseed mucilage based buccal mucoadhesive microspheres of venlafaxine. *Drug Deliv.* 18(2): 111-121.

Nogueira JC, Diniz Mde F, Lima EO. *In vitro* antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2008;74:118–24.

Orav A, Raal A, Arak. (2010). Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. *Nat Prod Res.* 24(1): 48-55.

Orellana MF, Lagravère MO, Boychuk DG, Major PW, Flores-Mir C. (2006). Prevalence of xerostomia in population-based samples: a systematic review. *J Public Health Dent.* 66(2): 152-158.

Pajukoski H, Meurman J, Halonen P, Sulkava R. (2001). Prevalence of subjective dry mouth and burning mouth in hospitalized elderly patients and outpatients in relation to saliva, medication, and systemic diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 92: 641-649.

Park MS, Chung JW, Kim YK, Chung SC, Kho HS. (2007). Viscosity and wettability of animal mucin solutions and human saliva. *Oral Dis.* 13(2): 181-186.

Pauli A, Schilcher H. (2004). Specific selection of essential oil compounds for treatment of children's infection disease. *Pharmaceuticals* 1:1—30.

Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. (2005). Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjogren's syndrome. *BMC Clin Pathol.* 5(1): 4.

Pijpe J, Kalk WW, Bootsma H, Spijkervet FK, Kallenberg CG, Vissink A. (2007). Progression of salivary gland dysfunction in patients with Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 66(1): 107-112.

Pinna R, Campus G, Cumbo E, Mura I, Milia E. (2015). Xerostomia induced by radiotherapy: an overview of the physiopathology, clinical evidence, and management of the oral damage. *Ther Clin Risk Manag.* 4;11:171-8.

Porter SR, Scully C, Hegarty AM. (2004). An update of the etiology and management of xerostomia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 97(1): 28-46.

PRATES, M.V.; BLOCH-JÚNIOR, C. Peptídeos antimicrobianos. *Biotechnology*, v.23, p.30-6,2001.

Ramos-e-Silva M, Ferreira AF, Bibas R, Carneiro S. (2006). Clinical evaluation of fluid extract of *Chamomilla recutita* for oral aphthae. *J Drugs Dermatol.* 5(7): 612617.

Renko M, Valkonen P, Tapiainen T, Kontiokari T, Mattila P, Knuuttila M, et al. Xylitol-supplemented nutrition enhances bacterial killing and prolongs survival of rats in experimental pneumococcal sepsis. *BMC Microbiol.* 2008; 8-45.

Rocha NF, Rios ER, Carvalho AM, Cerqueira GS, Lopes Ade A, Leal LK, y cols. (2011). Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-)- α -bisabolol in rodents. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 384(6): 525-533.

Rosa, M. D. S. A., & Guillermo, R. M. L. (2013). Efecto bacteriostático y/o

bactericida del xilitol sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(2), 173.

Saderi Horieh, Owlia Parviz Hosseini , Ashrafolsadat y Semiyari Hassan. (2005). Antimicrobial Effects of Chamomile Extract and Essential Oil on Clinically Isolated *Porphyromonas gingivalis* from Periodontitis. Proc. WOCMAP III, Vol.6: Traditional Medicine & Nutraceuticals. Eds. U.R. Palaniswamy, L.E. Craker and Z.E.Gardner.

Samnieng P, Ueno M, Shinada K, Zaitso T, Wright FA, Kawaguchi Y. (2012). Association of hyposalivation with oral function, nutrition and oral health in community-dwelling elderly Thai. *Community Dent Health*. 29(1): 117-123.

Sevón L, Laine MA, Karjalainen S y cols. (2008). Effect of age on flow-rate, protein and electrolyte composition of stimulated whole saliva in healthy, non-smoking women. *Open Dent J* 2: 89–92.

Shiboski CH, Hodgson TA, Ship JA, Schiødt M. (2007). Management of salivary hypofunction during and after radiotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 103 Suppl: S66.e1-19.

Silvestre-Donat FJ, Miralles-Jordá L, Martínez-Mihi V. (2004). Tratamiento de la boca seca: puesta al día. *Med Oral*;9:273-9.

Singh KK, Mridula D, Rehal J, Barnwal P. (2011). Flaxseed: a potential source of food, feed and fiber. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 51(3): 210-222.

Singh Ompal, Khanam Zakia,¹ Misra Neelam, y Srivastava Manoj Kumar (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview .*Pharmacogn RevJa*5(9): 82–95.

Söderling E, Hirvonen A, Karjalainen S, Fontana M, Catt D, Seppä L. The Effect

of xylitol on the composition of the oral flora: A pilot Study. *Eur J Dent.* 2011 January; 5(1): 24–31.

Soto J., Rojas G., Tirreau V., Franco ME., Lobos N. (2007). —"Relación entre Estructura Histológica de Glándulas Salivales menores Labiales y Capacidad Funcional Salival Total". Trabajo de investigación para optar al título de cirujano dentista. Departamento de Patología, facultad de Odontología, Universidad de Chile

Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. (2010). Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. *Mol Med Report.* 3(6): 895-901.

Tanner, A. C. R., et al. "The microbiota of young children from tooth and tongue samples." *Journal of dental research* 81.1 (2002): 53-57.

Thelin WR, Brennan MT, Lockhart PB, Singh ML, Fox PC, Papas AS y cols. (2008). The oral mucosa as a therapeutic target for xerostomia. *Oral Diseases.* 14(8): 683 -689.

Torres Zamanillo, C. G. (2009). Estudio químico y microbiológico de saliva antes y después del uso de gomas de mascar medicadas. Requisito para optar al título de cirujano dentista, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Van der Reijden WA, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. (1994). Rheological properties of commercially available polysaccharides with potential use in saliva substitutes. *Biorheology.* 31(6): 631-642.

Villa A y Abati S. (2011). Risk factors and symptoms associated with xerostomia: a cross-sectional study. *Aust Dent J*56(3): 290-295.

Von Bültzingslöwen I, Sollecito TP, Fox PC, Daniels T, Jonsson R, Lockhart PB y cols. (2007). Salivary dysfunction associated with systemic diseases: systematic review and clinical management recommendations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 103 Suppl: S57.e1-15.

Wan, A. K. L., Seow, W. K., Walsh, L. J., & Bird, P. S. (2002). Comparison of five selective media for the growth and enumeration of *Streptococcus mutans*. *Australian dental journal*, 47(1), 21-26.

Warrand J, Michaud P, Picton L, Muller G, Courtois B, Ralainirina R y cols. (2005a). Structural investigation of the neutral polysaccharide of *Linum usitatissimum* L. seeds mucilage. *Int J Biol Macromol.* 35: 121–125.

Warrand J, Michaud P, Picton L, Muller G, Courtois B, Ralainirina R, y cols. (2005b). Contributions of intermolecular interactions between constitutive arabinoxylans to the flaxseed mucilage properties. *Biomacromolecules*, 9: 1871– 1876.

11. ANEXOS Y APÉNDICES

Análisis estadístico ensayo de dilución.

Pruebas de normalidad:

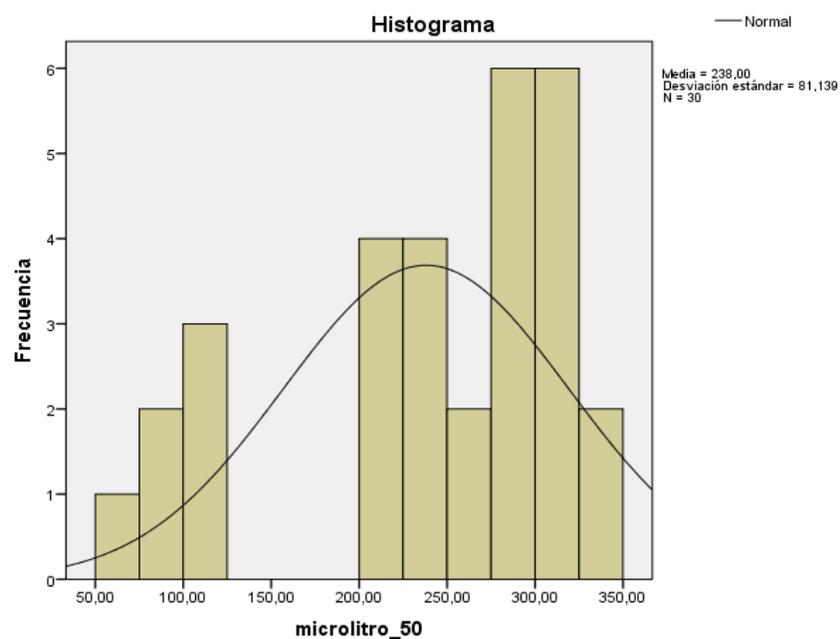
Pruebas de normalidad - 50 μ l

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
microlitro_50	,147	30	,097	,870	30	,002

a. Corrección de significación de Lilliefors

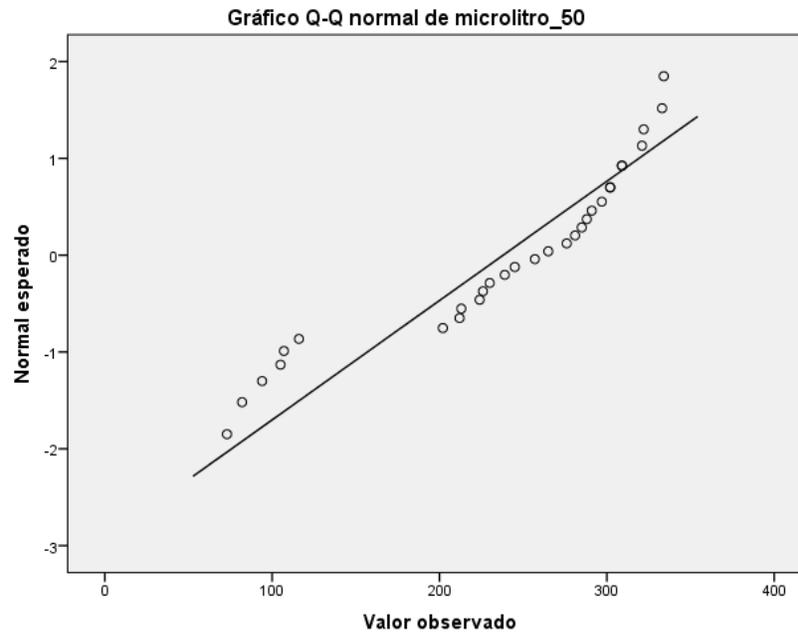
En este sentido, a través de las pruebas de normalidad para los diversos tipos de sueros a 50 μ l, se obtiene que según el test *Shapiro Wilk* ($n < 50$) que los datos no se aproximan a una distribución normal, dado que la significancia debe ser menor a 0,05.

Histograma - 50 μ l



En este caso para que exista una distribución normal, los datos deben estar por debajo de la campana de Gauss, condición que no se cumple en términos visuales.

Gráfico Q-Q - 50 μ l



En lo referido al gráfico Q-Q, para que exista una distribución normal, los datos se deben ajustar en torno a la recta de ajuste, condición que no se cumple tras observar detenidamente dicho gráfico.

Pruebas de normalidad - 25 μ l

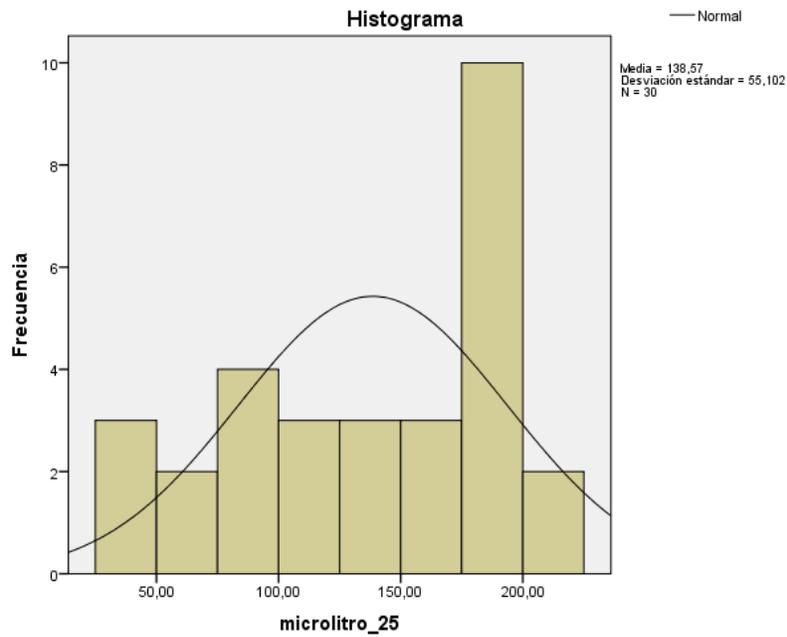
Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
microlitro_25	,176	30	,018	,913	30	,018

a. Corrección de significación de Lilliefors

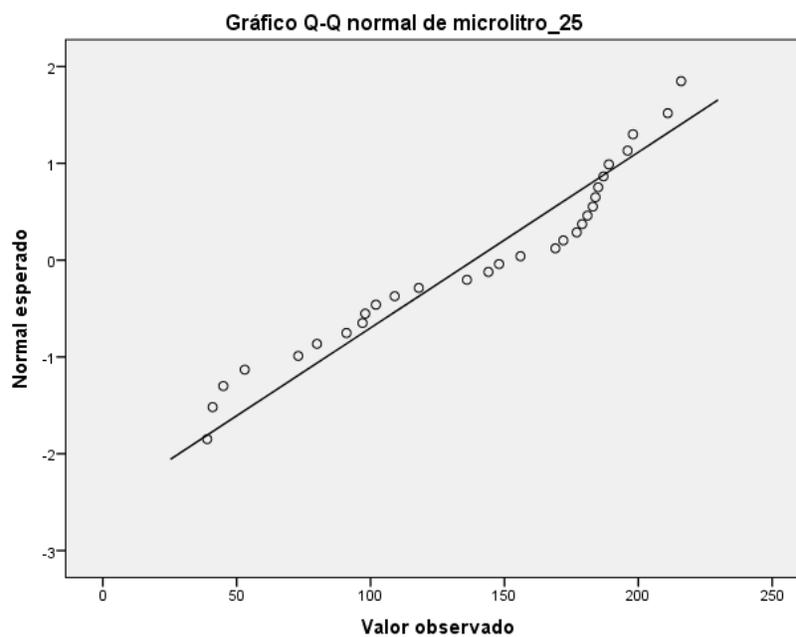
Para el caso de los diversos tipos de sueros a 25 μ l, tal como el anterior, se obtiene que de acuerdo al test *Shapiro Wilk* ($n < 50$) que los datos no se aproximan a una distribución normal, puesto que la significancia debe ser menor a 0,05 a un 95% de confianza.

Gráfico 3: Histograma - 25 μ l



En este caso para que exista una distribución normal, los datos deben estar por debajo de la campana de Gauss, condición que no se cumple en términos visuales.

Gráfico 4: Gráfico Q-Q - 25 μ l



En lo referido al gráfico Q-Q, para que exista una distribución normal, los datos se deben ajustar en torno a la recta de ajuste, condición que no se cumple tras observar detenidamente dicho gráfico.

Con los antecedentes reunidos con anterioridad, es necesario realizar la prueba de *Kruskal Wallis* para varias muestras independientes para afirmar o refutar la hipótesis de igualdad de rango promedio. Ante el caso que la significancia sea menor a 0,05, se realizarán tres comparaciones de rango promedio a través del test *U de Mann Whitney* para dos muestras independientes con la corrección de Bonferroni con el objeto de distinguir entre qué grupos de sueros persisten diferencias estadísticamente significativas, ya sea para 25µl como a 50µl.

Test de Kruskal Wallis

Estadísticos de prueba ^{a,b}		
	microlitro_25	microlitro_50
Chi-cuadrado	15,825	18,406
Gl	2	2
Sig. asintótica	,000	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tipo_suero

En este sentido, tanto para 25µl como para 50µl existe una significancia menor a 0,05, ante lo cual se puede refutar la hipótesis de igualdad de rango promedio entre cada uno de los sueros en los distintos niveles de volúmenes a un 95% de confianza.

Diferencia de rango promedio - 50µl

U Mann Whitney - Suero fisiológico - Sustituto Salival

Estadísticos de prueba ^a	
	microlitro_50
U de Mann-Whitney	43,000
W de Wilcoxon	98,000
Z	-,530

Sig. asintótica (bilateral)	,596
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,631 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Como son tres grupos, es necesario dividir el 0,05 en 3¹, con el fin de determinar el nivel de significancia para este caso. Sin embargo, al existir una sig=0,631, no es posible establecer diferencias estadísticamente significativas entre el Suero fisiológico y el Sustituto Salival a un 95% de confianza.

U Mann Whitney - Suero fisiológico - Xeros

Estadísticos de prueba ^a	
microlitro_50	
U de Mann-Whitney	,000
W de Wilcoxon	55,000
Z	-3,780
Sig. asintótica (bilateral)	,000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Al existir una significancia igual a 0,000, que a su vez es menor a 0,017, es posible determinar que existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos a un 95% de confianza.

U Mann Whitney - Sustituto salival - Xeros

Estadísticos de prueba ^a	
microlitro_50	
U de Mann-Whitney	3,000

¹ La significancia debe ser menor a 0,017 para que existan diferencias estadísticamente significativa entre los grupos que se deben comparar.

W de Wilcoxon	58,000
Z	-3,553
Sig. asintótica (bilateral)	,000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Al existir una significancia igual a 0,000, que a su vez es menor a 0,017, es posible determinar que existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos a un 95% de confianza.

Diferencia de rango promedio - 50µl

Tabla 7. U Mann Whitney - Suero fisiológico - Sustituto Salival

Estadísticos de prueba^a	
	microlitro_25
U de Mann-Whitney	32,000
W de Wilcoxon	87,000
Z	-1,361
Sig. asintótica (bilateral)	,174
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,190 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Tras existir una sig=0,190, no es posible establecer diferencias estadísticamente significativas entre el Suero fisiológico y el Sustituto Salival a un 95% de confianza.

. U Mann Whitney - Suero fisiológico - Xeros

Estadísticos de prueba^a	
	microlitro_25
U de Mann-Whitney	6,000
W de Wilcoxon	61,000

Z	-3,326
Sig. asintótica (bilateral)	,001
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Al existir una significancia igual a 0,000, que a su vez es menor a 0,017, es posible determinar que existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos a un 95% de confianza.

U Mann Whitney - Sustituto salival - Xeros

Estadísticos de prueba ^a	
	microlitro_25
U de Mann-Whitney	6,000
W de Wilcoxon	61,000
Z	-3,326
Sig. asintótica (bilateral)	,001
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: Tipo_suero

b. No corregido para empates.

Al existir una significancia igual a 0,000, que a su vez es menor a 0,017, es posible determinar que existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos a un 95% de confianza.

Análisis estadístico ensayo contacto, Killing test:

Regresión Lineal Múltiple

Killing test *S. salivarius* – Suero fisiológico

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,715 ^a	,512	,376	4,16667

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 37,6%, eso quiere decir que el 37,6% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 37,6%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	327,458	5	65,492	3,772	,016 ^b
	Residuo	312,500	18	17,361		
	Total	639,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_1

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes				
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	35,083	2,083		16,840	,000
	4 ml v/s 2 ml	-6,750	2,083	-,616	-3,240	,005

10 ml v/s 2 ml	-8,500	2,083	-,776	-4,080	,001
30 min v/s 0 min	-1,000	2,406	-,084	-,416	,683
60 min v/s 0 min	,167	2,406	,014	,069	,946
120 min v/s 0 min	-5,237E-16	2,406	,000	,000	1,000

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_1

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 6,7 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 8,5 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. salivarius* – Sustituto salival

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,549 ^a	,301	,107	3,89385

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml, 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml, 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 10,7%, eso quiere decir que el 10,7% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 10,7%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	117,708	5	23,542	1,553	,224 ^b
	Residuo	272,917	18	15,162		
	Total	390,625	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_2

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es mayor a 0,05, es posible rechazar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	25,208	1,947		12,948	,000
	4 ml v/s 2 ml	-2,750	1,947	-,321	-1,412	,175
	10 ml v/s 2 ml	-2,875	1,947	-,336	-1,477	,157
	30 min v/s 0 min	4,167	2,248	,447	1,853	,080
	60 min v/s 0 min	2,833	2,248	,304	1,260	,224
	120 min v/s 0 min	,167	2,248	,018	,074	,942

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_2

Como ninguna variable independiente tiene una significancia menor a 0,05, es posible concluir que ni el volumen en ml ni los minutos son variables que no explican estadísticamente la variación de las colonias bacterianas.

Killing test *S. salivarius* – Xeros®

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,922 ^a	,851	,810	2,22049

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 81%, eso quiere decir que el 81% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 81%.

ANOVA ^a					
Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.

1	Regresión	506,875	5	101,375	20,561	,000 ^b
	Residuo	88,750	18	4,931		
	Total	595,625	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_3

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes^a

Modelo	Coeficientes				
	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
	B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1 (Constante)	19,042	1,110		17,151	,000
4 ml v/s 2 ml	-5,000	1,110	-,473	-4,504	,000
10 ml v/s 2 ml	-11,125	1,110	-1,053	-10,020	,000
30 min v/s 0 min	,833	1,282	,072	,650	,524
60 min v/s 0 min	-1,000	1,282	-,087	-,780	,446
120 min v/s 0 min	1,134E-16	1,282	,000	,000	1,000

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_3

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 5 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 11,125 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. sanguinis* – Suero fisiológico

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,949 ^a	,901	,874	2,63962

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 87,4%, eso quiere decir que el 87,4% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 87,4%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	1147,542	5	229,508	32,939	,000 ^b
	Residuo	125,417	18	6,968		
	Total	1272,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_4

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		Sig.
		B	Error estándar	Beta	t	
1	(Constante)	36,792	1,320		27,876	,000
	4 ml v/s 2 ml	-9,500	1,320	-,615	-7,198	,000
	10 ml v/s 2 ml	-16,875	1,320	-1,092	-12,786	,000
	30 min v/s 0 min	-,167	1,524	-,010	-,109	,914
	60 min v/s 0 min	-,833	1,524	-,050	-,547	,591
	120 min v/s 0 min	-,167	1,524	-,010	-,109	,914

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_4

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 9,5 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 16,875 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. sanguinis* – Sustituto salival

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,854 ^a	,729	,654	1,94841

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml, 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml, 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 65,4%, eso quiere decir que el 65,4% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 65,4%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	184,167	5	36,833	9,702	,000 ^b
	Residuo	68,333	18	3,796		
	Total	252,500	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_5

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml, 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml, 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	24,833	,974		25,491	,000

4 ml v/s 2 ml	-,250	,974	-,036	-,257	,800
10 ml v/s 2 ml	-5,750	,974	-,836	-5,902	,000
30 min v/s 0 min	,333	1,125	,044	,296	,770
60 min v/s 0 min	-1,667	1,125	-,222	-1,482	,156
120 min v/s 0 min	-1,000	1,125	-,133	-,889	,386

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_5

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 5,750 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. sanguinis* – Xeros®

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,950 ^a	,903	,876	1,87454

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 87,6%, eso quiere decir que el 87,6% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 87,6%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	590,708	5	118,142	33,621	,000 ^b
	Residuo	63,250	18	3,514		
	Total	653,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_6

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes				
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	19,292	,937		20,583	,000
	4 ml v/s 2 ml	-6,250	,937	-,564	-6,668	,000
	10 ml v/s 2 ml	-11,625	,937	-1,050	-12,403	,000
	30 min v/s 0 min	,833	1,082	,069	,770	,451
	60 min v/s 0 min	-1,000	1,082	-,083	-,924	,368
	120 min v/s 0 min	-3,000	1,082	-,249	-2,772	,013

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_6

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 6,25 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 4 ml
- El volumen en 2 ml tiene 11,625 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 10 ml.

Tiempo:

- En los 0 minutos hay 3 colonias bacterianas más que a los 120 minutos.

Killing test *S. gordonii* – Suero fisiológico

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,962 ^a	,926	,905	3,89741

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml, 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml, 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 90.5%, eso quiere decir que el 90,5% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 90,5%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	3404,542	5	680,908	44,827	,000 ^b
	Residuo	273,417	18	15,190		
	Total	3677,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_7

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		Sig.
		B	Error estándar	Beta	T	
1	(Constante)	57,375	1,949		29,443	,000
	4 ml v/s 2 ml	-7,125	1,949	-,271	-3,656	,002
	10 ml v/s 2 ml	-28,000	1,949	-1,066	-14,369	,000
	30 min v/s 0 min	1,333	2,250	,047	,593	,561
	60 min v/s 0 min	2,000	2,250	,070	,889	,386
	120 min v/s 0 min	,167	2,250	,006	,074	,942

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_7

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 7,125 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 4 ml

- El volumen en 2 ml tiene 28 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 10 ml.

Killing test *S. gordonii* – Sustituto salival

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,781 ^a	,609	,501	5,55486

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 50,1%, eso quiere decir que el 50,1% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 50,1%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	865,917	5	173,183	5,613	,003 ^b
	Residuo	555,417	18	30,856		
	Total	1421,333	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_8

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes				
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	T	Sig.
1	(Constante)	35,125	2,777		12,647	,000
	4 ml v/s 2 ml	-9,250	2,777	-,567	-3,330	,004

10 ml v/s 2 ml	-11,625	2,777	-,712	-4,186	,001
30 min v/s 0 min	6,833	3,207	,384	2,131	,047
60 min v/s 0 min	4,500	3,207	,253	1,403	,178
120 min v/s 0 min	-1,333	3,207	-,075	-,416	,683

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_8

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 9,25 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 4 ml
- El volumen en 2 ml tiene 11,625 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 10 ml.

Tiempo:

- En los 0 minutos hay 6,8 colonias bacterianas más que a los 30 minutos.

Killing test *S. gordonii* – Xeros®

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,798 ^a	,636	,535	3,44937

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 63,6%, eso quiere decir que el 63,6% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 63,6%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	374,792	5	74,958	6,300	,002 ^b
	Residuo	214,167	18	11,898		
	Total	588,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_9

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

		Coeficientes ^a				
		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
Modelo		B	Error estándar	Beta	T	Sig.
1	(Constante)	20,583	1,725		11,935	,000
	4 ml v/s 2 ml	1,750	1,725	,167	1,015	,324
	10 ml v/s 2 ml	-6,000	1,725	-,571	-3,479	,003
	30 min v/s 0 min	-5,167	1,991	-,452	-2,594	,018
	60 min v/s 0 min	-3,333	1,991	-,291	-1,674	,111
	120 min v/s 0 min	-5,333	1,991	-,466	-2,678	,015

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_9

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 6 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 10 ml.

Tiempo:

- En los 0 minutos hay 5,167 colonias bacterianas más que a los 30 minutos.
- En los 0 minutos hay 5,333 colonias bacterianas más que a los 120 minutos.

Killing test *S. oralis* – Suero fisiológico

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,985 ^a	,970	,962	5,03920

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 96,2%, eso quiere decir que el 96,2% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 96,2%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	14998,875	5	2999,775	118,132	,000 ^b
	Residuo	457,083	18	25,394		
	Total	15455,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_10

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		Sig.
		B	Error estándar	Beta	t	
1	(Constante)	86,917	2,520		34,496	,000
	4 ml v/s 2 ml	-33,625	2,520	-,625	-13,345	,000
	10 ml v/s 2 ml	-60,625	2,520	-1,126	-24,061	,000
	30 min v/s 0 min	,667	2,909	,011	,229	,821
	60 min v/s 0 min	-7,333	2,909	-,125	-2,521	,021
	120 min v/s 0 min	-1,500	2,909	-,026	-,516	,612

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_10

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 33,625 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 60,625 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Tiempo:

- En los 0 minutos hay 7,33 colonias bacterianas más que a los 60 minutos.

Killing test *S. oralis* – Sustituto salival**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,980 ^a	,960	,949	5,46834

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 96%, eso quiere decir que el 96% de la variación de volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 96%.

ANOVA^a

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	12985,083	5	2597,017	86,849	,000 ^b
	Residuo	538,250	18	29,903		
	Total	13523,333	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_11

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes^a

Modelo		Coeficientes				Sig.
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	
1	(Constante)	81,083	2,734		29,656	,000
	4 ml v/s 2 ml	-33,125	2,734	-,658	-12,115	,000
	10 ml v/s 2 ml	-56,625	2,734	-1,125	-20,710	,000

30 min v/s 0 min	-2,000	3,157	-,036	-,633	,534
60 min v/s 0 min	-,333	3,157	-,006	-,106	,917
120 min v/s 0 min	-3,000	3,157	-,055	-,950	,355

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_11

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 33,125 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 56,625 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. oralis* – Xeros®

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,949 ^a	,901	,873	2,50463

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 87,3%, eso quiere decir que el 87,3% de la variación del volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 87,3%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	1027,042	5	205,408	32,744	,000 ^b
	Residuo	112,917	18	6,273		
	Total	1139,958	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_12

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes				
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	32,208	1,252		25,719	,000
	4 ml v/s 2 ml	-10,250	1,252	-,701	-8,185	,000
	10 ml v/s 2 ml	-14,375	1,252	-,983	-11,479	,000
	30 min v/s 0 min	-5,833	1,446	-,367	-4,034	,001
	60 min v/s 0 min	-6,333	1,446	-,398	-4,380	,000
	120 min v/s 0 min	-4,667	1,446	-,293	-3,227	,005

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_12

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 10,250 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 14,375 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Tiempo:

- En los 0 minutos hay 5,83 colonias bacterianas más que a los 30 minutos.
- En los 0 minutos hay 6,33 colonias bacterianas más que a los 60 minutos.
- En los 0 minutos hay 4,66 colonias bacterianas más que a los 120 minutos.

Killing test *S. mitis* – Suero fisiológico

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,866 ^a	,750	,681	3,27589

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml, 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml, 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 75%, eso quiere decir que el 75% de la variación de volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 75%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	579,458	5	115,892	10,799	,000 ^b
	Residuo	193,167	18	10,731		
	Total	772,625	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_13

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	23,167	1,638		14,144	,000
	4 ml v/s 2 ml	-8,000	1,638	-,665	-4,884	,000
	10 ml v/s 2 ml	-10,000	1,638	-,831	-6,105	,000
	30 min v/s 0 min	-1,167	1,891	-,089	-,617	,545
	60 min v/s 0 min	-2,667	1,891	-,204	-1,410	,176
	120 min v/s 0 min	3,667	1,891	,280	1,939	,068

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_13

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 8 colonias bacterianas más en al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 10 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. mitis* – Sustituto salival

Resumen del modelo				
Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,793 ^a	,630	,527	4,78762

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 52,7%, eso quiere decir que el 52,7% de la variación de volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 52,7%.

ANOVA ^a						
Modelo		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	701,417	5	140,283	6,120	,002 ^b
	Residuo	412,583	18	22,921		
	Total	1114,000	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_14

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes ^a						
Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	23,792	2,394		9,939	,000
	4 ml v/s 2 ml	-8,875	2,394	-,614	-3,707	,002
	10 ml v/s 2 ml	-12,500	2,394	-,865	-5,222	,000
	30 min v/s 0 min	-2,833	2,764	-,180	-1,025	,319
	60 min v/s 0 min	-,333	2,764	-,021	-,121	,905
	120 min v/s 0 min	,500	2,764	,032	,181	,858

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_14

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 8,875 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 12,5 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.

Killing test *S. mitis* – Xeros®

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	,939 ^a	,881	,848	2,03329

a. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

El r cuadrado ajustado es de 84,8%, eso quiere decir que el 84,8% de la variación de volumen en ml y de los minutos es explicada por la variación de colonias bacterianas. Este modelo en específico tiene una capacidad explicativa del 84,8%.

ANOVA^a

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	551,583	5	110,317	26,684	,000 ^b
	Residuo	74,417	18	4,134		
	Total	626,000	23			

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_15

b. Predictores: (Constante), 120 min v/s 0 min, 10 ml v/s 2 ml , 60 min v/s 0 min, 4 ml v/s 2 ml , 30 min v/s 0 min

Como la significancia de ANOVA es menor a 0,05, es posible afirmar que al menos un beta o un coeficiente es distinto de cero.

Coeficientes^a

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		t	Sig.
		B	Error estándar	Beta			
1	(Constante)	10,958	1,017			10,779	,000

4 ml v/s 2 ml	-2,750	1,017	-,254	-2,705	,014
10 ml v/s 2 ml	-11,125	1,017	-1,027	-10,943	,000
30 min v/s 0 min	-,833	1,174	-,071	-,710	,487
60 min v/s 0 min	,167	1,174	,014	,142	,889
120 min v/s 0 min	1,333	1,174	,113	1,136	,271

a. Variable dependiente: Colonia_bacteriana_15

Las variables significativas del modelo a un 95% de confianza son:

Volumen en ml:

- El volumen en 2 ml tiene 2,75 colonias bacterianas más en comparación al volumen en 4 ml.
- El volumen en 2 ml tiene 11,125 colonias bacterianas más en contraste al volumen en 10 ml.