



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE REHABILITACIÓN BUCO-MAXILOFACIAL
UNIDAD DE CARIOLOGÍA**

**POTENCIAL ANTICARIOGÉNICO DE BERRIES NATURALES: REVISIÓN
SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA**

Anticariogenic potential of natural berries: systematic review of the literature

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la Universidad de Talca como parte de los requisitos científicos exigidos para la obtención del título de Cirujano Dentista.

**ESTUDIANTES: MARÍA FERNANDA MORALES MUÑOZ
ANA SOLEDAD MUÑOZ TORRES
PROFESOR GUÍA: DR. RODRIGO GIACAMAN SARAH
PROFESOR CO-GUÍA: NATALIA GARCÍA**

**TALCA - CHILE
2020**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS DEL PROFESOR GUÍA

Nombre
Rodrigo A. Giacaman
ORCID
https://orcid.org/0000-0003-3362-5173
Google Scholar
https://scholar.google.com/citations?user=Oa_CitgAAAAJ&hl=es&oi=ao
Correo electrónico
giacaman@utalca.cl

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por darme la oportunidad de cumplir una de mis metas. A mi madre, Hortensia Muñoz y mi padre, Fernando Morales que con amor y paciencia me han acompañado en este proceso, gracias por la confianza, incentivo y apoyo en todo momento. A mis hermanos que, con su ejemplo, me motivan a perseverar y luchar por mis sueños.

A mi pareja, Sergio Campos, por apoyarme, ayudarme y siempre estar presente. A mi compañera de memoria y amiga, Anita, quien ha sido primordial en este proceso. Gracias Dr. Giacaman y profesora Natalia García por enseñarnos y guiarnos.

A mis amigas, por escuchar, entender y aconsejar.

A Doko, quién desde que llegó, hizo mis días alegres, fueran buenos o malos.

A quienes estuvieron y marcaron esta etapa con su paso.

¡GRACIAS!

Ma Fernanda Morales

Quisiera agradecer a mis padres y familia, quienes me han apoyado incondicionalmente a lo largo de esta etapa, por siempre creer y confiar en mí, por impulsarme a conseguir y cumplir mis sueños, y por hacer de mí una mejor persona.

También agradecer a mi pareja quien me ha acompañado en todo momento, y su familia, quienes me han acogido durante todos estos años.

Gracias a todos mis amigos y compañeros, por acompañarme durante esta etapa, con los que he reído y llorado, por aconsejarme o solo escucharme en los buenos y malos momentos, en especial quisiera agradecer a mi compañera de memoria, Fernanda Morales, quien ha sido un apoyo fundamental durante este proceso

Por último, quisiera agradecer a los docentes y funcionarios que han marcado mi vida universitaria, por los conocimientos en el ámbito profesional y, por sobre todo, las lecciones de vida que siempre llevaré conmigo; especialmente al Dr. Rodrigo Giacaman y la Profesora Natalia García por su paciencia, empatía y confianza, quienes de forma incondicional colaboraron para culminar esta etapa.

Ana Muñoz Torres

ÍNDICE

1. RESUMEN	5
2. ABSTRACT.....	6
3. INTRODUCCIÓN	7
4. MÉTODOS	9
4.1. Diseño general	9
4.2. Criterios de Elegibilidad	9
4.3. Fuentes de Información y Estrategia de Búsqueda	10
4.4. Selección de Estudios	12
4.5. Extracción de Datos	12
5. RESULTADOS.....	13
5.1. Estudios seleccionados y excluidos	13
5.2. Análisis cualitativo de estudios.....	14
5.3. Análisis de riesgo de sesgo	23
5.4. Análisis cuantitativo de estudios.....	25
6. DISCUSIÓN	26
7. REFERENCIAS.....	30

1. RESUMEN

Se ha reportado que los polifenoles, compuestos presentes en altas concentraciones en numerosas frutas, tendrían propiedades anticaries. En particular, los berries poseen propiedades inhibitorias sobre el biofilm dental. Sin embargo, la evidencia es escasa, y no hay claridad si el efecto es común en toda la familia de berries. Por lo tanto, el objetivo fue revisar la literatura para confirmar este efecto. Mediante términos predefinidos y libres se realizó una búsqueda de estudios *in vitro*, *in situ* e *in vivo* en PubMed, WoS y SCOPUS, utilizando criterios PRISMA. Se seleccionaron estudios donde la intervención fuese en modelos de caries con berries, en cualquier tipo de presentación, y que los resultados estuvieran directamente relacionados con caries. De los 1235 artículos que coincidían con los criterios de búsqueda por título y abstract, 40 fueron revisados a texto completo y 24 fueron incluidos en la revisión. Trece estudios con uvas reportaron efectos sobre la disminución de bacterias, un aumento en remineralización y aumento del pH oral. Diez artículos evaluaron cranberries, reportando un aumento de pH salival, disminución de recuentos bacterianos y desorganización estructural del biofilm. Un artículo evaluó la cereza ácida y evidenció una disminución del recuento de *Streptococcus mutans* e inhibición de amilasa salival. No se han estudiado todos los frutos pertenecientes al grupo de los berries y la mayoría son *in vitro*, sin embargo, algunos de estos frutos parecen poseer un potencial anticaries y sus principios activos, podrían ser una alternativa en el manejo actual de caries. Se sugiere realizar estudios clínicos para confirmar estos hallazgos.

Palabras clave:

Caries dental, Berries, Frutas, *Streptococcus Mutans*, Polifenoles, Remineralización, Agentes anticaries.

2. ABSTRACT

Anticaries properties have been attributed to polyphenols, ubiquitous compounds present in high concentrations in numerous fruits. In particular, some members of the family of berries have been reported as having inhibitory properties on the dental biofilm. The aim of this study was to review the literature to confirm whether this effect is common across the whole berry family or restricted only to some fruits.

Using predefined and free terms, a search was carried out for *in vitro*, *in situ* and *in vivo* studies in PubMed, WoS and SCOPUS, using PRISMA criteria. Studies were restricted to those where the intervention was any berry, in any presentation, on clinical or experimental caries study. The outcomes had to be directly related to caries. Of the 1235 articles that matched the selection criteria by title and abstract, 40 were reviewed in full text and 24 were included in the review. Thirteen studies with grapes reported an effect on bacteria reduction, increase in remineralization and increase in oral pH. Ten articles evaluated cranberries, reporting an increase in salivary pH, decrease in bacterial counts, and structural disorganization of the biofilm. An article evaluated tart cherry, reporting a decrease in the *Streptococcus mutans* count and an inhibitory effect on salivary amylase. Although this systematic review showed that only few members of the berry family have been tested for a potential anticaries effect, mostly *in vitro*, these fruits seem to have a promising anticaries potential and their active principles could be an alternative in modern approaches for caries management. Clinical studies are suggested to confirm these findings.

Key words:

Dental caries, Berries, Fruits, *Streptococcus Mutans*, Polyphenols, Remineralization, Anticaries agents.

3. INTRODUCCIÓN

La caries dental se ha definido como una enfermedad no transmisible, mediada por el biofilm dental y por la dieta, y, modulada por una amplia variedad de factores, lo que resulta en la pérdida neta de minerales de los tejidos duros dentales (1). Según el informe Global Burden of Diseases (2), la caries dental no tratada es la enfermedad no transmisible más común a nivel global (2). Por lo anterior, se hace necesario ahondar en nuevas alternativas para la prevención y tratamiento de esta enfermedad.

Al ser una enfermedad en que la dieta juega un rol clave, se han realizado esfuerzos para dilucidar si algunos alimentos o nutrientes poseen propiedades anticariogénicas, tales como los ácidos grasos, proteínas y polifenoles (3). En ese contexto, los polifenoles han mostrado un potencial contra la caries que pudiese tener importantes implicancias (4).

Los polifenoles comprenden una gran cantidad de metabolitos secundarios biológicamente activos, considerándose uno de los grupos de sustancias más comunes, encontrándose una alta concentración de estos en plantas, flores y frutos (5). Se conoce una gran gama de polifenoles, que abarcan una amplia variedad de moléculas, las que contienen al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, además, de otros sustituyentes (6). Las propiedades biológicas de los polifenoles incluyen efectos antioxidantes (7), anticancerígenos (8), antimicrobianos(9) y antiinflamatorios (10).

Los efectos antimicrobianos de los polifenoles se han informado ampliamente (3, 5), además de su capacidad para inactivar toxinas bacterianas (9). Los compuestos fenólicos de algunas plantas o frutos comestibles han llamado la atención como posibles fuentes de agentes capaces de controlar el crecimiento de bacterias orales (6).

Se han estudiado alimentos con alta concentración de estos metabolitos y que a su vez podrían ser capaces de prevenir o controlar la caries dental, tales como el té, el extracto de magnolia, cacao, entre otros (4).

Dentro de los efectos beneficiosos observados se encuentran la disminución del crecimiento bacteriano, al interactuar con la membrana microbiana, alterando de esta manera la permeabilidad celular y provocando la pérdida de protones, iones y macromoléculas (11).

Por otra parte, se ha reportado que los compuestos fenólicos pueden inhibir las glucosiltransferasas (GTF) (12), disminuir el pH salival (13) y en algunos casos, promover la remineralización en esmalte o dentina (14).

Existen variados grupos de frutos que contienen grandes cantidades de polifenoles, de los cuales, en los últimos años destacan los berries por sus beneficios a nivel sistémico (15).

Los berries son frutos ricos en el grupo más grande de polifenoles, los flavonoides. Estos poseen una estructura química básica de C6-C3-C6, que en función de su grado de oxidación y sustitución en la posición 3, se pueden subdividir en flavonoles (como la quercetina), flavanoles (por ejemplo, catequina y epicatequina) y antocianidinas, siendo los glucósidos de estas últimas, las responsables de los colores característicos de estos frutos, como lo son el rojo, azul y púrpura (16). En este grupo destacan varias familias, como *Rosaceae* (fresa, frambuesa, mora), *Ericaceae* (cranberry, blueberry) (17) y el género *Vitis* (uva) y sus productos (como jugo o vino) (18) ya que poseen un alto contenido de polifenoles. De igual manera, a este grupo pertenecen frutos como elderberries, gooseberries, lingonberries, cereza ácida, ají, caquis, bananas, entre muchos otros.

Los berries han sido identificados como poseedores de potenciales efectos favorables a nivel bucal (4), a través de diversos estudios en donde se evidencian efectos sobre la reducción del biofilm dental y su actividad metabólica (19), disminución de la acidogenicidad (20) y promoción de la remineralización en tejidos dentales duros (21).

Sin embargo, se desconoce si existe evidencia suficiente para considerar que todos los frutos del grupo berries contienen propiedades anticariogénicas. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue, determinar si los berries naturales poseen un potencial efecto contra caries dental a través de una revisión sistemática de la literatura, con el fin de reunir y analizar la evidencia actual, de manera metodológica, y así, considerar estos frutos como una alternativa viable para la prevención o el tratamiento de la enfermedad de caries.

4. MÉTODOS

4.1. Diseño general

Se efectuó una Revisión sistemática de la literatura (RSL) con el fin de llevar a cabo un análisis sistemático de estudios *in vitro*, *in vivo* e *in situ*, que investiguen las potenciales propiedades anticariogénicas de distintos tipos de frutos pertenecientes al grupo berries. El protocolo de esta revisión fue registrado en PROSPERO, siguiendo los criterios establecidos en PRISMA-P (22). Se examinaron las bases de datos Medline (vía PubMed), Web of Science y Scopus (vía Elsevier) utilizando criterios de búsqueda previamente definidos. La selección de los artículos y la extracción de datos fue realizada por 2 investigadoras (MFM y AM) de forma independiente. Además, los estudios seleccionados fueron evaluados en relación con el riesgo de sesgo de cada uno. Esta RSL fue conducida de acuerdo con las guías del Manual Cochrane (23) y reportada de acuerdo a los criterios establecidos por PRISMA (24).

4.2. Criterios de Elegibilidad

Los criterios de elegibilidad se escogieron de acorde con la pregunta P.I.C.O. los que se detallan a continuación:

Criterios de Inclusión:

- Paciente/Población (P): estudios *in vitro*, clínicos, en animales de experimentación e *in situ*, desarrollados en humanos o animales, o en modelos de caries que incluyan bacterias orales, saliva y tejidos dentales o similares (perlas o discos de hidroxiapatita).
- Intervención (I): estudios en donde la intervención sea con berries de origen natural, ya sean estos en forma de fruta entera, extracto o sus componentes activos.
- Comparación (C): estudios en donde exista un grupo control para la intervención (berries).
- Outcome o Variable Dependiente (O): estudios en los que se evalúen los efectos directos de berries contra caries dental (variable dependiente de los estudios a incluir)

o índice de caries. Además, proxis relacionados con caries dental como remineralización, desmineralización, efectos microbiológicos relacionados con caries, como por ejemplo estudios que prueben efectos de berries sobre *Streptococcus mutans* y efecto de los berries sobre el pH salival

- *Diseño Experimental (S)*: sin restricción de modelo de estudio (prospectivos, observacionales, ciegos o no, aleatorios, no aleatorios, controlados y no controlados).

Criterios de Exclusión:

- Estudios secundarios
- Estudios en donde no se especifique el origen de los berries
- Estudios que evalúen la actividad antibacteriana contra bacterias periodontopatógenas.

4.3.Fuentes de Información y Estrategia de Búsqueda

La búsqueda se realizó utilizando la base de datos Medline vía Pubmed, SCOPUS y Web of Science (WoS) basada en los elementos P e I (Tabla 1) de la pregunta P.I.C.O. en donde; P: paciente/ población/ problema, I: intervención, C: comparación, O: variable dependiente. Se utilizaron términos MESH y libres combinados con el operador boleano OR y las claves de las estrategias de búsqueda combinadas con el operador boleano AND entre los elementos P e I. En las estrategias de búsqueda no se aplicaron restricciones de idioma, año o estado de la publicación. La literatura gris no fue incluida.

Tabla 1: Estrategia de búsqueda MedLine vía PubMed, WoS y SCOPUS. Se indican los términos de búsqueda utilizados para P e I.

Base de datos	PATIENT/PROBLEM	INTERVENTION
Pubmed, WoS, Scopus	Dental caries OR Caries OR Caries lesion OR Root caries OR Caries formation OR Tooth decay OR Dental Decay OR Cariou lesion OR Cariou lesions OR Cariou Dentin OR Dental cavity OR Dental fissure OR Tooth demineralization OR Remineralization OR Dental White Spot OR Dental White Spots OR White spot lesion OR White spot lesions OR DMF Index OR DMFT OR DMFT/DMFS OR ICDAS OR Nyvad criteria OR CAST OR Dental caries [MeSH terms] OR Root caries [MeSH terms]	Berries OR strawberries OR strawberry OR blueberries OR blueberry OR black currant OR black currants OR grapes OR tomato OR cranberries OR cranberry OR gooseberries OR elderberries OR elderberry OR banana OR eggplant OR persimmon OR persimmons OR watermelon OR pumpkin OR pumpkins OR apricot OR apricots OR blueberry OR lingonberry OR cranberry OR cranberries OR lingonberries OR blueberries OR strawberries OR strawberry OR gooseberry OR gooseberries OR goji berry OR elderberries OR elderberry OR goji berries OR banana OR bananas OR grape OR grapes OR eggplants OR persimmons OR watermelon OR pumpkins OR black berry OR black berries OR raspberry OR raspberries OR apricots OR juniper berry OR juniper berries OR red currants OR white currants OR blackcurrants OR chili pepper OR chili pepper OR chili peppers OR berry OR bilberry OR bilberries
	Pubmed #P = 125,148 SCOPUS= 67 WoS= 219.957	Pubmed #I = <u>224,504</u> SCOPUS= 148 WoS= 185.429
	Pubmed= 768 Scopus = 8 WoS = 469	

#= indica el número de artículos obtenidos para P e I individualmente, y luego ambos combinados con operador AND.

4.4. Selección de Estudios

Los estudios obtenidos fueron exportados con el fin obtener títulos y resúmenes, los que fueron importados a la herramienta web Rayyan QCRI (25), en donde se removieron los duplicados. Previo al proceso de selección ambas revisoras (MFM y AM) se calibraron, obteniendo un coeficiente Kappa de 0,76. Se utilizó el PRISMA Flow (24) para llevar a cabo las distintas etapas de la RSL. Los estudios se seleccionaron según los criterios de elegibilidad predefinidos. Dos revisoras (MFM y AM) seleccionaron independientemente los estudios por títulos y resumen. Los artículos seleccionados en la etapa anterior fueron revisados a texto completo. Los desacuerdos en la elegibilidad fueron resueltos mediante discusión entre las dos revisoras y en algunos casos las discrepancias fueron consultadas con una tercera revisora (NG).

4.5. Extracción de Datos

La extracción de datos fue realizada con una estrategia predefinida y pilotada de forma independiente entre las dos revisoras. En los casos de exclusión, se registraron las razones para cada caso. Los desacuerdos en la extracción de datos fueron esclarecidos mediante discusión entre las revisoras o con la ayuda de un tercer revisor.

La síntesis cualitativa de los artículos escogidos fue recogida en una tabla, la que contenía las principales características de los estudios.

El análisis de calidad (riesgo de sesgo) de cada estudio fue efectuado con la herramienta ToxRTool (26), siguiendo la guía publicada en EU SCIENCE HUB, ya que de esta forma se contó con una pauta para estudios *in vitro*, *in situ* como e *in vivo*. La representación gráfica del sesgo en cada caso fue efectuada adaptando la herramienta RevMan (27).

5. RESULTADOS

5.1. Estudios seleccionados y excluidos

De los 1.245 artículos encontrados, 102 fueron eliminados por estar duplicados. Los 1143 artículos restantes fueron revisados por título y abstract, excluyéndose 1.104, lo que dejó 40 artículos para revisión a texto completo. Se excluyeron 16 artículos, por no cumplir con los criterios de inclusión (intervención) y por no especificar el origen del berry. Finalmente, se incluyeron 24 estudios en la síntesis cualitativa, de los cuales 19 correspondían a estudios *in vitro*, 1 estudio *in situ* y 5 *in vivo*; además de un estudio que utilizó metodologías *in vitro* e *in vivo*.

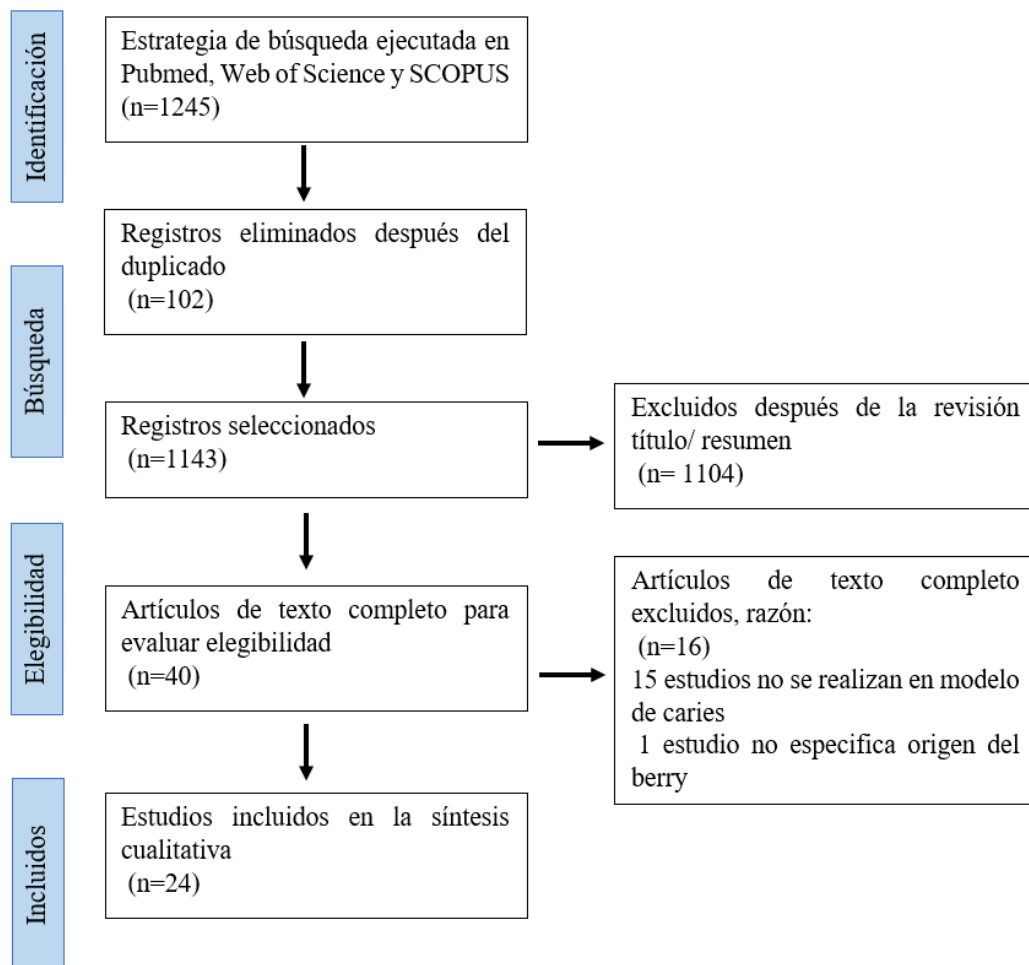


Figura 1. Flujograma PRISMA. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la bibliografía sobre potenciales efectos anticariogénicos de los berries naturales

5.2. Análisis cualitativo de estudios

En la síntesis cualitativa (Tabla 2), el 76% (19 estudios) de los estudios eran *in vitro*, los que tuvieron un tiempo de duración entre 12 horas y 18 días. Once evaluaban la uva, 10 en modelos de caries con tejidos dentales (humano o bovino) (21, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 43, 44, 45), y 1 con perlas de HA recubiertas con sHA (28). Ocho estudios evaluaban cranberry, mediante modelos de caries con perlas o discos de HA recubiertas con sHA (13, 19, 20, 29, 30, 35, 41, 42). Un estudio comparaba cranberry con blueberry y fresa (29).

En cuanto al resto de estudios incluidos, el 20% eran *in vivo* (5 estudios), de los cuales 4 fueron ensayos clínicos (31, 32, 46, 47) y 1 desarrollado en animales (30), los que tuvieron una duración entre 4 días a un mes y medio. De los 4 ensayos clínicos, 1 evaluó uva (31), 2 cranberry (30, 47) y 1 cereza ácida (32). En estos estudios se incluyeron niños y adolescentes entre 8 y 15 años, además, de adultos entre 18 y más de 30 años. El estudio desarrollado en animales fue realizado con ratas (30).

El 4% de los estudios fue *in situ* (1 estudio), el cual tuvo una duración de 2 horas, evaluó uva y fue desarrollado en humanos voluntarios (33).

El 92% de los estudios (23 estudios) reportaron un efecto positivo de los berries y su efecto como potencial agente anticariogénico. Mientras que el 8% restante, que corresponden a 2 estudios *in vivo*, no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al efecto sobre caries o sus variables (31).

Tabla 2. Resumen de resultados de Análisis cualitativo de los artículos seleccionados, con diseño de estudio

Estudio	Diseño	Sujetos de análisis	Número de sujetos incluidos	Duración	Berry incluido/ presentación	Grupos de estudio (control/experimenta I)	Resultados (outcomes)	Conclusiones
Pavan et al. 2011 (34)	<i>In vitro</i>	40 bloques de dentina (dientes humanos)	No aplica	18 días	Uva/ extracto	A) Control: Agua B) GSE 6,5% C) NaF 1000 ppm D)GSE 6,5%+ NaF 1000ppm	Perdida de mineral: B < A, C y D Profundidad de la lesión: B<A; A< C y D	GSE disminuye tasa de desmineralización de dentina radicular. Es una alternativa para prevenir CR. GSE aumenta la remineralización asociado o no a F
Kim et al. 2001 (35)		24 pocillos con discos de HA		4 días	Cranberry / solución bioactivos	A) Control: Vehículo B) CranFlav (combinación de PACs DP4 y DP9+ miricetina)	Efecto en composición y estructura de biofilm: B > A pH oral: B > A	CranFlav altera cambios bioquímicos y ecológicos asociados con el desarrollo de biofilm cariogénico
Philip et al. 2019 (20)		24 pocillos con discos de HA		12 horas	Cranberry / extracto	A) Control: Solución salina tamponada B) 500 µg/ mL de extracto de cranberry	Producción de ácido: B<A Efecto en estructura y biomasa de biofilm: B>A Efecto en bacterias cariogénicas: B > A	Extracto de cranberry disminuyó el volumen de biofilms, la acidogenicidad y recuento bacteriano
Silva et al. 2020 (36)		90 bloques (45 de esmalte y 45 de dentina bovina)		8 días	Uva/ extracto	A) Sin tratamiento B.1) GSE 6,5% (en esmalte) B.2) GSE 6,5% (en dentina) C.1) F 1000ppm (en esmalte C.2) F 1000ppp (en dentina)	Potencial preventivo de caries: C.1> B.1; B.1 >A Dureza: C.1 > B.2> A	GSE inhibe la desmineralización de LCA tanto en el esmalte como en la dentina, pero de forma diferente en cada estructura y en menor escala en comparación con el fluoruro

Benjamin Shini et al 2012 (37)	<i>In vitro</i>	40 bloques de raíz (dientes humanos)	No aplica	8 días	Uva/ extracto	A) Agua desionizada B) GSE al 6,5% C) CaGP 0.17% con NaF 220 ppm D) Grupo 0.5% CaGP	ROD: B>C, D y A, lo que implica mayor grado de remineralización	GSE promueve la remineralización de las lesiones de caries de raíz artificial
Jawale Ketaki et al. 2017 (38)		20 bloques de raíz (dientes humanos)		8 días	Uva/ extracto	A) Sin tratamiento B) GSE 6,5% D) CPP-ACP E) 0.5% CaGP	Profundidad de LC: B< A, D y E, presentando una banda de precipitación de mineral más grande	GSE afecta positivamente los procesos de desmineralización y / o remineralización de las LCA.
Khaddam et al.2014 (39)		Premolares humanos		7 días	Uva/ extracto	A) Control: B) GSE (0.2% p / v) C) AmF (20% p/v) D) Enjuague bucal que contiene GSE y AmF E) NaF (0.15 mg.ml) F) PBS, G) Digluconato de CHX H) Cloruro de zinc (ZnCl).	Inhibición de MMP-3: D > C > B > E, F, G, H y A	GSE solo o combinado con AmF (enjuague evaluado), limita la degradación de MMP-3. Esta asociación puede ser prometedora para prevenir la progresión de la caries en dentina.
Xie et al. 2008 (40)		45 bloques de raíz (dientes humanos)		8 días	Uva/ extracto	A) agua desionizada B) GSE 6,5% C) NaF 1000 ppm	Microdureza: B y C > A. ROD: C > B > A B muestra tejido menos poroso.	GSE afecta positivamente los procesos de desmineralización y remineralización de las LCR, con un mecanismo diferente al F. GSE puede ser un agente natural promotor para la terapia no invasiva de caries de raíz.
Koo et al. 2005 (41)		24 pocillos con Perlas de HA recubiertas con sHA		5 días	Cranberry / jugo	A) Control B.1) Cranberry 6,25% B.2) Cranberry 12,5% B.3) Cranberry 25%	Inhibición GTF B, C y D: B.1, B.2, B.3> A Efecto en biomasa y acidogenicidad: B.1> B.2, B.3> A El tratamiento fue más efectivo previo a la formación de biofilm.	El jugo de cranberry produce inhibición efectiva de GTF B y C, bloqueo de la adherencia bacteriana mediada por glucanos de superficie y reducción de <i>S. mutans</i> desarrollo de biopelículas, acidogenicidad y su contenido insoluble de glucano.

Gregoire, AP Singh, N. Vorsa and H. Koo. 2007. (19)	<i>In vitro</i>	24 pocillos con Perlas de HA recubiertas con sHA	No aplica	80 minutos	Cranberry / compuestos activos	A) Control B) Quercetina C) Quercetina 3-glucosido D) Quercetina-3-galactosido E) Quercetina-3-arabinofurasonida F) Quercetina-3-ramnosido G) Miricetina H) Miricetina-3-ramnosido I) Epicatecina J) Procianidina A2 K) Ácido clorogénico	Síntesis de glucanos por GTF: B, C, D, E, F, G, J, K < A, H, I Combinación E+J mejor efecto en inhibición enzimática. Todos menos A irrumpen la caída del pH, sin afectar la viabilidad bacteriana.	Los flavonoides específicos de cranberries exhiben actividad biológica estadísticamente significativa pero moderada contra <i>S. mutans</i> . La actividad biológica de los extractos de arándano puede ser el resultado de la compleja mezcla de flavonoides en lugar de un único compuesto activo.
Koo et al. 2010 (30)		24 pocillos con discos de HA		5 días	Cranberry / compuestos activos	A) Etanol B) PAC 1,5 mg C) F 250 ppm	Efecto en biomasa y los polisacáridos insolubles extracelulares: B, C > A. Acidogenicidad del biofilm: B, C > A	PAC de cranberry reducen la formación de biofilm de <i>S. mutans</i> en el desarrollo de caries in vitro, esto puede atribuirse a la presencia de dímeros y oligómeros de tipo A bioactivos específicos.
Duarte et al. 2006 (13)		24 pocillos con Perlas de HA recubiertas con sHA		5 días	Cranberry / extracto	A) Control B) extracto de cranberry C) PAC D) FLAV E) A F) PAC 1 A G) PAC 1 FLAV H) A 1 FLAV, I) PAC 1 A 1 FLAV	Inhibición de GTF B y C: B > G > H > C, D > I > F > E > A B y C disminuyeron la acidificación.	PAC y FLAV son los componentes activos del arándano contra <i>S. mutans</i> .

Philip et al. 2018 (29)	In vitro	24 pocillos con discos de HA recubiertos con sHA	No aplica	1 día	Cranberry Blueberry Fresa/ extractos	A) Control B) extracto de cranberry C) extracto de blueberry D) extracto de fresa E) oronferol (combinación de los 3 extractos) F) CHX	Actividad metabólica, producción de ácido y arquitectura estructural: E> B> F > C> D> A C produjo efectos solo en concentraciones muy altas.	El extracto de cranberry fue el más efectivo para interrumpir <i>S. mutans</i> sin afectar significativamente la viabilidad bacteriana. Esto sugiere un papel ecológico potencial como agente no bactericida capaz de modular la patogenicidad del biofilm cariogénico.
Akira et al. 2012 (28)		24 pocillos con perlas de HA recubiertas con sHA		1 día	Uva/ fracción fenólica	A) Control B) Jugo de orujo de vitis cognitae C) Fracción fenólica de Vitis cognitae C.1) Fracción fenólica de Vitis cognitae 25 µg/ml C.2) Fracción fenólica de Vitis cognitae 125 µg/ml C.3) Fracción fenólica de Vitis cognitae 250 µg/ml D) Té verde	Adhesión de <i>S. mutans</i> y formación de biofilm: C < D < B < A Inhibición de actividad de GTF B, C y D: C.3>C.2>C.1 El pH de todos los cultivos analizados no cambió significativamente.	Orujo de vitis cognitae como aditivo alimentario podría reducir la caries al inhibir la adhesión a la superficie del diente y la síntesis de glucano soluble mediada por Gtf D
Philip et al. 2018 (42)		24 pocillos con discos de HA recubiertos con sHA	No aplica	1 día	Cranberry / extracto	A) Control B.1) extracto de cranberry 125 µg / mL B.2) extracto de cranberry 250 µg / mL B.3) extracto de cranberry 500 µg / mL B.4) extracto de cranberry 1000 µg / mL	Acidogenicidad: B.4> B.3> B.2> B.1> A Actividad metabólica bacteriana: B.4> B.3> B.2> B.1> A	El extracto de cranberry inhibió las propiedades de virulencia cariogénica de <i>S. mutans-C. albicans</i>
Mirkarimi et al. 2013 (43)		Incisivos primarios humanos		4 días	Uva/ extracto	A) agua destilada B) GSE 12,5%	Microdureza de esmalte: B>A. B presenta esmalte con depósitos de complejos insolubles	GSE mejoró el proceso de remineralización en lesiones de esmalte artificial de dientes primarios

Nagi et al. 2020 (44)	In vitro	30 incisivos humanos		8 días	Uva/ extracto	A) NaF 1450 ppm B.1) GSE 6% B.2) GSE 10%	Remineralización: A> B.2< B.1 B.1 muestra oclusión de las porosidades en la superficie del esmalte y precipitados de pequeño tamaño. B.2, muestra depósitos de recubrimiento complejos insolubles en la superficie.	GSE tiene efectos positivos sobre el proceso de remineralización del esmalte blanqueado.
Zhao et al. 2012 (45)		72 bloques de incisivos bovinos		1 día	Uva/ extracto	A) Vehículo B) GSE 1 mg / ml C) GSE 2 mg / ml D) GSE 3 mg/ ml E) NaF 10 ppm D) sin tratamiento	Profundidad de la lesión de caries: E< C < D < A, B y C	El GSE dependiendo de la dosis inhibe (in vitro) la formación de caries en el esmalte debido a su capacidad para suprimir el crecimiento de <i>S. mutans</i> y la formación de biofilm.
Cheng-fang et al. 2013 (21)		45 bloques de dentina humana		15 días	Uva/ extracto	A) GSE ácida 5% B) GSE ácida 10% C) GSE ácida 15% D) GSE neutralizada 5% E) GSE neutralizada 10% F) GSE neutralizada 15% G) NaF 1000 ppm H) SBF Control vacío I) Sin tratamiento	Microdureza en dentina después de 7 días: G > C > B > D > A > H > E > F Microdureza en dentina después de 15 días: G > C > D > B > A > H > E > F	La biomodificación transitoria de GSE, promueve la remineralización en la superficie de la dentina desmineralizada, esto fue influenciado por la concentración y el pH del preacondicionador. El preacondicionador GSE ácido de 15%, presentó los mejores resultados, y esto puede atribuirse a su alto contenido polifenólico
Mishra et al. 2019 (31)	Estudio clínico aleatorizado	Escolares entre 8-15 años	80/80	31 días	Uva/ enjuague	A) CHX B) P. granatum C) T. chebula D) Vitis vinífera	Recuento de <i>S. mutan</i> : B > C, D > A pH y capacidad buffer presentan valores	V. vinífera había mostrado la menor reducción de la placa debido a sus propiedades antioxidantes y fitoquímicas. Al contrario P.

	doble ciego						similares en todos los grupos. Niños relataron sabor amargo de D.	granatum había demostrado una mejor eficacia y sustantividad.
Gupta et al. 2016 (46)	<i>In vivo</i> , estudio aleatorizado	Niños entre 9 y 12 años	20/20	30 días	Cranberry / jugo	A) agua destilada B) enjuague de NMD de cranberry	Recuento de <i>S. mutans</i> : B > A Acumulo de biofilm dental: B < A	El extracto de cranberry de alto peso molecular en el enjuague bucal tiene un potencial significativo para reducir los recuentos de <i>Streptococcus</i> en el entorno oral.
Koo et al. 2010 (30)	<i>In vivo</i>	Ratas 21 días	48/48	5 semanas	Cranberry / compuestos activos	A) Etanol B) PAC 1,5 mg C) F 250 ppm	Incidencia de caries: C > B > A Severidad de lesión de caries en superficie lisa: C < B < A Severidad de lesión de caries en surco C < B < A	PAC de cranberry reducen la formación de biofilm de <i>S. mutans</i> en el desarrollo de caries in vitro, esto puede atribuirse a la presencia de dímeros y oligómeros de tipo A bioactivos específicos.
Homoki et al. 2018 (32)	<i>In vivo</i> (estudio piloto)	Niños 12 años (11♀ y 12♂), jóvenes 18-20 años (20♀ y 5♂) Adultos +30 (14♀ y 9♂)	70/70	4 días	Cereza ácida / extracto	A) Chicle normal B) Chicle con extracto de cereza ácida	Crecimiento de <i>S. mutans</i> : B < A Alcanzaron el valor bajo de reposo después de 20 minutos.	El chicle que contiene extracto de cereza agria inhibió la enzima α -amilasa en saliva humana retrasando la degradación del almidón en la cavidad oral. Además, previno el crecimiento de <i>S. mutans</i> .
Philip et al. 2019 (47)	Estudio controlado aleatorizado	Humanos mayores de 10 años	106/71	6 semanas	Cranberry / pasta	A) Pasta de F 1100 ppm B) Pasta con CPP-ACP 10% C) Pasta con CPP-ACP 10% y extracto de cranberries 0,25%	Efecto en biofilm cariogénico: C > B > A Efecto en biofilm asociado a salud: C > B > A	Los dentífricos que contienen CPP-ACP y extractos de arándano ricos en polifenoles pueden influir en un cambio de nivel de especie en la ecología del microbioma oral, lo que resulta en una comunidad

								microbiana menos asociada con la caries dental
Hannig et al. 2009 (33)	<i>In situ</i>	6 humanos voluntarios	6/6	120 minutos	Uva/vino, jugo	A) control B) Vino rojo C) jugo de uva D) Té negro E) té verde	Reducción de bacterias orales: B > E > D > C > A.	Los enjuagues con ciertas bebidas polifenólicas y el consumo de estos alimentos pueden contribuir a la prevención de enfermedades inducidas por biofilm en la cavidad oral.

GSE: semilla de uva; NaF: fluoruro de sodio; CR: caries radicular; F: fluoruro; HA: hidroxiapatita; LCA: lesiones cariosas artificiales; MMP-3: metaloproteinas 3; ROD: densidad óptica relativa; LC: Lesiones cariosas; AmF: Flúor de amina; sHA: saliva humana clarificada; PAC: proantocianidinas; FLAV: flavonoides; A: antocianidina; CHX: clorhexidina; LD: profundidad de la lesión; resultados estadísticamente significativos; resultados no estadísticamente significativo; representa estudios *in vitro*; representa estudios *in vivo*; representa estudio *in situ*.

5.3. Análisis de riesgo de sesgo

En la Figura 2 se resume el análisis de riesgo de sesgo, según los 5 dominios analizados. Al analizar la calidad de cada estudio, se observó que un 12% presentaba alto riesgo de sesgo, el otro 12% presenta bajo riesgo (3 estudios *in vitro*) y, un 76% era de un moderado riesgo de sesgo, principalmente estudios *in vitro*.

Estudio	Identificación de sustancia	Descripción del sistema de prueba	Descripción del diseño	Documentación de resultados	Posibilidad de repetir diseño o datos
Pavan et al. 2011 (34)	-	●	+	+	+
Kim et al. 2001 (35)	●	●	-	+	●
Philip et al. 2019 (20)	+	+	●	●	+
Silva et al. 2020 (36)	●	●	●	+	+
Benjamin et al 2012 (37)	+	●	●	●	+
Jawale et al. 2017 (38)	●	+	●	+	+
Khaddam et al.2014 (39)	-	+	+	+	+
Xie et al. 2008 (40)	+	+	●	+	+
Koo et al. 2005 (41)	+	+	●	+	+
Gregoire et al. 2007. (19)	●	+	-	+	●
Koo et al. 2010 (30)	●	+	+	+	+
Duarte et al. 2006 (13)	+	+	-	+	+
Philip et al. 2019 (29)	+	+	+	+	+
Akira et al. 2012 (28)	+	+	●	●	+
Philip et al. 2018 (42)	●	+	●	+	+
Mirkarimi et al. 2013 (43)	-	●	●	+	●
Nagi et al. 2020 (44)	●	●	-	+	●
Zhao et al. 2012 (45)	●	●	+	+	+
Cheng- fang et al.2013 (21)	●	●	+	+	+
Mishra et al. 2019 (31)	●	●	●	+	●
Gupta et al. 2016 (46)	+	●	●	+	●
Koo et al. 2010 (30)	+	●	-	+	+
Homoki et al. 2018 (32)	-	-	●	+	●
Philip et al. 2019 (47)	-	●	●	+	+
Haming et al. 2009 (33)	-	●	●	+	+

Figura 2. Resumen riesgo de sesgo. Resumen de análisis de riesgo de sesgo de estudios seleccionados, en donde ● representa alto riesgo, ● moderado riesgo y bajo riesgo de sesgo. □ Representa estudios *in vitro*, □ estudios *in vivo* y □ estudio *in situ*.

En la Figura 3, se muestra un análisis global del riesgo de sesgo del conjunto de estudios. Aproximadamente el 25% de los estudios presentaron alto riesgo de sesgo en la identificación del berry a evaluar (identificación de sustancia) y en la descripción del diseño. Un 50% presentaba un riesgo moderado o “incierto” en estas mismas categorías, con un 40% y 56% respectivamente, asimismo en la categoría descripción del sistema de prueba, con un 52%. En general se detectó un bajo riesgo de sesgo en la documentación de los resultados (88% de los artículos) y la posibilidad de repetir el diseño del estudio (72%).

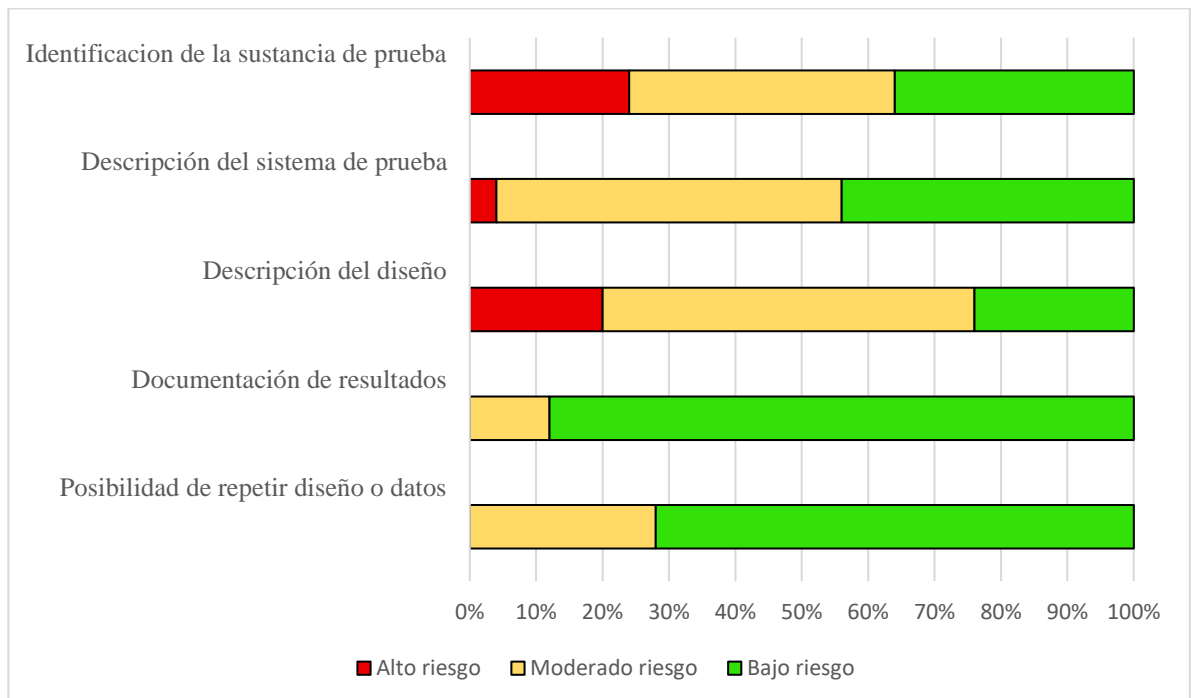


Figura 3. Resumen de riesgo de sesgo. Principales problemas encontrados en el análisis de riesgo de sesgo, descritas porcentualmente, en donde ■ indica alto riesgo, ■ bajo riesgo de sesgo y ■ moderado o “incierto” riesgo de sesgo.

5.4. Análisis cuantitativo de estudios

Dada la alta heterogeneidad de los estudios, no fue posible realizar un metaanálisis. Las principales diferencias se dieron por no existir homogeneidad en la intervención ya que se evaluaron distintos tipos de berries como la uva, cranberry, cereza ácida, blueberry y fresa. Además, se utilizaron diferentes concentraciones o formatos, en donde destacan los extractos, vino o jugos.

6. DISCUSIÓN

Esta revisión es la primera en estudiar a los berries como un grupo de frutos con potencial efecto anticariogénico. Los estudios previos han abordado individualmente cada fruta (cranberry, blueberry, cereza ácida, uva y fresa). La data de los estudios es relativamente reciente, desde el año 2001, lo que sugiere un interés creciente por el conocimiento y la futura utilización de estos potenciales efectos. La mayor parte de los estudios se ha centrado en la uva. Los resultados de estos estudios sugieren un gran potencial remineralizante, tanto para esmalte, como para dentina, además de suprimir el crecimiento de *S. mutans* y alterar la adhesión a la superficie del diente. El resto de los artículos analizaron el cranberry, evidenciando un efecto principalmente sobre la agregación y adherencia bacteriana. Solo un estudio se centró en la cereza ácida (32), demostrando inhibición de amilasa salival y disminución del crecimiento bacteriano. La mayor parte de los estudios (76%) son *in vitro* y solo un 20% *in vivo*. Lo anterior obliga a considerar estos resultados como evidencia preliminar sobre el potencial efecto anticaries de los berries, que no permite su escalamiento a una recomendación clínica.

La metodología en el diseño de los estudios no es similar, ya que si bien, es posible agruparlos de acuerdo a los frutos utilizados, estos difieren en tiempos de exposición desde 120 minutos (33) hasta 6 semanas (47), en los controles ocupados como clorhexidina (29, 31, 39), fluoruros (21, 30, 34, 37, 44, 45, 47), entre otros; y las presentaciones escogidas como los son el enjuague (31), extracto (34-45), jugos (33, 41, 46), dentífricos (47) y chicle (32). Dado lo anterior, es recomendable estandarizar la sistemática de los estudios futuros, para hacerlos comparables. Las similitudes de los estudios corresponden en algunos casos a las concentraciones, siendo el extracto de semilla de uva el más representativo a una concentración de 6,5% (34, 36-40, 43, 44, 46); además, de los tejidos en donde se llevaron a cabo los estudios, siendo estos, dientes humanos (34, 36-40, 43, 44, 46) o bovinos (45) y perlas o discos de HA (13, 19, 20, 28, 29, 30, 35, 41, 42).

La característica en común que poseen los berries, es la presencia de altos contenidos de polifenoles en su composición. La literatura indica que los polifenoles son los responsables de otorgar propiedades anticariogénicas (6), pues interfieren en los microorganismos siendo capaces de alterar sus propiedades proliferativas y adhesivas. Además, las proantocianidinas

no solo poseen propiedades antioxidantes(48), sino que evitan la desmineralización y promueven la remineralización de los tejidos duros dentales (45).

Uno de los berries más estudiados es la uva, particularmente la semilla (GSE, por su sigla en inglés) y su formato extracto rico en proantocianidinas (PA), en concentraciones que van desde 5% hasta 15% (21), siendo 6,5% la concentración más utilizada por distintos estudios (Tabla 2). Además de las propiedades antibacterianas descritas en esta RSL (Tabla 2), destaca su efecto limitador de la acción de MMP-3 sobre la desorganización de la matriz dentinaria (39) y su potencial efecto remineralizante. Sin embargo, la sustentividad y los mecanismos involucrados aún no han sido esclarecidos.

Se ha especulado que GSE mantiene la integridad de la matriz orgánica en la dentina (34), modificando el colágeno dentinario con la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos amina, carboxilo e hidroxilo fenólico entre PA y colágeno (49). De hecho, uno de los estudios incluidos (43) reportó que GSE favoreció el proceso de remineralización de lesiones en esmalte artificial de dientes temporales y por lo tanto, podría considerarse un agente natural eficaz en odontología no invasiva, convirtiéndolo en un agente remineralizante natural prometedor. Asimismo, otro estudio evaluó la posibilidad de remineralizar la superficie de esmalte blanqueado mediante un suministro de iones de calcio y fosfato, a partir de una fuente externa con polifenoles como catequina, el cual es un eliminador de radicales libres necesario para la absorción de calcio. Además, la biomodificación transitoria de GSE es capaz de promover la remineralización (principalmente cristales de HA) en la superficie de la dentina desmineralizada grabada con ácido (21).

Al estudiar la remineralización de caries radicular con GSE, se observó que el uso combinado de este extracto con fluoruro, no logró promover una mayor deposición de minerales en comparación con la aplicación únicamente de fluoruro, especulándose que existe menor cantidad de flúor libre en la solución de GSE (34). Por lo tanto, la remineralización producida por GSE ocurre de forma diferente en cada estructura dentaria y en menor grado, comparándolo con fluoruro (36).

La posibilidad de *S. mutans* para inducir la caries dental proviene en gran medida de su capacidad para sinterizar glucanos solubles en agua (50). Esta propiedad cariogénica depende

de la expresión de glucosiltransferasas (GTFs), en donde *S. mutans* produce 3 tipos (GTF B, GTF C y GTF D) esenciales para el establecimiento de una matriz que promueve la conexión de bacterias y su adherencia a las superficies de los dientes, permitiendo la formación de biopelículas de alta densidad (51). El extracto de cranberry rico en polifenoles ha demostrado tener efectos inhibitorios contra *S. mutans* y enzimas glucosiltransferasa (Gtf), al mismo tiempo interrumpe la arquitectura estructural del biofilm, disminuyendo la producción de ácidos y produciendo la inhibición de la actividad de F-ATPasa de translocación de protones (13).

Un ensayo clínico controlado randomizado (47) combinó extracto de cranberries con CPP-ACP, evidenciando una disminución de especies bacterianas cariogénicas, sin embargo, sus datos no fueron estadísticamente significativos, pudiendo deberse a la baja concentración utilizada del extracto. Igualmente, pueden afectar la adhesión microbiana en la superficie de los dientes colonizados por el biofilm dental. El extracto de cranberry, en altas concentraciones, es rico en proantocianidina A2 (PAC), la cual posee dos funciones dependiendo de su peso molecular (PM). Así, a bajo PM inhibe directamente las enzimas glucolíticas intracelulares, y a alto PM pueden tener efectos nocivos sobre los componentes de la membrana de la vía glucolítica (20). Koo et al. (30) demostró en ratas que el tratamiento con extracto de PAC no solo es tan efectivo como el fluoruro (control positivo), si no que ambos se pueden potenciar para reducir el desarrollo de caries.

Con respecto a cereza ácida, el estudio incluido (32) reveló que esta inhibe la enzima α -amilasa y reduce el crecimiento de *S. mutans*. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, este fruto solo ha sido estudiado en una investigación, por lo que es necesario evaluarlo nuevamente en distintas presentaciones y concentraciones para comprobar su efectividad.

Tomados en su conjunto, los estudios revisados permiten concluir que GSE de la uva podría ser una alternativa con potencial eficacia para complementar el manejo actual de caries, pudiendo incorporarse en pastas dentales, barniz o enjuagues, asemejándose a las presentaciones del fluoruro o como suplemento. Pese a la probada y bien documentada eficacia de los fluoruros en el manejo preventivo y terapéutico en caries, algunos berries, en particular GSE podría constituir una alternativa mejor aceptada, especialmente en aquellas personas reacias a la aplicación de fluoruros. Por otra parte, el extracto de cranberry no afecta

la viabilidad bacteriana, por lo que podría ser utilizado para reducir la virulencia bacteriana en caries, sin alterar el equilibrio microbiano, en línea con las concepciones sobre la naturaleza ecológica (disbiosis) de la enfermedad de caries. Dada la naturaleza experimental e insuficiente sobre el potencial anticaries de los berries, no es posible recomendar su uso a nivel individual o comunitario. Estos hallazgos garantizan futuras investigaciones, idealmente clínicas, que permitan generar evidencia sobre la eficacia y nuevos estudios que dilucidan los mecanismos moleculares involucrados en su efecto contra la caries.

7. REFERENCIAS

1. Machiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7-14. doi: 10.1159/000503309.
2. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015;94(5):650-8. doi: 10.1177/0022034515573272.
3. Giacaman RA. Sugars and beyond. The role of sugars and the other nutrients and their potential impact on caries. *Oral Dis.* 2018;24(7):1185-97. doi: 10.1111/odi.12778.
4. Cheng L, Li J, He L, Zhou X. Natural products and caries prevention. *Caries Res.* 2015;49 Suppl 1:38-45. doi: 10.1159/000377734.
5. Slobodníková L, Fialová S, Rendeková K, Kováč J, Mučaji P. Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols. *Molecules.* 2016;21(12). doi: 10.3390/molecules21121717.
6. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules.* 2011;16(2):1486-507. doi: 10.3390/molecules16021486.
7. Bhattacharya A, Sood P, Citovsky V. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Mol Plant Pathol.* 2010;11(5):705-19. doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00625.x.
8. Borchardt J, Wyse D, Sheaffer C, Kauppi K, Fulcher R, Ehlke N, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal Of Medicinal Plants Research.* 2008;2:81-93.
9. Bunte K, Hensel A, Beikler T. Polyphenols in the prevention and treatment of periodontal disease: A systematic review of in vivo, ex vivo and in vitro studies. *Fitoterapia.* 2019;132:30-9. doi: 10.1016/j.fitote.2018.11.012.
10. Bowden GHW. [17] Controlled environment model for accumulation of biofilms of oral bacteria. *Methods in Enzymology.* 310: Academic Press; 1999. p. 216-24.

11. Hattori M, Kusumoto IT, Namba T, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1990;38(3):717-20. doi: 10.1248/cpb.38.717.
12. Steinberg D, Feldman M, Ofek I, Weiss EI. Effect of a high-molecular-weight component of cranberry on constituents of dental biofilm. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(1):86-9. doi: 10.1093/jac/dkh254.
13. Duarte S, Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Schaich K, Bowen WH, et al. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. *FEMS Microbiology Letters*. 2006;257(1):50-6. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00147.x.
14. Suyama E, Tamura T, Ozawa T, Suzuki A, Iijima Y, Saito T. Remineralization and acid resistance of enamel lesions after chewing gum containing fluoride extracted from green tea. *Aust Dent J*. 2011;56(4):394-400. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01359.x.
15. Seeram NP. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem*. 2008;56(3):627-9. doi: 10.1021/jf071988k.
16. Seeram N, Heber D. Impact of Berry Phytochemicals on Human Health: Effects beyond Antioxidation. 9562007. p. 326-36.
17. Slatnar A, Jakopic J, Stampar F, Veberic R, Jamnik P. The effect of bioactive compounds on in vitro and in vivo antioxidant activity of different berry juices. *PLoS One*. 2012;7(10):e47880. doi: 10.1371/journal.pone.0047880.
18. Anastasiadi M, Pratsinis H, Kletsas D, Skaltsounis A-L, Haroutounian S. Bioactive non-coloured polyphenols content of grapes, wines and vinification by-products: Evaluation of the antioxidant activities of their extracts. *Food Research International*. 2010;43:805-13. doi: 10.1016/j.foodres.2009.11.017.
19. Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Koo H. Influence of cranberry phenolics on glucan synthesis by glucosyltransferases and *Streptococcus mutans* acidogenicity. *J Appl Microbiol*. 2007;103(5):1960-8. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03441.x.
20. Philip N, Bandara H, Leishman SJ, Walsh LJ. Effect of polyphenol-rich cranberry extracts on cariogenic biofilm properties and microbial composition of polymicrobial biofilms. *Arch Oral Biol*. 2019;102:1-6. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.03.026.

21. Tang CF, Fang M, Liu RR, Dou Q, Chai ZG, Xiao YH, et al. The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: micromorphological and physical analyses. *Arch Oral Biol.* 2013;58(12):1769-76. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.09.007.
22. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Gherzi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *BMJ : British Medical Journal.* 2015;349:g7647. doi: 10.1136/bmj.g7647.
23. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 5.1.0 [updated March 2011]. 2020.
24. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Gherzi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews.* 2015;4(1):1. doi: 10.1186/2046-4053-4-1.
25. Da Q. Rayyan QCRI, the Systematic Reviews web app. 2020.
26. Schneider K, Schwarz M, Burkholder I, Kopp-Schneider A, Edler L, Kinsner-Ovaskainen A, et al. "ToxRTool", a new tool to assess the reliability of toxicological data. *Toxicol Lett.* 2009;189(2):138-44. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.05.013.
27. RevMan 2020 [05/08/2020]. Available from: <https://training.cochrane.org/online-learning/core-software-cochrane-reviews/revman>.
28. Yano A, Kikuchi S, Takahashi T, Kohama K, Yoshida Y. Inhibitory effects of the phenolic fraction from the pomace of *Vitis coignetiae* on biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.* 2012;57(6):711-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.001.
29. Philip N, Bandara H, Leishman SJ, Walsh LJ. Inhibitory effects of fruit berry extracts on *Streptococcus mutans* biofilms. *Eur J Oral Sci.* 2019;127(2):122-9. doi: 10.1111/eos.12602.
30. Koo H, Duarte S, Murata RM, Scott-Anne K, Gregoire S, Watson GE, et al. Influence of cranberry proanthocyanidins on formation of biofilms by *Streptococcus mutans* on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo. *Caries Res.* 2010;44(2):116-26. doi: 10.1159/000296306.
31. Mishra P, Marwah N, Agarwal N, Chaturvedi Y, Suohu T. Comparison of *Punica granatum*, *Terminalia chebula*, and *Vitis vinifera* Seed Extracts used as Mouthrinse on

Salivary Streptococcus mutans Levels in Children. *J Contemp Dent Pract.* 2019;20(8):920-7.

32. Homoki J, Gyémánt G, Balogh P, Stündl L, Bíró-Molnár P, Paholcsek M, et al. Sour cherry extract inhibits human salivary α -amylase and growth of *Streptococcus mutans* (a pilot clinical study). *Food Funct.* 2018;9(7):4008-16. doi: 10.1039/c8fo00064f.

33. Hannig C, Sorg J, Spitzmüller B, Hannig M, Al-Ahmad A. Polyphenolic beverages reduce initial bacterial adherence to enamel in situ. *J Dent.* 2009;37(7):560-6. doi: 10.1016/j.jdent.2009.03.017.

34. Pavan S, Xie Q, Hara AT, Bedran-Russo AK. Biomimetic approach for root caries prevention using a proanthocyanidin-rich agent. *Caries Res.* 2011;45(5):443-7. doi: 10.1159/000330599.

35. Kim D, Hwang G, Liu Y, Wang Y, Singh AP, Vorsa N, et al. Cranberry Flavonoids Modulate Cariogenic Properties of Mixed-Species Biofilm through Exopolysaccharides-Matrix Disruption. *PLoS One.* 2015;10(12):e0145844. doi: 10.1371/journal.pone.0145844.

36. Silva AP, Gonçalves RS, Borges AF, Bedran-Russo AK, Shinohara MS. Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3):302-9. doi: 10.1590/1678-775720140304.

37. Benjamin S, Sharma R, Thomas SS, Nainan MT. Grape seed extract as a potential remineralizing agent: a comparative in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2012;13(4):425-30. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1162.

38. Jawale KD, Kamat SB, Patil JA, Nanjannawar GS, Chopade RV. Grape seed extract: An innovation in remineralization. *J Conserv Dent.* 2017;20(6):415-8. doi: 10.4103/jcd.jcd_287_16.

39. Khaddam M, Salmon B, Le Denmat D, Tjaderhane L, Menashi S, Chaussain C, et al. Grape seed extracts inhibit dentin matrix degradation by MMP-3. *Front Physiol.* 2014;5:425. doi: 10.3389/fphys.2014.00425.

40. Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent.* 2008;36(11):900-6. doi: 10.1016/j.jdent.2008.07.011.

41. Koo H, Nino de Guzman P, Schobel BD, Vacca Smith AV, Bowen WH. Influence of cranberry juice on glucan-mediated processes involved in *Streptococcus mutans* biofilm development. *Caries Res.* 2006;40(1):20-7. doi: 10.1159/000088901.
42. Philip N, Leishman SJ, Bandara H, Walsh LJ. Polyphenol-Rich Cranberry Extracts Modulate Virulence of *Streptococcus mutans*-*Candida albicans* Biofilms Implicated in the Pathogenesis of Early Childhood Caries. *Pediatr Dent.* 2019;41(1):56-62.
43. Mirkarimi M, Eskandarion S, Bargrizan M, Delazar A, Kharazifard MJ. Remineralization of artificial caries in primary teeth by grape seed extract: an in vitro study. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2013;7(4):206-10. doi: 10.5681/joddd.2013.033.
44. Nagi SM, Hassan SN, Abd El-Alim SH, Elmissiry MM. Remineralization potential of grape seed extract hydrogels on bleached enamel compared to fluoride gel: An in vitro study. *J Clin Exp Dent.* 2019;11(5):e401-e7. doi: 10.4317/jced.55556.
45. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. *J Dent.* 2014;42(8):1010-8. doi: 10.1016/j.jdent.2014.05.006.
46. Gupta A, Bansal K, Marwaha M. Effect of high-molecular-weight component of Cranberry on plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts in children: an in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2015;33(2):128-33. doi: 10.4103/0970-4388.155125.
47. Philip N, Leishman SJ, Bandara H, Healey DL, Walsh LJ. Randomized Controlled Study to Evaluate Microbial Ecological Effects of CPP-ACP and Cranberry on Dental Plaque. *JDR Clin Trans Res.* 2020;5(2):118-26. doi: 10.1177/2380084419859871.
48. Rice-Evans CA, Miller NJ. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem Soc Trans.* 1996;24(3):790-5. doi: 10.1042/bst0240790.
49. Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni ME. Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A.* 2003;65(1):118-24. doi: 10.1002/jbm.a.10460.
50. Yoo S, Murata RM, Duarte S. Antimicrobial traits of tea- and cranberry-derived polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 2011;45(4):327-35. doi: 10.1159/000329181.

51. Yamashita Y, Bowen WH, Burne RA, Kuramitsu HK. Role of the *Streptococcus mutans* gtf genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. *Infect Immun.* 1993 Sep;61(9):3811-7. doi: 10.1128/IAI.61.9.3811-3817.1993.