



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

*“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA
VS CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS”*

**Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del título
de Odontóloga**

AUTORA: SALAS ROMERO SAMANTHA SOLANGE

TUTOR: DR. JUAN PABLO JARAMILLO BURNEO

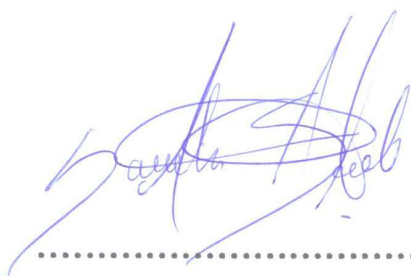
Quito, Diciembre 2017

©DERECHOS DE AUTOR

Yo, SALAS ROMERO SAMANTHA SOLANGE, en calidad de autora de la tesis realizada sobre “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans*”, autorizo a la Universidad Central Del Ecuador a hacer uso del contenido total o parcial que me pertenecen, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y de las demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

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



.....

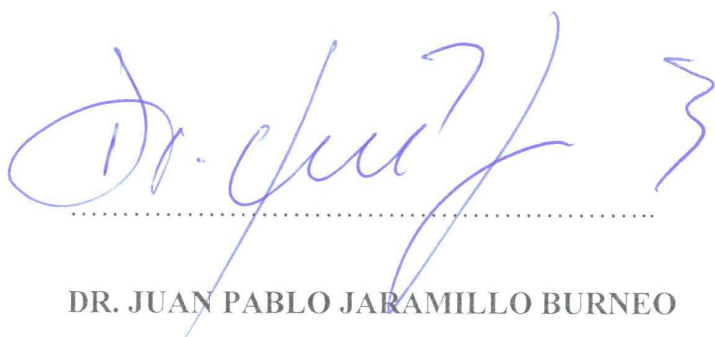
SALAS ROMERO SAMANTHA SOLANGE

1727681320

APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Juan Pablo Jaramillo Burneo en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, elaborado por: SAMANTHA SOLANGE SALAS ROMERO cuyo tema es: **“Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans*”**, previo a la obtención del título de Odontóloga: considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico y epistemológico, para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal examinador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito, a los 13 días del mes de noviembre de 2017.



DR. JUAN PABLO JARAMILLO BURNEO

DOCENTE – TUTOR

C.I. 1713048310.

DEDICATORIA

A Dios, ya que ha sido mi fortaleza durante este largo camino y me ha llenado de bendiciones para cumplir con una de mis mayores metas.

A mi madre Kathy, quien me ha brindado su apoyo incondicional y siempre me ha guiado por el camino del bien, apoyándome cada día, alentándome para seguir sin desvanecer , mi compañera, mi amiga, el mayor tesoro de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Mauricio y Kathy por ser mi apoyo durante estos cinco años y educarme con buenos valores para ser una persona ética en mi carrera.

A mi hermana Carla por ser motivo de admiración, por inspirarme cada día a ser mejor, quién supo guiarme y apoyarme en los momentos más difíciles de esta trayectoria.

A mi hermana Fernanda por brindarme sus consejos, por enseñarme a nunca dejarme vencer y que para todo existe una solución. Gracias hermana por regalarme la felicidad de ser tía de mi hermosa Martina.

A mi novio Sebastián por ser mi amigo, quien supo brindarme palabras de aliento cuando más lo necesitaba.

A la Universidad Central del Ecuador por darme la oportunidad de culminar mis estudios.

A la Facultad de Odontología, a sus docentes por compartir sus conocimientos y enseñanzas y así forjarme como excelente profesional y persona.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

©DERECHOS DE AUTOR.....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	14
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA.....	2
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2 FORMULACIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:.....	2
1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	4
1.5 HIPÓTESIS.....	5
1.5.1 Hipótesis principal.....	5
1.5.2 Hipótesis nula.....	5
CAPÍTULO II.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 ECOLOGÍA DE LA CAVIDAD ORAL.....	6
2.1.1 Microorganismos Orales.....	6

A) Taxonomía	8
B) Factores de Patogenicidad	9
C) Medios de cultivo del <i>Streptococcus mutans</i>	9
2.2. CARIES DENTAL	11
2.2.1 Definición	11
2.2.2 Etiopatogenia	11
2.3 ANTIMICROBIANOS ORALES	13
2.3.1 CLORHEXIDINA	13
2.3.1.1 Características	13
2.3.1.2 Usos terapéuticos	13
2.3.1.3 Efectos adversos	14
2.3.1.4 Mecanismo de acción	14
2.3.2 ACEITES ESENCIALES	14
2.3.2.1 Mecanismo de acción	15
2.3.2.3 Clasificación de los aceites esenciales	15
2.3.2.4 Métodos de extracción de los aceites esenciales	16
2.4 EFECTO ANTIBACTERIANO	17
2.4.1 Métodos para evaluar el efecto antibacteriano	17
2.4.1.1 Método de difusión	17
2.5 FITOTERAPIA	18
2.5.1 <i>Physalis peruviana</i>	19
2.5.1.1 Taxonomía y nombres comunes	19
2.5.1.2 Descripción botánica	20
2.5.1.3 Ecofisiología	20
2.5.1.4 Usos Medicinales	20
2.5.1.5 Usos en Odontología	21
2.5.1.6 Composición química y Actividad farmacológica del género <i>Physalis</i>	22

CAPÍTULO III	23
METODOLOGÍA.....	23
3.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	23
3.1.1 Experimental	23
3.1.2 In Vitro	23
3.1.3 Comparativo	23
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	23
A) Población.....	23
B) Selección y Tamaño de la Muestra	23
3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN	25
A) Criterios de inclusión.....	25
B) Criterios de exclusión	25
3.4 VARIABLES	26
A) Conceptualización de las variables	26
B) Operacionalización de las variables	27
C) Estandarización de las variables.....	28
3.5 MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.5.1 Obtención del aceite esencial de <i>Physalis peruviana</i>	28
3.5.1.1 Rendimiento del aceite esencial (RAE)	30
3.5.2 Medio de Cultivo.....	31
3.5.3 Compra y Almacenamiento de la cepa.....	32
3.5.4 Rotulación de las cajas Petri con Agar Muller Hinton con Agar sangre.....	34
3.5.5 Estándar de turbidez para la suspensión del inóculo	34
3.5.6 Colocación del aceite esencial en los discos en blanco.....	36
3.5.7 Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial frente a la cepa de <i>Staphylococcus mutans</i>	38
3.5.8 Eliminación y Manejo de desechos	41

3.5.9 Manejo y Recolección de datos.....	41
3.6 RECURSOS.....	42
3.6.1 Infraestructura	42
3.6.2 Recursos Humanos	42
3.6.3 Equipos, materiales, instrumentos y sustancias	42
CAPÍTULO IV	44
RESULTADOS	44
4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	45
A) Prueba de Normalidad.....	45
B) Pruebas No Paramétricas de Kruskal Wallis, Comparación entre sustancias. .	46
4.2 ANÁLISIS DESCRIPTIVO	47
4.3 ANÁLISIS COMPARATIVO	47
A) Prueba de Kruskal Wallis.....	48
4.4 ANÁLISIS SEGÚN DURAFFOURD	50
CAPÍTULO V.....	52
DISCUSIÓN.....	52
CAPÍTULO VI.....	54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFÍA	56
ANEXOS.....	61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Taxonomía del género <i>Streptococcus mutans</i>	9
Tabla 2: Clasificación taxonómica de <i>Physalis peruviana</i>	20
Tabla 3: Composición química y actividad farmacológica de las partes de la planta de <i>Physalis peruviana</i>	23
Tabla 4: Resultados de los halos de inhibición.....	45
Tabla 5: Pruebas de normalidad. Kolmogorov-Smirnov. Shapiro-Wilk.....	47
Tabla 6: Análisis Descriptivo.....	48
Tabla 7: Análisis Comparativo.....	48
Tabla 8: Prueba de Kruskal – Wallis para pruebas independientes.....	49
Tabla 9: Comparación por parejas de concentración.....	50
Tabla 10: Comparaciones entre concentraciones.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1: Agar Muller Hinton con sangre.....	11
Figura N°2: Factores de la lesión cariosa.....	13
Figura N°3: Método de arrastre con vapor.....	17
Figura N°4: Método de difusión.....	18
Figura N°5: Hoja de <i>Physalis peruviana</i>	21
Figura N°6: Lavado de hojas recolectadas para remover residuos.....	29
Figura N°7: Obtención del aceite esencial de <i>Physalis peruviana</i> mediante arrastre de vapor de agua.....	30
Figura N°8: Recolección de aceite esencial de <i>Physalis peruviana</i> al 25%, 50%, 75% y 100% dentro de envase de vidrio color ámbar.....	30
Figura N°9: Preparación del medio de cultivo Agar Muller Hinton con sangre.....	32
Figura N°10: Compra y Almacenamiento de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC® 35668™.....	33
Figura N°11: Activación de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC® 35668™.....	33
Figura N°12: Incubación de la cepa.....	34
Figura N°13: Preparación de la suspensión estandarizada del inóculo bacteriano.....	36
Figura N°14: Comprobación visual de la estandarización del inóculo bacteriano.....	36
Figura N°15: Inoculación de la cepa.....	37
Figura N°16: Colocación del aceite esencial a diferentes concentraciones en los discos en blanco.....	38
Figura N°17: Colocación de los discos en blanco embebidos con el aceite esencial en las cajas Petri.....	38
Figura N°18: Incubación de medios de cultivo con los discos en blanco embebidos con las sustancias de estudio en la jarra de Gaspak.....	38
Figura N°19: Halo de inhibición del control negativo.....	39
Figura N°20: Halo de inhibición de la clorhexidina.....	40
Figura N°21: Halo de inhibición del aceite esencial al 25%.....	40
Figura N°22: Halo de inhibición del aceite esencial al 50%.....	40
Figura N°23: Halo de inhibición del aceite esencial al 75%.....	41
Figura N°24: Halo de inhibición del aceite esencial al 100%.....	41
Figura N°25: Medición de halos de inhibición.....	41
Figura N°26: Eliminación y Manejo de desechos.....	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: <i>Certificado de elaboración del trabajo experimental</i>	61
Anexo 2: <i>Certificado de obtención del aceite esencial de <i>Physalis peruviana</i></i>	62
Anexo 3: <i>Compra de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC® 35668™ en Medibac</i>	63
Anexo 4: <i>Estado liofilizado de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC® 35668™</i>	64
Anexo 5: <i>Activación de la cepa de acuerdo a las normas del fabricante</i>	65
Anexo 6: <i>Certificado de esterilización del materia utilizado en el Laboratorio de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador</i>	66
Anexo 7: <i>Protocolo de bioseguridad para el manejo de desechos infecciosos</i>	67
Anexo 8: <i>Autorización para la eliminación de desechos infecciosos</i>	68
Anexo 9: <i>Certificado de resultados de análisis microbiológico</i>	69
Anexo 10: <i>Ficha de recolección de datos</i>	70
Anexo 11: <i>Carta de renuncia del trabajo estadístico</i>	71
Anexo 12: <i>Certificado de traducción oficial del resumen</i>	72
Anexo 13: <i>Certificado de aprobación del SEISH-UCE</i>	73
Anexo 14: <i>Aprobación del tema de investigación</i>	74

TEMA: “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans*”

RESUMEN

La medicina tradicional se ha venido utilizando en odontología por muchos años, debido a la necesidad de buscar nuevas alternativas naturales que sean más accesibles y que posean menos efectos colaterales, para prevenir y tratar enfermedades con la inhibición de microorganismos patógenos. La evidencia científica ha demostrado que el aceite esencial de *Physalis peruviana*, posee gran efecto inhibitorio contra bacterias Gram positivas. Entre ellas tenemos al *Streptococcus mutans*, que es responsable de una de las enfermedades con mayor prevalencia en salud pública, la caries dental, debido a su gran virulencia y patogenicidad. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), que se obtuvo mediante la técnica arrastre por vapor de agua, comparado con la clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™. Se utilizaron concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial, tomando como control positivo a la clorhexidina al 0.12% y control negativo al agua destilada. Se midió los halos de inhibición a las 24 y 48 horas de exposición; obteniendo resultados mediante pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis, que el aceite esencial de *Physalis peruviana* al 75% y 100% posee efecto antibacteriano, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.

PALABRAS CLAVES:

INHIBICIÓN/ VIRULENCIA / CLORHEXIDINA / *Physalis peruviana*/ *Streptococcus mutans*

TOPIC: “Antibacterial effect of *Physalis peruviana* essential oil versus chlorhexidine, on *Streptococcus mutans* strains”

ABSTRACT

Traditional medicine has been used for dentistry purposes for many years, due to the need to find new natural and accessible alternatives with less collateral effects, to prevent and treat certain diseases through the inhibition of pathogenic microorganisms. Scientific evidence has demonstrated that *Physalis peruviana* essential oil has a great inhibitory effect against Gram positive bacteria. Among the latter, we can find *Streptococcus mutans*, which is responsible for one of the diseases with the highest rate of prevalence in public health, namely dental cavities, due to its high virulence and pathogenicity. Hence, the objective of the present study was to determine the inhibitory effect of *Physalis peruviana* (Uvilla) essential oil, obtained through steam distillation technique, compared to chlorhexidine, on *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ strains. Concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% *Physalis Peruviana* essential oil were used, using 0.12% chlorhexidine as positive control and distilled water as negative control. Halos of inhibition were measured after 24 and 48 hours of exposure. Results were obtained through Kruskal Wallis non-parametric tests and showed that 75% y 100% *Physalis peruviana* essential oil have antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ strains.

KEY WORDS:

KEY WORDS: INHIBITION / VIRULENCE / PATHOGENICITY / CHLORHEXIDINE / *Physalis peruviana* / *Streptococcus mutans*/

Quito, October 16th 2017: I hereby CERTIFY that this is a faithful, complete and accurate translation to English from the original document listed below, originally written in Spanish.

Gabriela Flores Villacís
TRANSLATOR
0992641169

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante varios años se ha venido utilizando productos naturales, para combatir enfermedades bucales e inhibir la proliferación de bacterias presentes en la cavidad oral, lo menciona Kleinberg. ⁽²⁴⁾

Según Peredo et al ⁽¹⁶⁾, los aceites esenciales son productos naturales que poseen eficacia antibacteriana. La interrogante es saber ¿A qué concentración del aceite esencial tendrá un efecto antibacteriano?, ya que Huertas ⁽⁶⁸⁾ en su investigación señala que la eficacia antibacteriana depende del porcentaje de concentración del producto.

Franco ⁽³⁾ en su estudio menciona, que la planta de *Physalis peruviana* posee efecto antibacteriano, por lo que se ha querido comprobar dicho efecto sobre cepas de *Streptococcus mutans*, bacteria que en odontología causa uno de los mayores problemas a nivel de salud pública, la caries dental. Como menciona Duque ⁽⁵⁾ es necesario prevenir dicha enfermedad con agentes naturales, en consecuencia que nuestro Gold estándar, la clorhexidina, causa efectos secundarios como la tinción dentaria.

1.2 FORMULACIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Existirá efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), en concentraciones de 25%,50%,75% y 100%, comparado con la clorhexidina al 0.12% sobre a cepas de *Streptococcus mutans*?

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana*, vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ a diferentes concentraciones, a las 24 y 48 horas.

1.3.2 Objetivos específicos

- a. Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en una concentración del 25%, a las 24 y 48 horas.
- b. Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en una concentración del 50%, a las 24 y 48 horas.
- c. Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en una concentración del 75%, a las 24 y 48 horas.
- d. Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en una concentración del 100%, a las 24 y 48 horas.
- e. Identificar el efecto antibacteriano de la clorexhidina al 0.12%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, a las 24 y 48 horas.
- f. Comparar, a qué concentración del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), tendrá efecto antibacteriano, respecto a la clorhexidina al 0.12% frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, a las 24 y 48 horas.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Cardentey ⁽¹⁾ investigó, que la medicina tradicional posee innumerables beneficios al pasar de los años, un producto vegetal que ha generado gran controversia, es la *Physalis peruviana* (uvilla) por sus extractos y aceites esenciales que poseen propiedades antioxidantes, antibacterianas, nutritivas, anticancerígenas y antiinflamatorias, como indica Arroyo ⁽⁴¹⁾ en su estudio.

A pesar que la uvilla crece en gran cantidad por el clima de nuestro país y es sumamente económica como menciona Calvo ⁽²⁶⁾, existe poca información sobre esta planta en Ecuador como lo cita Ruilova et al ⁽²⁸⁾. Por lo que el objetivo de éste estudio, es determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Physalis peruviana* en diferentes concentraciones sobre cepas de *Streptococcus mutans*, ya que esta bacteria según Duque ⁽⁵⁾ es considerada el principal agente cariogénico de la cavidad oral; por ésta razón debemos incentivar a la comunidad a buscar otras alternativas naturales, que sean accesibles y asequibles en el Ecuador.

El método que se utilizó en el presente estudio, fue destilación por arrastre de vapor de agua para obtener el aceite esencial, puesto que es la única técnica autorizada por la Farmacopea Europea según Angulo ⁽²⁰⁾. Además se utilizó el aceite esencial de *Physalis peruviana* en concentraciones de 25% ,50%, 75%, y 100%, usando como control positivo la clorhexidina al 0.12% y control negativo agua destilada. Para detectar la sensibilidad se usó el método de Difusión de Kirby-Bauer.

La relevancia del estudio radica en buscar la concentración ideal del aceite esencial de *Physalis peruviana*, que nos permita obtener una nueva alternativa natural y económica, con la que no existan efectos adversos y nos ayude a inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, bacteria que altera el equilibrio de la salud oral como menciona Duque ⁽⁵⁾.

Con la presente investigación pretendemos obtener resultados significativos, ya que así podremos reemplazar a nuestro Gold Estándar, la clorhexidina, que produce efectos adversos como la pérdida del gusto, tinción dentaria. Por dicha razón estudios científicos han concluido que al usar sustancias naturales, disminuye los efectos adversos, como es el caso del aceite esencial de *Physalis peruviana* que posee sesquiterpenos y flavonoides, que le dan la capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias, como el *Streptococcus mutans*.

1.5 HIPÓTESIS

1.5.1 Hipótesis principal

El aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla), tendrá efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

1.5.2 Hipótesis nula

El aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla) no tendrá efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ECOLOGÍA DE LA CAVIDAD ORAL

Según Negroni ⁽⁵⁰⁾, la ecología oral se refiere a la estrecha interacción que existe entre los microorganismos y el medio ambiente, que para nosotros los odontólogos es considerado la cavidad oral. Se denomina hábitat, cuando empiezan a crecer y desarrollarse un microorganismo; al mismo tiempo podemos decir, que forman comunidades cuando varios microorganismos se desarrollan en un hábitat específico y éste a su vez junto con componentes abióticos forman un ecosistema. Los microorganismos al cumplir un papel funcional en su hábitat, están constituyendo un nicho ecológico. ^{(39), (50)}

En la cavidad oral habitan alrededor de 700 especies de bacterias, todas ellas junto al sistema inmune de la misma, logran un equilibrio importante para mantener la salud bucal, al presentarse un desequilibrio en esta interacción microorganismo-ambiente aparece la enfermedad. ⁽⁴⁰⁾

2.1.1 Microorganismos Orales

Los microorganismos, forman un conjunto de especímenes microscópicos que se encuentran agrupadas o solas y forman parte esencial de la vida, por lo que ayudan al reciclaje de oxígeno, carbono, hidrogeno y azufre, como lo menciona Carroll ⁽⁵⁸⁾ en la literatura.

La microbiota oral nativa, es muy importante para la salud de cada ser humano, lo menciona Bordoni³⁹. Cuando ocurre un desequilibrio de la flora no patógena, se ha confirmado que en ese instante comienza a desarrollarse la enfermedad ⁽⁴⁰⁾. Según Lamont ⁽³⁶⁾ la cavidad bucal posee un ecosistema capaz de brindar supervivencia a una gran diversidad de microorganismos, la mayoría de microorganismos de la cavidad oral pertenecen al grupo de bacterias ⁽¹²⁾.

Señala Lamont ⁽³⁶⁾, que existen dos grandes grupos de bacterias según su tinción Gram, son las Gram positivas y Gram negativas. Las bacterias Gram negativas a diferencia de las Gram positivas, poseen una pared externa que contiene proteínas y lipopolisacáridos es decir, estas bacterias poseen una estructura de mayor complejidad según Murray ⁽³⁴⁾. A continuación

nombraremos los distintos microorganismos que se encuentran en las diferentes partes de la cavidad oral:

- **Mucosa bucal**

En la mucosa bucal, como lo menciona Cruz ⁽⁴²⁾, en su gran mayoría son cocos Gram positivos anaerobios facultativos, predominantemente *Streptococcus viridans*. En la lengua encontramos *Micrococcus*, *Kocuria* y *Streptococcus viridans*. En la mucosa yugal se halla el *Streptococcus viridans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus salivarius*.

- **Superficie dentaria**

En las superficies dentarias varias investigaciones han concluido que se hallan predominantemente el género *Streptococcus*, además de encontrar *Campylobacter*, *Kingella*, *Granulicatella* y *Leptotrichia*. ⁽⁴²⁾ Según Higashida ⁽⁴³⁾ en hendiduras y fisuras podemos encontrar especies de *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*. En las superficies proximales Higashida ⁽⁴³⁾ ha identificado especies de *Actinomyces*, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*.

- **Surco Gingival**

En surco gingival predominan bacterias anaerobias, cocos Gram positivos y bacilos Gram positivos y Gram negativos. En pacientes que usan prótesis fijas principalmente habitan *Peptostreptococcus tetradius*, *Gemella morbillorum*, *Streptococcus constellatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Clostridium sp*, *Bifidobacterium*, y *Eubacterium aerofaciens*. En surcos gingivales enfermos, menores de 4mm de profundidad se han hallado según Cruz ⁽⁴²⁾. *Proteobacterias* principalmente *Gammaproteobacteriae*.

2.1.1.1 *Streptococcus mutans*

Según Ojeda ⁽⁶⁾, el *Streptococcus mutans*, es un coco Gram positivo dispuesto en cadena, catalasa negativo, fermentador de glucosa, sacarosa, fructosa, rafinosa, lactosa, manitol, inulina y salicina con producción de ácido láctico, acético, propiónico y fórmico, que ayudan a la desmineralización del diente, debido a que los ácidos producidos por dicha bacteria se dirigen hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando iones de hidronio, los cuales disuelven instantáneamente el esmalte dental, produciendo calcio y fosfato, elementos que se dirigen al exterior del esmalte produciendo la desmineralización, lo menciona Vásquez ⁽⁶⁾.

Además Ojeda ⁽⁶⁾ acota que es una bacteria no móvil, anaerobia facultativa, perteneciente al grupo *viridans*. Con capacidad de transformar un pH de 7 a 4.2 en 24 horas aproximadamente. Murray ⁽³⁴⁾ ha mencionado que para su correcto aislamiento e identificación, requiere de medios de cultivos enriquecidos con sangre.

A) Taxonomía

Dentro del género *Streptococcus mutans* según Lamont ⁽³⁶⁾ existen siete especies, pero sólo dos de ellas pertenecen al ser humano: el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. A su vez el *Streptococcus mutans* posee cuatro serotipos c, e, f y k de los cuales el serotipo c es el predominante en la cavidad oral ⁽⁶⁾. El *Streptococcus sobrinus* posee los serotipos d y g. Los animales poseen *Streptococcus rattus* con serotipo b, *Streptococcus ferus* y *macacae* de serotipo c y *Streptococcus downei* de serotipo h según García ⁽³⁷⁾.

Tabla 1: Taxonomía del género *Streptococcus mutans*

DOMINIO	Bacteria
FILO	Firmicutes
CLASE	Bacilos
ORDEN	Lactobacillales
FAMILIA	Streptococcaceae
GÉNERO	<i>Streptococcus</i>
ESPECIE	<i>Streptococcus mutans</i>

Fuente: García, 2004

Elaboración: Samantha Salas

B) Factores de Patogenicidad

El *Streptococcus mutans*, es una bacteria que presenta varios factores que inducen a la formación de caries, según Núñez ⁽³⁸⁾ estos son: Acidogenicidad, que es la capacidad del *Streptococcus* para obtener ácido láctico, como resultado de la fermentación de azúcares de la dieta y así desmineralizar el esmalte. Aciduricidad, que es la facultad de producir ácido aún en medios con pH bajo. Acidofilicidad, que es la destreza de tener alta resistencia a un medio con gran acidez, gracias a su capacidad de bombear protones fuera de la célula.

Las glucosiltransferasas (GTF), son enzimas sintetizadas por el *Streptococcus mutans* que forman glucanos libres a partir de la fermentación de la sacarosa. Gracias a los glucanos insolubles, el *Streptococcus mutans* se adhiere al diente y obtiene su nutrición, lo menciona Rocha ⁽³⁹⁾ en su estudio. El *Streptococcus mutans* tienen una gran capacidad de coagregación, ya que establecen uniones con distintas especies y con otros *Streptococcus*, fortaleciendo el biofilm dental ⁽⁶⁾.

C) Medios de cultivo del *Streptococcus mutans*

El medio de cultivo, es aquel que favorece al crecimiento, desarrollo y multiplicación de un determinado microorganismo in vitro, utilizado en su mayoría para estudios científicos. Un medio de cultivo debe contener nutrientes específicos, humedad correcta y estar estéril, para que pueda utilizarse en el laboratorio de manera idónea. La gran parte de medios de cultivo ya están liofilizados o deshidratados para un uso correcto. ⁽⁵⁰⁾

Según Negroni ⁽⁵⁰⁾, un medio de cultivo debe poseer agua destilada o desionizada, extractos de tejidos animales o vegetales, peptonas, que son de gran utilidad como fuente de carbono, hidratos de carbono como la glucosa, sacarosa o fructosa, líquidos corporales como sangre de procedencia animal o humana, sistemas amortiguadores para tener fósforo y mantener el pH. ⁽⁵¹⁾

Los medios de cultivo pueden clasificarse según su estado físico, tenemos el medio de cultivo sólido que se conoce comúnmente como agar, se usa en cajas Petri o tubos de ensayo. ⁽⁵⁰⁾ Existen medios de cultivo para microorganismos anaerobios, que deben realizarse sin presencia de oxígeno, para lo cual se puede utilizar jarras de anaerobiosis con generadores de gas, en la que se utiliza un sobre que contiene en su interior una tableta de borohidrógeno sódico y otra tableta de bicarbonato de sodio con ácido cítrico. En el interior de la jarra se

coloca: el sobre, 10 ml de agua, las cajas Petri inoculadas; posteriormente se procede a colocar el catalizador sobre la tapa cerrada herméticamente según Negroni ⁽⁵⁰⁾.

Para poder analizar un microorganismo, es necesario utilizar un medio de cultivo puro, en el que no intervengan otros microorganismos, por lo que se debe aislar una célula y apartar las demás y de esta manera cultivar bacterias de un solo espécimen como lo ha mencionado Carroll ⁽⁵⁸⁾.

Agar Muller Hinton con sangre

Figura N°1: Agar Muller Hinton con sangre



Fuente: Samantha Salas

Elaboración: Samantha Salas

Es un medio de cultivo, que ayuda a realizar pruebas de sensibilidad a distintos antimicrobianos o extractos vegetales para estudios científicos, es un tipo de medio de cultivo no selectivo, nutritivo, sólido que posee concentraciones bajas de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclinas. Se puede hacer pruebas de sensibilidad muy exitosas de *Streptococcus*, cuando al Agar Muller Hinton se le añade 5% sangre de cordero. ^{(52), (53)}

Dentro de su fórmula encontramos almidón, agar, infusión de carne, peptona ácida de caseína. Su preparación es de uso profesional, debe conservarse en placas a temperatura de 2 a 8°C, cuando se lo usa con sangre posee un color rojo cereza, el tiempo de incubación depende del microorganismo a estudiar. ^{(52), (54)}

2.2. CARIES DENTAL

2.2.1 Definición

Según Higashida ⁽⁴³⁾, el término caries proviene del latín descomponerse; la caries dental es una afección progresiva multifactorial, que afecta los tejidos dentales hasta su destrucción, si no es detectada y tratada a tiempo. Es una enfermedad crónica y localizada, que se transmite fácilmente como lo menciona Gonzáles ⁽⁴²⁾.

La caries dental es una afección reversible de origen bacteriano, en el que participan varias reacciones microbiológicas, que tiene como finalidad causar la destrucción del tejido dentario, hasta avanzar a la pulpa dentaria si no es detectado a tiempo en sus primeras etapas. ⁽⁴⁾

Rojas et al ⁽¹²⁾, describió que la caries dental es una de las enfermedades con mayor prevalencia en salud pública. Dicha enfermedad necesita un agente colonizador, que inicie la infección y el principal agente causal de la caries es el *Streptococcus mutans*. Ojeda ⁽⁶⁾, menciona que éste microorganismo posee persistencia intraindividual, que es la estabilidad de sus genotipos que se encuentran en la cavidad bucal de adultos, jóvenes y niños.

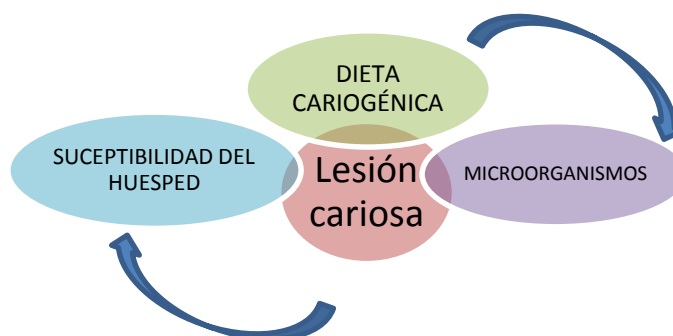
2.2.2 Etiopatogenia

La cavidad oral está formada por más de 700 bacterias autóctonas, que en lugar de cumplir con su función protectora pueden perder su equilibrio y se vuelven patógenas, debido a cambios en el medio ambiente. Para el desarrollo de la caries es imprescindible una masa crítica de bacterias, más un sustrato de carbohidratos fermentables, principalmente la sacarosa. Además es necesaria una superficie dental susceptible para dar lugar a la caries dental. ^{(5), (12)}

La superficie dental se vuelve susceptible en los procesos de desmineralización y remineralización, que ocurren innumerables veces al día. Si la remineralización no detiene a la desmineralización durante la ingesta de alimentos cariogénicos, se desata en una cavitación según Cuadrado. ⁽⁴⁶⁾

2.2.2.1 Elementos participantes en el proceso carioso

Figura N° 2: Factores de la lesión cariosa



Fuente: Higashida, 2009

Elaboración: Samantha Salas

A) Dieta o Sustrato oral

Al tener una dieta cariogénica rica en hidratos de carbono, puede resultar uno de los factores más importante para el desarrollo de la caries dental. La mayoría de alimentos cariogénicos poseen sacarosa; el *Streptococcus mutans* a partir de la sacarosa sintetiza glucano, que a su vez, es un polisacárido extracelular, que le concede la capacidad a éste microorganismo de adherirse al tejido dentario fuertemente. Los alimentos pegajosos, como los chicles o caramelos masticables, al estar por un tiempo mayor dentro de la boca son potencialmente más cariogénicos. ^{(43), (47), (48), (49)}

B) Microorganismos

Según Higashida ⁽⁴³⁾, el principal microorganismo cariogénico es el *Streptococcus mutans*, aunque como menciona el autor, depende del tipo de caries que la persona se encuentre afectada, así tenemos: en fosas y fisuras predominan bacterias del género *Streptococcus* como mitis, salivarius y sanguis. En las superficies proximales tenemos especies de *Actinomyces*, *Lactobacillus* y *Streptococcus mutans*. En las superficies lisas encontramos solo dos tipos, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius*. ⁽⁴³⁾

C) Susceptibilidad del huésped

Un huésped susceptible, es aquel que presenta en su estructura anatómica fosas y fisuras profundas, una higiene deficiente, áreas de retención en las superficies del diente, que favorezca a la acumulación de placa y alimentos. La edad es un determinante para la

aparición de la caries, dado que un niño que recién le está erupcionando los dientes, se encuentra en una etapa de mineralización y falta de madurez del esmalte. ^{(12), (43), (46)}

2.3 ANTIMICROBIANOS ORALES

El agente químico ideal para actuar sobre el biofilm, debería evitar la unión de la bacteria sobre la superficie dentaria, sin embargo, estas sustancias poseen efectos adversos en la cavidad bucal. Las sustancias químicas actúan sobre el biofilm disminuyendo la reproducción bacteriana, eliminando el biofilm ya formado y alterando la formación del mismo. ⁽¹³⁾

2.3.1 CLORHEXIDINA

2.3.1.1 Características

Según Kustner ⁽⁷⁾, la clorhexidina es una diguanidina catiónica, que presenta alta eficacia, ya que posee un espectro antimicrobiano contra bacterias Gram negativas, Gram positivas y con menor eficacia contra hongos y levaduras. No es virucida, pero impide la germinación de esporas como lo dice Maya ⁽¹³⁾. Además Higashida ⁽⁴³⁾ menciona que posee ventaja sobre otros antisépticos, a causa de que es liberado lentamente durante 12 horas, a esto lo llama sustantividad.

2.3.1.2 Usos terapéuticos

Como menciona Kustner ⁽⁷⁾, está indicada para detener la proliferación de placa dental y periodontal supragingival. Por lo que está recomendado luego de tratamientos periodontales y como apoyo farmacológico. Maya ⁽¹³⁾ describe que la clorhexidina se usa como antiséptico prequirúrgico al 2% y al 0.12% se usa como colutorio. Según Higashida ⁽⁴³⁾, al utilizarse clorhexidina al 0.12% como colutorio, el paciente debe usarlo cada 12 horas y después del cepillado dental, además debe esperar 30 minutos sin beber ni comer absolutamente nada, para que el colutorio cumpla con su función.

Además Kustner ⁽⁷⁾ señala, que la clorhexidina al 2% funciona para la desinfección de prótesis dentales, férulas y aparatos de ortodoncia. Según Cohen ⁽⁴⁰⁾ la clorhexidina posee sustantividad, que es la capacidad de impregnarse en la piel y de esta manera mantener la actividad antibacteriana por un tiempo mayor que cualquier jabón quirúrgico. Además de usarse en endodoncia al 2% como irrigante de los conductos radiculares infectados. Varios

investigadores han concluido que, la clorhexidina puede utilizarse como medicación intraconducto como alternativa al $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para sustituirlo ⁽⁴⁰⁾.

2.3.1.3 Efectos adversos

Kustner ⁽⁷⁾ señala, que los principales inconvenientes de la clorhexidina es provocar pérdida del gusto, descamación de la mucosa, tinción de la placa bacteriana; por lo que produce decoloración en las restauraciones y en algunos casos puede causar hipersensibilidad. Según Cohen ⁽⁴⁰⁾, la clorhexidina puede causar urticaria, dermatitis por contacto e incluso anafilaxia, como resultado de reacciones alérgicas al entrar en contacto con heridas abiertas. Higashida ⁽⁴³⁾ ha mencionado que, puede producir tinciones en las piezas dentarias y recomienda su uso en personas con enfermedad periodontal, pacientes que poseen tratamiento de ortodoncia y se dificulta la higiene bucal.

2.3.1.4 Mecanismo de acción

Según Cohen ⁽⁴⁰⁾, la clorhexidina posee un gran espectro contra bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. Actúa como bacteriostático o bactericida dependiendo de su concentración; en altas concentraciones, es bactericida a consecuencia de que produce lisis de la bacteria descomponiendo su membrana y precipitando el citoplasma; en bajas concentraciones es bacteriostático, puesto que afecta al metabolismo celular inhibiendo la síntesis de ácido ⁽⁴⁰⁾.

2.3.2 ACEITES ESENCIALES

Peredo ⁽¹⁶⁾ dice, que los aceites esenciales son sustancias aromáticas de base lipídica, que son extraídos de distintos lugares de la planta como las hojas, tallos, flores y raíces. En la actualidad, múltiples investigaciones han afirmado que los aceites esenciales gracias a sus compuestos químicos como monoterpenos, sesquiterpenos, y diterpenos, poseen propiedades antioxidantes y antibacterianas, contra bacterias Gram positivas y Gram negativas ⁽³²⁾.

Según Reyes ⁽³²⁾, el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales se produce gracias a la combinación de sus componentes químicos, al tipo de microorganismo que ataca, y el carácter hidrófobo del aceite esencial. Además se ha investigado que los aceites esenciales son componentes heterogéneos de ácidos ésteres, terpenos, fenoles, lactonas, que pueden ser

separados por métodos químicos o físicos. Estos aceites se caracterizan por sus propiedades físicas como densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica ⁽¹⁶⁾.

Higashida ⁽⁴³⁾ ha mencionado, que al disolverse con alcohol poseen efecto antibacteriano y se los puede utilizar como colutorios, al mantenerlos en boca por un mínimo de tiempo de 30 segundos y máximo de 2 minutos, para disminuir la placa bacteriana y prevenir la caries dental y enfermedad periodontal.

2.3.2.1 Mecanismo de acción

Según Lagos ⁽³³⁾, el carácter hidrófobo de los aceites esenciales y sus componentes químicos, determinan su capacidad de penetrar la estructura lipídica de la membrana celular, para aumentar su permeabilidad causando ruptura de la misma y terminar en lisis celular, destruyendo a la bacteria menciona Reyes ⁽³²⁾.

El mecanismo de acción de los aceites esenciales frente a los distintos microorganismos, depende del tipo de bacteria a la que se enfrenten y la estructura de su pared celular. Reyes ⁽³⁴⁾ dice que bacterias Gram negativas son menos sensibles y necesitan un tiempo de mayor exposición a los aceites esenciales, a causa de que su membrana externa posee lipopolisacaridos, que impide la difusión de compuestos hidrófobos ⁽¹⁷⁾.

2.3.2.3 Clasificación de los aceites esenciales

Bruneton ⁽¹⁸⁾ señala, que de acuerdo con su consistencia, los aceites esenciales se clasifican en: esencias, bálsamos y resinas.

- a) Esencias:** son sustancias volátiles a temperatura ambiente según Bruneton ⁽¹⁸⁾.
- b) Bálsamos:** son extractos naturales que se consiguen por medio de árboles, se caracterizan por tener alto contenido de ácido benzoico y cinámico. ⁽¹⁹⁾ Son poco volátiles y predispuestos a sufrir reacciones de polimerización, como lo menciona Angulo ⁽²⁰⁾ en su estudio.
- c) Resinas :** son sustancias de naturaleza química compleja, amorfos sólidos o semisólidos, que a su vez poseen diferentes presentaciones como las oleorresinas, que son sustancias mezcladas homogéneamente de aceites esenciales y resinas; las gomorresinas que están formadas por gomas y resinas, extraídos de árboles, según Bruneton ⁽¹⁸⁾.

Bruneton¹⁸ señala, que de acuerdo con su origen, los aceites esenciales se clasifican en: naturales, artificiales y sintéticos.

- a. **Naturales:** Se extraen directamente de la planta sin sufrir ningún tipo de alteración física ni química. ⁽¹⁹⁾
- b. **Artificiales:** Se extraen a partir de procesos de enriquecimiento, es decir, que al mezclar varios componentes de la misma esencia, se obtiene el aceite artificial, como menciona Bruneton ⁽¹⁸⁾ en su estudio.

2.3.2.4 Métodos de extracción de los aceites esenciales

a. Método arrastre con vapor

Figura N° 3: Método arrastre con vapor



Fuente: Samantha Salas

Elaboración: Samantha Salas

Menciona Peredo ⁽¹⁶⁾ que, el arrastre con vapor es un proceso en el que se utiliza una caldera que genera un vapor sobrecalentado, este material penetra en el producto vegetal a una elevada presión, mayor que la atmosférica; en el interior de la planta el vapor rompe los canales oleíferos y arrastra la mezcla volátil, que es condensada gracias a un refrigerante. Según Stashenko ⁽²¹⁾ los aceites esenciales pueden ser separados por decantación, ya que son más livianos que el agua y además poco solubles en ella.

2.3.2.5 Conservación

Stashenko ⁽²¹⁾ indicó, que la conservación de los aceites esenciales es de suma importancia, estos deben estar en un envase de cristal completamente cerrados, debido a que al entrar en

contacto con el oxígeno se evapora. Se recomienda además que deba conservarse en un lugar fresco, lejos de la luz.

2.4 EFECTO ANTIBACTERIANO

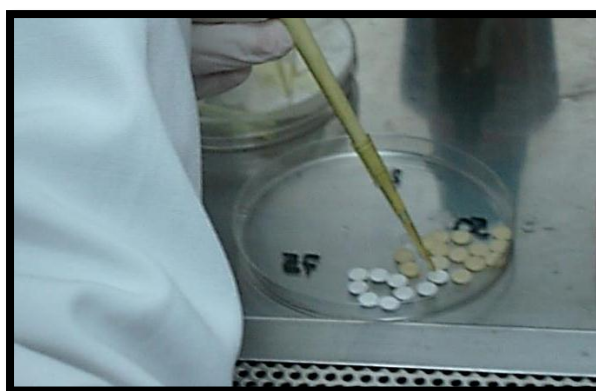
Según López ⁽⁸⁾, el efecto antibacteriano es la capacidad que posee una sustancia o producto para inhibir el crecimiento de una bacteria provocando su lisis. Además Huertas ⁽⁶⁸⁾ menciona en su estudio que, el efecto antibacteriano es mayor o menor según el grado de concentración de la sustancia. El antibiograma es necesario para realizar vigilancia epidemiológica, cuando se busca una alternativa más efectiva para un proceso patológico ⁽⁵⁰⁾.

2.4.1 Métodos para evaluar el efecto antibacteriano

Según Negroni ⁽⁵⁰⁾, los métodos para evaluar el efecto antibacteriano, se realiza cuando es necesario identificar la acción de nuevos agentes antimicrobianos y que contribuyan para mejorar la calidad de vida del paciente, que se encuentra padeciendo algún proceso patológico. Negroni ⁽⁵⁰⁾, recomienda utilizar cepas de referencia ATCC y así realizar un experimento seguro y estandarizado.

2.4.1.1 Método de difusión

Figura N° 4: Método de difusión



Fuente: Samantha Salas

Elaboración: Samantha Salas

El fundamento de éste método según Ramírez ⁽⁹⁾, es determinar cuantitativamente el efecto de una sustancia específica, a diferentes concentraciones sobre cepas bacterianas que provienen de procesos infecciosos. Negroni ⁽⁵⁰⁾, ha mencionado que es el método más exacto,

económico, fácil, estandarizado, y su reproducción es sencilla, además puede utilizarse como método cualitativo y semicuantitativo.

El método de difusión en base a la técnica Kirby-Bauer es recomendado y utilizado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de Estados Unidos ⁽⁹⁾. El método de difusión según Ramírez ⁽⁹⁾, se basa en la relación de las diferentes concentraciones de la sustancia de los halos de inhibición que produce la bacteria, en el medio de cultivo en el que se siembra y los discos en blanco de 6mm de diámetro que son depositados en la superficie de la placa. El halo de inhibición se mide a las 24 y 48 horas menciona Bermúdez ⁽¹⁰⁾ y Taroco ⁽¹¹⁾.

Según Negroni ⁽⁵⁰⁾, para tener resultados exitosos, es necesario lograr una cepa en forma de cultivo puro, dicha cepa debe ser causante de un proceso que afecte la salud del ser humano, el disco de papel a utilizarse debe medir de 5 a 7 mm y un espesor de 0.02 mm, además de estar guardado según las instrucciones del fabricante y en cada disco la cantidad de sustancia antimicrobiana tendrá que ser exacta, para no obtener resultados falsos.

Negroni ⁽⁵⁰⁾ recomienda que, al realizar la técnica previamente obtenido un medio de cultivo puro, debemos incubar durante 5 horas hasta obtener una turbidez equivalente a 0.5 de la escala Mc Farland, luego rápidamente se embebe en el inóculo un hisopo estéril, eliminando el exceso contra las paredes del tubo y después debemos frotar el hisopo en la superficie del agar uniformemente y que cubra su totalidad. Posteriormente dejamos secar 5 minutos y colocamos los discos de papel que tienen impregnados el agente antimicrobiano con una pinza estéril y se deja un periodo de incubación entre 24 a 48 horas, para así después comprobar el halo de inhibición y verificar si el microorganismo es sensible o resistente. ⁽⁵⁰⁾

2.5 FITOTERAPIA

La fitoterapia, es la ciencia que estudia el uso terapéutico de las plantas y su uso para tratar, aliviar o prevenir alguna enfermedad que afecta la calidad de vida del ser humano; además la fitoterapia ha clasificado el efecto farmacológico de productos vegetales como muy potentes, relativamente potentes y baja potencia. En muchos casos, los beneficios de los productos vegetales de origen natural son amplios, y sus efectos adversos son pocos o nulos, por lo que se recomienda usar terapéuticos naturales que cuenten con seguridad, calidad y eficacia. ⁽⁵⁵⁾

Al estudiar el efecto farmacológico de las plantas medicinales, debemos concentrarnos en el principio activo de cada una de ellas, dado que el principio activo es el responsable de la acción antimicrobiana, inhibitoria o farmacológica. Para usar el principio activo de la planta es necesario prepararlos en condiciones adecuadas, para ser usado en pacientes con procesos patológicos. ⁽⁵⁵⁾

Alarcón ⁽¹⁵⁾ ha mencionado que, en odontología se ha utilizado varias plantas para prevenir no solo la caries dental, sino también la enfermedad periodontal, patología oral, cirugía bucal y endodoncia; tomando en cuenta los efectos antiinflamatorios, cicatrizantes y antibacterianos que se le atribuye. Cardentey ⁽¹⁾ ha demostrado que la medicina tradicional es de uso ancestral y actualmente es ampliamente investigada.

2.5.1 *Physalis peruviana*

2.5.1.1 Taxonomía y nombres comunes

Calvo ⁽²⁶⁾ menciona que, la *Physalis peruviana* es miembro de la familia Solanaceae y género *Physalis*. Según Fischer ⁽²⁷⁾, en Perú se conoce como capulí o aguaymanto, en Colombia se denomina uchuva y en Ecuador posee el nombre de uvilla. Douglas ⁽⁶⁴⁾ dice que, el nombre *Physalis* proviene del griego “*Physa*” que significa burbuja o vejiga, que tiene una estrecha relación con la forma de los cálices que rodean el exterior del fruto y lo protege contra plagas.

Tabla 2: Clasificación Taxonómica de *Physalis peruviana*

REINO	Plantae
SUBREINO	Traqueobionta
DIVISIÓN	Embriophyta
CLASE	Dicotyledoneae
SUBCLASE	Methachlamydeae
FAMILIA	Solanaceae
GÉNERO	<i>Physalis</i>
ESPECIE	<i>peruviana</i>
NOMBRE NOMINAL	<i>Physalis peruviana</i>

Fuente: Douglas, 2011

Elaboración: Samantha Salas

2.5.1.2 Descripción botánica

Figura N° 5: Hoja de *Physalis peruviana*



Fuente: Samantha Salas

Elaboración: Samantha Salas

Se ha investigado que la *Physalis peruviana*, es una planta originaria del Perú, como indica Zavala ⁽⁴⁾. Además Calvo ⁽²⁶⁾ la describe como una planta que posee una raíz fibrosa, tallo quebradizo color verde con vellosidades, sus hojas son semejantes a un corazón, su fruto es una baya carnosa similar a un globo cubierto por un cáliz con cinco sépalos, debido a que le sirve de protección de las plagas y condiciones climáticas extremas como lo menciona Franco ⁽³⁾.

2.5.1.3 Ecofisiología

Señala Fischer ⁽²⁷⁾ que, la uvilla crece en óptimas condiciones en plena luz, necesita un suministro constante de agua para su desarrollo y producción; además de suelos con estructura arenosa y granulosa para su crecimiento. En Ecuador su producción se realiza en abundancia principalmente en Imbabura y Guaranda. ⁽²⁹⁾

2.5.1.4 Usos Medicinales

a) Efecto antibacteriano

Cueva ⁽²⁸⁾ ha comprobado en su estudio, que el extracto de *Physalis peruviana*, posee mayor efecto inhibitorio contra *Listeria spp* que los antimicrobianos de uso común, ya que gracias a los compuestos fenólicos y monoterpenos que se encuentran en sus hojas, ayudan a combatir la mayor parte de microorganismos que generan procesos patógenos en el ser humano.

b) Efecto hipoglucemiante

Según Rodríguez ⁽⁶⁰⁾, la planta de *Physalis peruviana* sirve como hipoglucemiante en la diabetes mellitus, gracias a sus antioxidantes pueden combatir a los radicales libres que generan disfunción en las células hepáticas; así como los flavonoides que gracias a su actividad antioxidante, inhibe la segregación de la aldosa reductasa y contribuye a prevenir enfermedades de la retina y cataratas. Rodríguez⁶⁰ demostró en su estudio, que al consumir el fruto de la *Physalis peruviana* reduce la glicemia a los 90 minutos postprandial en adultos jóvenes.

c) Efecto anticancerígeno

Según Zavala ⁽⁴⁾ al realizar su estudio comprobó, que el extracto de la hoja de *Physalis peruviana* posee propiedades anticancerígenas, contra el adenocarcinoma de colon y leucemia mieloide crónica, al detener la proliferación de células tumorales y no generar citotoxicidad sobre células sanas.

d) Efecto hepatoprotector

Campos ⁽⁶⁷⁾ en su estudio menciona, que el extracto de *Physalis peruviana* gracias a los flavonoides posee efecto antihepatotóxico contra lesiones hepáticas, pues en su evidencia muestra que disminuye significativamente las concentraciones séricas de triglicéridos y colesterol.

e) Efecto antiinflamatorio

Franco ⁽³⁾ comprobó, que el aceite esencial de *Physalis peruviana* gracias a los witanolidos posee efecto antiinflamatorio, puesto que reduce significativamente el edema auricular.

2.5.1.5 Usos en Odontología

Según Huertas ⁽⁶⁸⁾, la planta de *Physalis peruviana* posee efecto antibacteriano contra microorganismos que producen enfermedades en la cavidad oral. Entre ellos tenemos al *Streptococcus mutans*, que es el factor etiológico para que se produzca la caries dental según Duque ⁽⁵⁾. Además Huertas ⁽⁶⁸⁾ señala que, su efecto antibacteriano es significativo contra el *Streptococcus sanguis*, que es una bacteria colonizador nativo de la placa dental, pero cuando ocurre un desequilibrio causa endocarditis bacteriana, según Figueroa ⁽⁶⁶⁾.

2.5.1.6 Composición química y Actividad farmacológica del género *Physalis*

Douglas ⁽⁶⁴⁾ menciona, que el género *Physalis* está formado por flavonoides, vitaminas, alcaloides, fenilpropanoides y sesquiterpenos. Ruiz ⁽⁶⁵⁾ en su estudio científico señala, que el aceite esencial de *Physalis peruviana*, está compuesto principalmente por Germacreno D que son hidrocarburos volátiles, específicamente sesquiterpenos que producen efecto antimicrobiano y antioxidante.

Gracias a su compuesto de witanólidos la *Physalis peruviana* posee capacidad antitumoral, principalmente se han reportado estudios contra cáncer de pulmón, hígado, colon y leucemia mieloide crónica; por lo que se utiliza como agente quimioterápico, menciona Zavala ⁽⁴⁾

Tabla 3: Composición química y actividad farmacológica de las partes de la planta de *Physalis peruviana*

PARTE DE LA PLANTA	TIPO DE COMPUESTO	ACTIVIDAD REPORTADA
HOJAS	SESQUITERPENOS FLAVONOIDES COPAENO	ANTIBACTERIANA ANTICANCERIGENAS
CÁLICES	WITANOLIDOS	ANTITUMORAL ANTIINFLAMATORIO
FRUTO	VITAMINAS GLÚCIDOS WITANÓLIDOS ÉSTERES ALCALOIDES	ANTIBACTERIANO HIPOGLICEMIANTE ANTIOXIDANTE ANTIINFLAMATORIA
RAÍZ	ALCALOIDES	INTOXICACIÓN

Fuente: Douglas, 2011

Elaboración: Samantha Salas

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1 Experimental:

El presente estudio requirió la manipulación rigurosa de las variables o factores experimentales, para explicar, en nuestro caso como se produce el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana*.

3.1.2 In Vitro:

La investigación se realizó en el Laboratorio de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, utilizando cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM inoculadas con aceite esencial de *Physalis peruviana* a diferentes concentraciones, aplicando el método Kirby-Bauer para evaluar el efecto antibacteriano del aceite en 24 y 48 horas.

3.1.3 Comparativo:

Se comparó el efecto inhibitorio del aceite esencial de la *Physalis peruviana* (uvilla), en concentraciones del 25%, 50% 75% y 100% con la clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM. Evaluando los halos de inhibición.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

A) Población

El efecto antibacteriano de los agentes del estudio, se evaluó a partir de una unidad de sedimento liofilizado de *Streptococcus mutans* con referencia ATCC® 35668TM, importadas de EEUU por la empresa Medibac , ubicada en la Ciudad de Quito , avenida República del Salvador (la Carolina).

B) Selección y Tamaño de la Muestra

Se realizó por MUESTREO PROBABILÍSTICO POR CONVENIENCIA basado en el estudio científico:

Franco LA, Matiz GE, Pájaro IB, Gómez HA. Actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de *Physalis peruviana* y *Caesalpinia pulcherrima*. Bol Latinoam Carie Plant Med Aromat 2012; 12(3): 230-7.

Para el tamaño de la muestra se realizó de la siguiente manera:

- **GRUPO 1:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de aceite esencial de *Physalis peruviana* al 100%.
- **GRUPO 2:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de aceite esencial de *Physalis peruviana* al 75%.
- **GRUPO 3:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de aceite esencial de *Physalis peruviana* al 50%.
- **GRUPO 4:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de aceite esencial de *Physalis peruviana* al 25%.
- **GRUPO 5:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de clorhexidina al 0.12%.
- **GRUPO 6:** 15 repeticiones realizadas en 3 cajas Petri Müller-Hinton con sangre, inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC® 35668™), cada caja con 5 discos de papel, embebidos cada uno con 20 microlitros de agua destilada.

3.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y DE EXCLUSIÓN

A) Criterios de inclusión

- a. Cepas puras de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.
- b. Solución de clorhexidina al 0.12%.
- c. Aceite esencial de *Physalis peruviana* en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%.
- d. Agua destilada completamente estéril.

B) Criterios de exclusión

- a. Cajas Petri contaminadas durante y después del proceso de esterilización.
- b. Cajas Petri que se hayan roto durante el estudio.
- c. Discos contaminados y mal manipulados.

3.4 VARIABLES

A) Conceptualización de las variables

Variable	Tipo	Concepto
Efecto antibacteriano	Dependiente	Capacidad de producir la eliminación o inhibir el crecimiento de agentes patógenos como son las bacterias, según Aguilar ⁽²³⁾ .
Aceite esencial de <i>Physalis Peruviana</i> (uvilla) al 25%, 50%, 75% Y 100%	Independiente	Pertenece a la familia de las Solanáceas y al género <i>Physalis</i> , cuenta con más de ochenta variedades que es utilizada en la medicina tradicional, por sus diferentes propiedades curativas, menciona Pássaro ⁽²⁴⁾ .
Clorhexidina al 0.12%	Variable de control positivo	Kustner ⁽⁷⁾ nos indica, que es una bisbiguanida catiónica, desarrollada en Inglaterra en 1954. Posee un espectro antimicrobiano contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. En odontología está indicada en la inhibición farmacológica de la formación de la placa dental y periodontal supragingival.
Agua Destilada	Variable de control Negativo	El agua destilada posee moléculas de agua, cuya composición se ha eliminado de impurezas gracias a la destilación ⁽²⁵⁾ .

B) Operacionalización de las variables

Variables	Definición Operacional	Tipo	Clasificación	Indicador Categórico	Escalas de Medición
Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>	Medición del halo de inhibición que se forma alrededor del disco, en cuya superficie se ha impregnado el agente activo con referencia al Gold Estándar. Dato obtenido con calibrador pie de rey.	Dependiente	Cuantitativa Continua	Halo de inhibición alrededor del disco medido en mm Nula < 8mm Sensible 9mm -14mm M. Sensible 15-19mm S. Sensible ≥ 20mm	1 2 3
Aceite esencial de <i>Physalis peruviana</i> (uvilla) 25% , 50% y 75%	Aceite esencial al 25%,50% ,75% Y 100% obtenido mediante destilación por arrastre de vapor de hojas secas de la uvilla.	Independiente	Cualitativa Nominal	Aceite al 25% Aceite al 50% Aceite al 75% Aceite al 100%	1 2 3 4
Clorhexidina al 0.12%	Agente Antibacteriano al 0.12% utilizado como Gold Estándar impregnado en un disco para su control positivo.	Variable control	Cuantitativa Continua	Halo de inhibición al 0.12% Nula < 8mm Sensible 9mm -14mm M. Sensible 15-19mm S. Sensible ≥ 20mm	5 6 7
Agua Destilada	Sustancia estéril impregnado en un disco, que se utiliza como control negativo.	Variable control	Cuantitativa Continua	Solución estéril alrededor del disco medido en mm Nula < 8mm Sensible 9mm -14mm M. Sensible 15-19mm S. Sensible ≥ 20mm	8 9 10

C) Estandarización de las variables

El presente estudio no requirió estandarización, puesto que ésta investigación lo realizó un experto en el área del Laboratorio de Ciencias Químicas de la Facultad Central del Ecuador. (Anexo 1)

3.5 MATERIALES Y MÉTODOS

3.5.1 Obtención del aceite esencial de *Physalis peruviana*

- a. Se obtuvo la planta de *Physalis peruviana* (uvilla) directamente por el autor del estudio, en la ciudad de Guaranda se seleccionaron las hojas sanas que no presentaban plagas, ni deterioro, para no causar alteraciones en el momento de realizar el experimento.
- b. Dichas hojas fueron recolectadas.
- c. Luego de obtener las hojas sanas, fueron lavadas con agua fría potable para remover cualquier residuo que esté en la muestra, comprobando que permanezca en condiciones óptimas para realizar el aceite esencial.

Figura N° 6: Lavado de hojas recolectadas para remover residuos



Fuente y Elaboración: Samantha Salas

- d. Luego se procedió a cortar las hojas en seis partes.
- e. Secado de la hoja por tres horas a temperatura de 60°C en estufa.
- f. Para la extracción del aceite esencial, se utilizó la técnica de destilación arrastre por vapor de agua por embudo de separación.
- g. La muestra recolectada fue de 1200 gr, una vez que ya recortamos las hojas se colocaron en un balón de destilación fondo redondo, que se llevó a ebullición durante 4 horas; realizando 8 repeticiones de 150gr obteniendo 2.5 ml por cada repetición. (Anexo 2)
- h. Se realizó una trampa tipo Clevenger, donde se extrajo el aceite esencial de *Physalis peruviana*, que fue suspendida en la parte superior de la columna de agua, que se generó gracias al destilado.

Figura N° 7: Obtención del aceite esencial de *Physalis peruviana* mediante arrastre de vapor de agua.



Fuente y Elaboración: Samantha Salas

- i. El aceite se recolectó en un envase de vidrio de color ámbar, para evitar la entrada de luz y así evitar la alteración de sus propiedades.

Figura N° 8: Recolección del aceite esencial de *Physalis peruviana* al 25%, 50%, 75% y 100% en envase de vidrio de color ámbar.



Fuente y Elaboración: Samantha Salas

3.5.1.1 Rendimiento del aceite esencial (RAE)

Este procedimiento se llevó a cabo basándonos en el método gravimetría-volumétrico, utilizando 150gr de hojas de *Physalis peruviana* y el volumen obtenido de 2.5 ml, lo que dió como resultado, un rendimiento del aceite esencial de *Physalis peruviana* utilizando la siguiente fórmula de Doleski ⁽⁶²⁾.

$$\%RAE = \frac{\text{Vol. AE (ml)}}{\text{P muestra (g)}} \times 100$$

Dónde:

% RAE= Porcentaje de rendimiento del aceite esencial

Vol. AE = Volumen del aceite esencial

P muestra = Peso de la muestra a destilar



$$\begin{aligned} \%R (V/P) &= \frac{2.5\text{ml} * 100}{150\text{g}} \\ \%RAE &= 1.66 \end{aligned}$$

3.5.1.2 Dilución del aceite esencial de *Physalis Peruviana*

Una vez que obtuvimos el aceite esencial de *Physalis peruviana*, se procedió a realizar las diluciones, utilizando como solvente el aceite neutro vegetal según propuesto por Huertas ⁽⁶⁸⁾.

Para realizar la concentración al 25% de aceite esencial de *Physalis peruviana*, se resolvió mediante una regla de tres, en la cual se elaboró una dilución de 8ml en total, siendo el 100%, éste resultado es la concentración pura en mililitros.

$$\begin{array}{rcl} 8\text{ml} & \text{-----} & 100\% \\ X & \text{-----} & 25\% \\ \hline & & \frac{25\% \times 8\text{ml}}{100\%} = 2 \text{ ml} \end{array}$$

- a. **Concentración 100%:** 8 ml de aceite esencial de *Physalis peruviana*.
- b. **Concentración 75%:** 6 ml de aceite esencial de *Physalis peruviana* con 2 ml de aceite neutro vegetal, dando un total de 8 ml.
- c. **Concentración 50%:** 4 ml de aceite esencial de *Physalis peruviana* con 4 ml de aceite neutro vegetal, dando un total de 8 ml.
- d. **Concentración 25%:** 2 ml de aceite esencial de *Physalis peruviana* con 6 ml de aceite neutro vegetal, dando un total de 8 ml.

3.5.2 Medio de Cultivo

El medio de cultivo que se utilizó en este estudio, fue Agar Muller Hinton con sangre, ya que según estudios científicos, comprueban que éste medio de cultivo, posee buena reproducibilidad de microorganismos del género *Streptococcus mutans*. El medio de cultivo fue preparado bajo la supervisión de un experto microbiólogo, en el laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

Figura N° 9: Preparación del medio de cultivo Agar Muller Hinton con sangre



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

3.5.3 Compra y Almacenamiento de la cepa

Se utilizó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ (American Type Culture Collection) ; que fue importada desde Estados Unidos mediante la empresa Medibac, estado liofilizado y almacenado a bajas temperaturas en el Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Universidad Central del Ecuador. (Anexo 3)

Figura N° 10: Compra y Almacenamiento de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™



Elaboración: Empresa Medibac

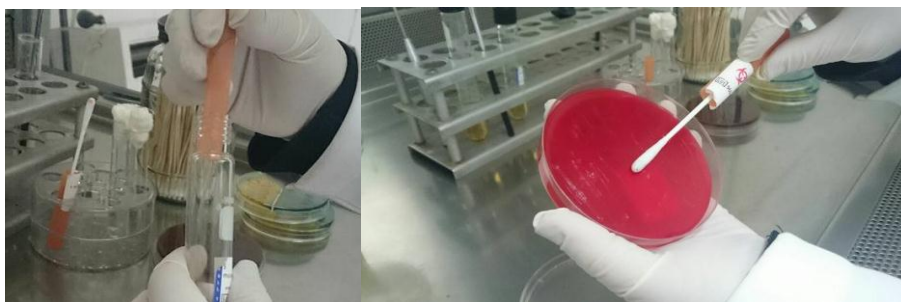
Fuente: Samantha Salas

3.5.3.1 Activación de cepas de *Streptococcus mutans*

a. Se utilizó en la presente investigación cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en estado liofilizado y almacenado a bajas temperaturas. Para su preparación se dejó 10 minutos para lograr equilibrio a una temperatura ambiente, luego se siguió el protocolo del fabricante. (Anexo 5)

Figura N° 11: Activación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™





Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

- b. Se procedió a realizar la incubación de la cepa, para lo cual se colocó en una jarra de anaerobiosis y se la mantuvo en la incubadora a una temperatura de 37 °C, por 24 y 48 horas en el laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

Figura N° 12: Incubación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

3.5.4 Rotulación de las cajas Petri con Agar Muller Hinton con Agar sangre

Para rotular se dividió en seis grupos; utilizando un marcador negro permanente de la siguiente manera:

- **Grupo 1:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon las letras A, B,C indistintamente ; en el centro se escribió el porcentaje del 100% , que correspondía a la concentración del aceite esencial.
- **Grupo 2:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon las letras A, B,C indistintamente ; en el centro se escribió el porcentaje del 75% , que correspondía a la concentración del aceite esencial.
- **Grupo 3:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon las letras A, B,C indistintamente ; en el centro se escribió el porcentaje del 50% , que correspondía a la concentración del aceite esencial.
- **Grupo 4:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon las letras A, B,C indistintamente ; en el centro se escribió el porcentaje del 25% , que correspondía a la concentración del aceite esencial.
- **Grupo 5:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon las iniciales Cl en el centro de la caja, que correspondían a la clorhexidina al 0.12%.
- **Grupo 6:** Conformado por tres cajas Petri, en las que se rotularon la letra A en el centro de la caja, que correspondían al agua destilada estéril.

3.4.5 Estándar de turbidez para la suspensión del inóculo

a. Para ejecutar la prueba de sensibilidad de la cepa previamente incubada, se preparó una suspensión estandarizada con suero fisiológico, de forma que presente la misma turbidez que la escala 0.5 McFarland, la suspensión bacteriana tuvo aproximadamente $1.5 \times \text{UFC/ml}$ de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ .

Figura N° 13: Preparación de la suspensión estandarizada del inóculo bacteriano



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

b. Para comprobar su turbidez similar a la solución McFarland se hizo una comparación visual, que se realizó con una luz adecuada (luz blanca) y un fondo blanco con líneas negras, para distinguir el contraste.

Figura N° 14: Comprobación visual de la estandarización del inóculo bacteriano



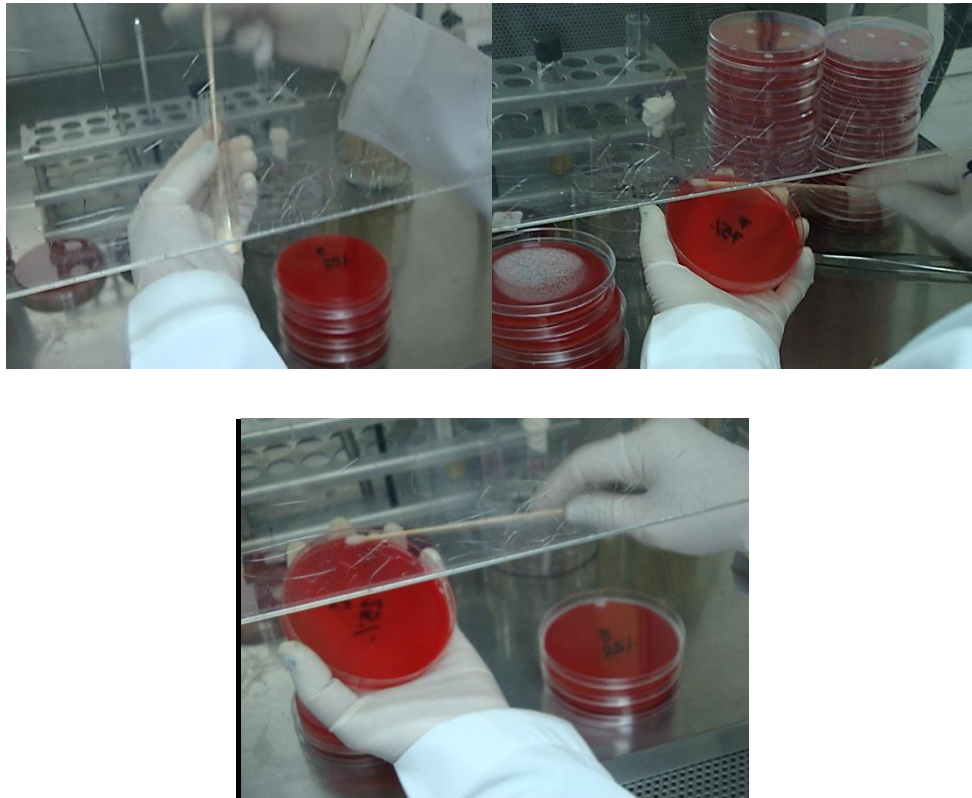
Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

3.5.5.1 Inoculación de la Placa

La siembra de *Streptococcus mutans* se elaboró con un hisopo estéril sobre toda la superficie de la caja Petri, contorneando los bordes, todo esto fue realizado en la cámara de flujo laminar para evitar contaminación.

Figura N° 15: Inoculación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

3.5.6 Colocación del aceite esencial en los discos en blanco

- a. Mediante una micropipeta digital, se procedió a colocar 20 microlitros en cada disco de papel del aceite esencial de *Physalis peruviana* al 25%, 50 %, 75% y 100%.
- b. Se realizó el control positivo con clorhexidina al 0.12% y el control negativo con agua destilada.

Figura N° 16 Colocación del aceite esencial a diferentes concentraciones en los discos en blanco.

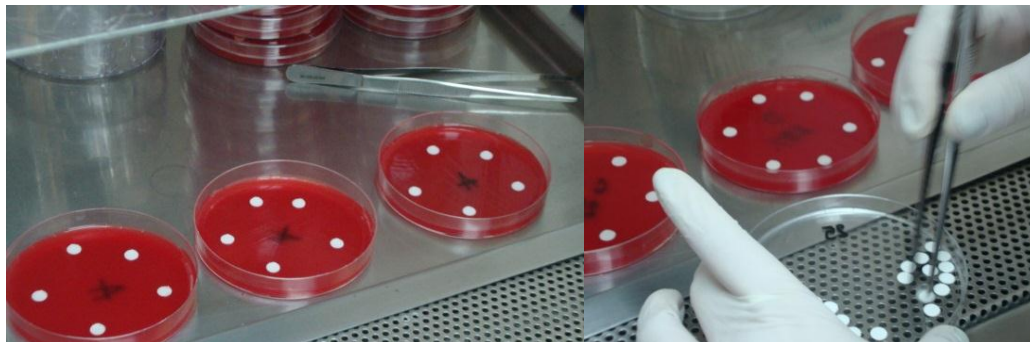


Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

- c. Con la ayuda de la pinza estéril fueron colocados los discos de papel en las cajas Petri , correspondiente al grupo que pertenecían previamente embebidos con distintas concentraciones.

Figura N° 17: Colocación de los discos en blanco embebidos con el aceite esencial en las cajas Petri.



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

- d. Para la incubación se utilizó la jarra Gaspak de incubación, que brinda condiciones de anaerobiosis para el desarrollo bacteriano.

Figura N° 18: Incubación de medios de cultivo con los discos en blanco embebidos con las sustancias de estudio en la jarra de Gaspak.



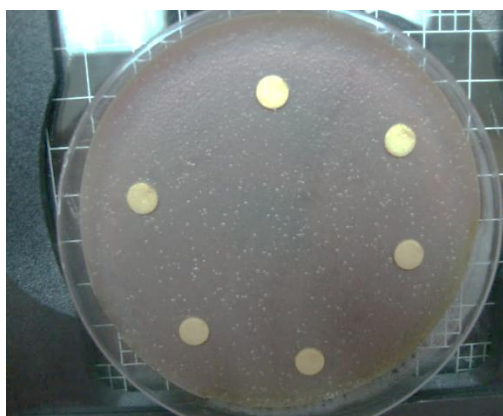
Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

3.5.7 Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial frente a la cepa de *Streptococcus mutans*.

Los datos fueron recolectados en una hoja de Excel, donde se midió los halos de inhibición con la ayuda de la regla Hi antibiotic Zone Scale, al cabo de las 24 y 48 horas de incubación.

Figura N° 19: Halo de inhibición del control negativo



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

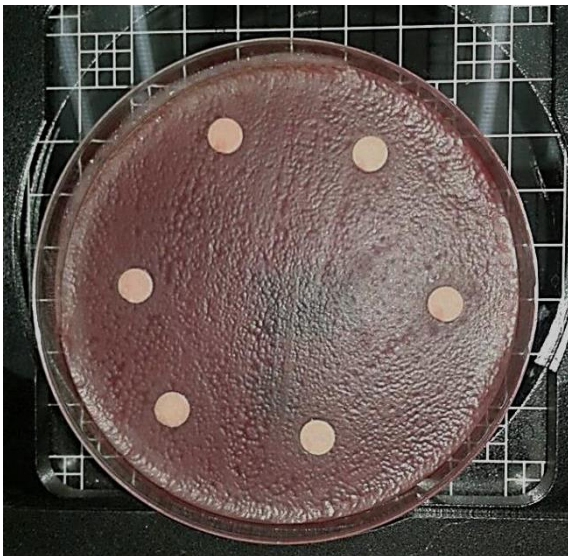
Figura N° 20: Halo de inhibición de la Clorhexidina



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

Figura N° 21: Halo de inhibición del aceite esencial al



25%

Figura N° 22: Halo de inhibición del aceite esencial



al50%

Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad

Fuente: Samantha Salas

Figura N° 23: Halo de inhibición del aceite esencial al 75%

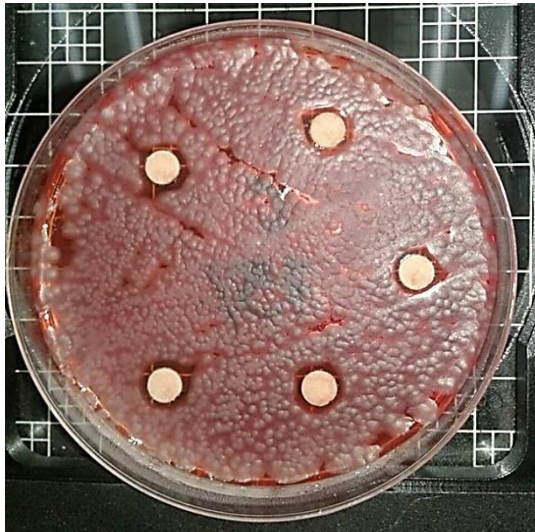


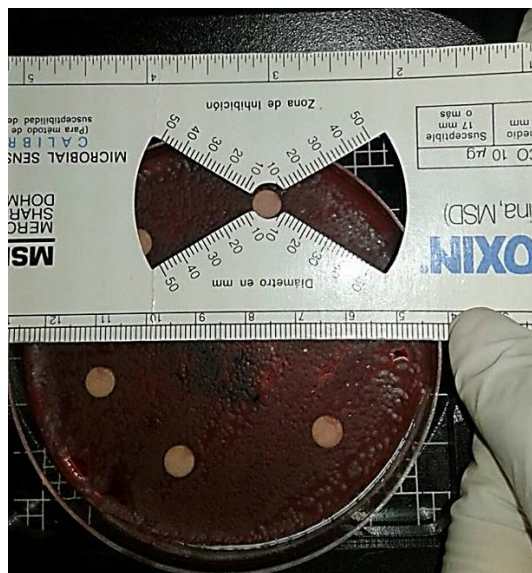
Figura N° 24: Halo de inhibición del aceite esencial al 100%



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad.

Fuente: Samantha Salas

Figura N° 25: Medición de los halos de inhibición



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad.

Fuente: Samantha Salas

3.5.8 Eliminación y Manejo de desechos

La totalidad del experimento fue elaborado en una cámara de flujo laminar clase II y el instrumental utilizado fue completamente estéril y adquirido en el laboratorio. Una vez concluido el procedimiento y fase experimental se procedió a eliminar todo residuo generado durante el estudio, de acuerdo al protocolo de manejo de desechos, establecido por el laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador. (Anexo 7 y 8)

Figura N° 26: Eliminación y Manejo de desechos



Elaboración: Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad.

Fuente: Samantha Salas

3.5.9 Manejo y Recolección de datos

La recolección de todos los datos obtenidos al finalizar el experimento, fue registrado con la ayuda de todo el equipamiento necesario, en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador. Dichos datos fueron registrados en una tabla y procedimos a colocar valores numéricos que fueron organizados en programas de EXCEL y WOR.D. (Anexo 10)

3.6 RECURSOS

3.6.1 Infraestructura

- a. Unidad de titulación Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.
- b. Laboratorio de análisis clínico y bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.
- c. Laboratorio del Departamento de Ofertas Servicios y Productos (OSP) de la Facultad de Química de la Universidad Central del Ecuador.

3.6.2 Recursos Humanos

Para la ejecución del presente estudio investigativo, se requirió de un equipo multidisciplinario, compuesto por Microbiólogo, Bioquímico, Ingeniero estadístico y Odontólogo en formación, quienes trabajaron conjuntamente aportando sus conocimientos científicos e interactuando de acuerdo al avance del estudio, para lograr resultados confiables e innovadores.

3.6.3 Equipos, materiales, instrumentos y sustancias

3.6.3.1 Equipos

- a. Cámara de flujo Laminar.
- b. Vórtex.
- c. Incubadora.
- d. Autoclave.
- e. Balón de destilación fondo redondo.
- f. Contador de colonias de Reichert Jung.

3.6.3.2 Materiales

- a. Hisopos estériles.
- b. Bioseguridad: mascarilla, gorro, cofia, gafas.
- c. Gasas.
- d. Discos de antibióticos.

3.6.3.3 Instrumental

- a. Jarra Gaspak. (anaerobiosis).

- b. Tubos de ensayo.
- c. Mechero.
- d. Gradilla.
- e. Asa de inoculación.
- f. Placas Petri.
- g. Micropipetas.
- h. Puntas para pipetas.
- i. Balanza de precisión.
- j. Matraz Erlenmeyer.

3.6.3.4 Sustancias

- a. Aceite esencial de uvilla (*Physalis peruviana*) al 25%, 50%, 75% y 100%
- b. Aceite neutro vegetal.
- c. Clorhexidina al 0.12%.
- d. Agua destilada estéril.
- e. Caldo de Agar Trypticase Soya.
- f. Agar Muller Hinton con sangre.
- g. Cepa liofilizada de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.
- h. Solución McFarland 0.5.
- i. Sangre de cordero.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 4: Resultados de halos de inhibición

Ficha de Recolección de datos

Nombre de la bacteria	Número de cepa	Número de muestra	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA								CONTROL POSITIVO		CONTROL NEGATIVO	
			25%		50%		75%		100%		Clorhexidina 0,12%		Suero fisiológico	
			24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Streptococcus mutans ATCC	35668	Halos de inhibición (mm)												
		1	6	6	6	6	10	10	12	12	13	13	6	6
		2	6	6	7	7	9	9	12	12	13	13	6	6
		3	6	6	7	7	8	8	13	13	14	14	6	6
		4	6	6	7	7	9	9	12	12	13	13	6	6
		5	6	6	6	6	9	9	14	14	13	13	6	6
		6	6	6	7	7	8	8	12	12	14	14	6	6
		7	6	6	7	7	9	9	12	12	14	14	6	6
		8	6	6	6	6	9	9	13	13	14	14	6	6
		9	6	6	7	7	10	10	12	12	13	13	6	6
		10	6	6	7	7	9	9	12	12	14	14	6	6
		11	6	6	7	7	10	10	11	11	14	14	6	6
		12	6	6	7	7	10	10	12	12	13	13	6	6
		13	6	6	6	6	9	9	12	12	14	14	6	6
		14	6	6	7	7	10	10	13	13	15	15	6	6
		15	6	6	7	7	10	10	14	14	14	14	6	6

Fuente y Elaboración: Samantha Salas

4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez recolectados los datos, se trasladaron al programa EXCEL para verificar si existían errores, una vez codificados los datos se los transfirió al programa SPSS statistics 20.0. Se procedió a realizar el siguiente análisis estadístico:

A) Prueba de Normalidad

Primeramente se verificó que las muestras tomadas provienen de una población con distribución Normal, esto se realiza con las pruebas de Kolmogorov - Smirnov o con la prueba de Shapiro - Wilk (menor a 20 datos).

Si las muestras provienen de poblaciones con distribución normal, entonces se realizan pruebas paramétricas (media, desviación estándar): T student, ANOVA.

Si las muestras no provienen de poblaciones con distribución normal entonces se realizan pruebas no paramétricas (orden, signos): Mann Whitney, Kruskal Wallis, Wilcoxon.

Para cada prueba de Hipótesis, se comparó el valor de significación con el 0,05 (95% de confiabilidad), si el nivel de significación es superior a 0,05 se acepta H_0 (hipótesis inicial), si es inferior a 0,05 se acepta H_a (hipótesis alterna).

PRUEBA DE NORMALIDAD

H_0 : Las muestras provienen de poblaciones con distribución Normal.

H_a : Las muestra No provienen de poblaciones con distribución Normal.

Tabla 5: Pruebas de normalidad. Kolmogorov-Smirnov. Shapiro-Wilk

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PHYSALIS PERUVIANA 50%, 24 HORAS	0,453	15	0,000	0,561	15	0,000
PHYSALIS PERUVIANA 50%, 48 HORAS	0,453	15	0,000	0,561	15	0,000
PHYSALIS PERUVIANA 75%, 24 HORAS	0,251	15	0,012	0,798	15	0,003
PHYSALIS PERUVIANA 75%, 48 HORAS	0,251	15	0,012	0,798	15	0,003
PHYSALIS PERUVIANA 100%, 24 HORAS	0,352	15	0,000	0,805	15	0,004
PHYSALIS PERUVIANA 100%, 48 HORAS	0,352	15	0,000	0,805	15	0,004
CLORHEXIDINA 0,12% 24 HORAS	0,305	15	0,001	0,766	15	0,001
CLORHEXIDINA 0,12% 48 HORAS	0,305	15	0,001	0,766	15	0,001

Fuente y Elaboración: Ing. Jaime Molina

En la prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov los valores de (Sig) son inferiores a 0,05 (95% de confiabilidad), por tanto se acepta H_a , esto es las muestras NO provienen de poblaciones con distribución Normal, entonces para la comparación de grupos se utiliza pruebas no paramétricas: Kruskal Wallis.

NOTA: NO SE COMPARA ENTRE 24 HORAS Y 48 HORAS DEBIDO A QUE SON LOS MISMOS VALORES EN TODAS LAS MUESTRAS.

B) Pruebas No Paramétricas de Kruskal Wallis, Comparación entre sustancias.

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

H_a : (hipótesis alternativa) Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones.

4.2 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

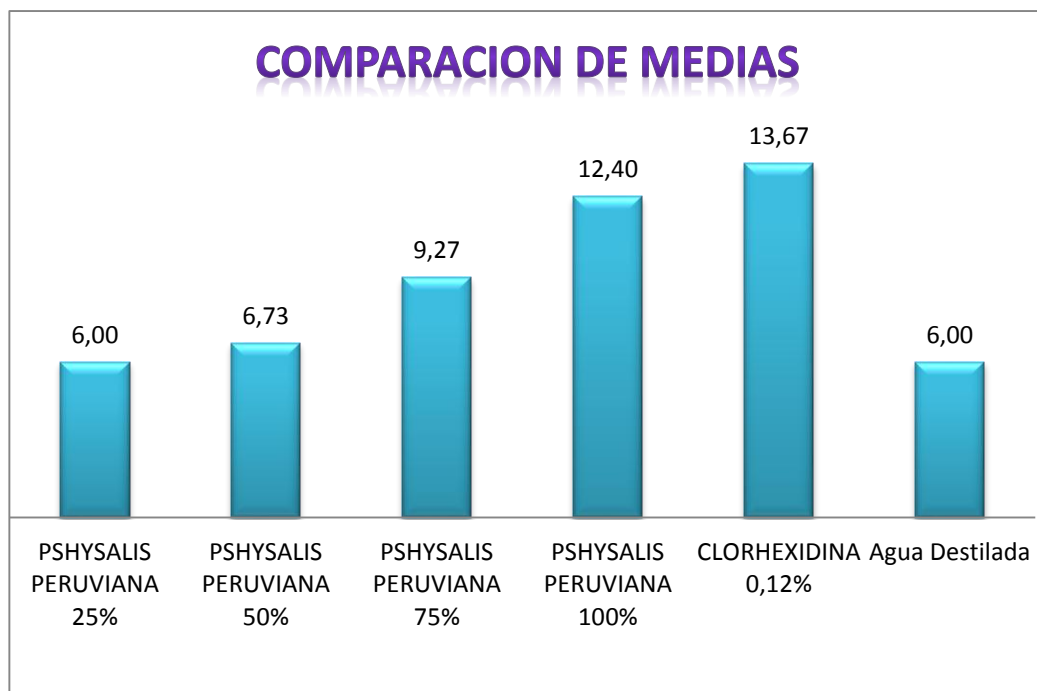
Tabla 6: Análisis Descriptivo

Descriptivos						
MEDIDAS						
	N	Medi a	Desviació n estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
PSHYSALIS PERUVIANA 25%	15	6,00	0,000	0,000	6	6
PSHYSALIS PERUVIANA 50%	15	6,73	0,458	0,118	6	7
PSHYSALIS PERUVIANA 75%	15	9,27	0,704	0,182	8	10
PSHYSALIS PERUVIANA 100%	15	12,40	0,828	0,214	11	14
CLORHEXIDINA 0,12%	15	13,67	0,617	0,159	13	15
Agua Destilada	15	6,00	0,000	0,000	6	6
Total	90	9,01	3,132	0,330	6	15

Fuente y Elaboración: Ing. Jaime Molina

4.3 ANÁLISIS COMPARATIVO

Tabla 7: Análisis Comparativo

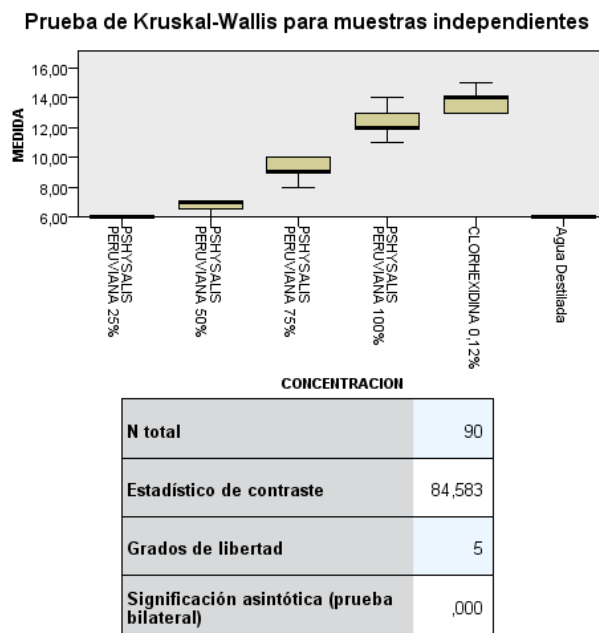


Fuente y Elaboración: Ing. Jaime Molina

En la gráfica, se observa que la media del PSHYSALIS PERUVIANA 100% es muy similar a la media de la CLORHEXIDINA 0,12%, el resto de concentraciones están muy por debajo, para verificar si estas diferencias son significativas se realizó la prueba Kruskal Wallis:

A) Prueba de Kruskal Wallis

Tabla 8: Prueba de Kruskal – Wallis para pruebas independientes



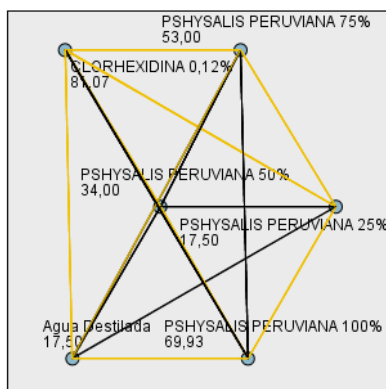
1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

Fuente y Elaboración: Ing. Jaime Molina

- De la Prueba de Kruskal-Wallis, el valor del nivel de significación (Sig. asintótica (prueba bilateral)) = 0,000 es inferior a 0,05 (95% de confiabilidad), luego se aceptó H_a , esto es, existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. No todas las medias, medianas de las muestras son similares.
- Para determinar cuáles son similares o diferentes se hace la prueba dos a dos:

Tabla 9: Comparación por parejas de concentración

Comparaciones por parejas de CONCENTRACION



Cada nodo muestra el rango promedio de muestra de CONCENTRACION.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de prueba	Estándar Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.	Sig. ajust.
PSHYALIS PERUVIANA 25%- Agua Destilada	,000	9,250	,000	1,000	1,000
PSHYALIS PERUVIANA 25%- PSHYALIS PERUVIANA 50%	-16,500	9,250	-1,784	,074	1,000
PSHYALIS PERUVIANA 25%- PSHYALIS PERUVIANA 75%	-35,500	9,250	-3,838	,000	,002
PSHYALIS PERUVIANA 25%- PSHYALIS PERUVIANA 100%	-52,433	9,250	-5,669	,000	,000
PSHYALIS PERUVIANA 25%- CLORHEXIDINA 0,12%	-63,567	9,250	-6,872	,000	,000
Agua Destilada-PSHYALIS PERUVIANA 50%	16,500	9,250	1,784	,074	1,000
Agua Destilada-PSHYALIS PERUVIANA 75%	35,500	9,250	3,838	,000	,002
Agua Destilada-PSHYALIS PERUVIANA 100%	52,433	9,250	5,669	,000	,000
Agua Destilada-CLORHEXIDINA 0,12%	63,567	9,250	6,872	,000	,000
PSHYALIS PERUVIANA 50%- PSHYALIS PERUVIANA 75%	-19,000	9,250	-2,054	,040	,600
PSHYALIS PERUVIANA 50%- PSHYALIS PERUVIANA 100%	-35,933	9,250	-3,885	,000	,002
PSHYALIS PERUVIANA 50%- CLORHEXIDINA 0,12%	-47,067	9,250	-5,088	,000	,000
PSHYALIS PERUVIANA 75%- PSHYALIS PERUVIANA 100%	-16,933	9,250	-1,831	,067	1,000
PSHYALIS PERUVIANA 75%- CLORHEXIDINA 0,12%	-28,067	9,250	-3,034	,002	,036
PSHYALIS PERUVIANA 100%- CLORHEXIDINA 0,12%	-11,133	9,250	-1,204	,229	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula hipótesis nula de que las distribuciones de la muestra 1 y la muestra 2 son iguales.
Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significancia es ,05.

Fuente y Elaboración: Ing. Jaime Molina

- En la tabla de todas las posibles comparaciones
- Son similares (Sig mayores a 0,05):

Tabla 10: Comparaciones entre concentraciones

COMPARACIONES	
PHYSALIS PERUVIANA 25%	AGUA DESTILADA
PHYSALIS PERUVIANA 25%	PHYSALIS PERUVIANA 50%
PHYSALIS PERUVIANA 50%	AGUA DESTILADA
PHYSALIS PERUVIANA 75%	PHYSALIS PERUVIANA 100%
PHYSALIS PERUVIANA 100%	CLORHEXIDINA 0.12%

Fuente: Ing Jaime Molina

Elaboración: Samantha Salas

RESTO DE COMPARACIONES NO SON SIMILARES (SIG MENORES A 0,05)

4.4 ANÁLISIS SEGÚN DURAFFOURD

- Nula (-) si fue menor o igual a 8mm
- Sensible (+) de 9-14mm
- Muy sensible (++) de 15-19mm
- Sumamente sensible (+++) si fue igual a mayor a 20mm

En el análisis cualitativo según la escala Duraffourd se observa la sensibilidad del aceite esencial de *Physalis peruviana* a diferentes concentraciones, así tenemos:

- Aceite esencial de *Physalis peruviana* al 100%, posee un promedio de halo de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM de 12.40mm, se ubica como “Sensible” (+)
- Aceite esencial de *Physalis peruviana* al 75%, posee un promedio de halo de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM de 9.27mm, se ubica como “Sensible” (+)

- Aceite esencial de *Physalis peruviana* al 50%, posee un promedio de halo de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM de 6.73mm, se ubica como “Nulo” (-)
- Aceite esencial de *Physalis peruviana* al 25%, posee un promedio de halo de inhibición sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM de 6mm, se ubica como “Nulo” (-)

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

El presente estudio, tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana* en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%, comparándola con la clorhexidina al 0.12% frente a la cepa *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM. Como una alternativa preventiva sobre la enfermedad que posee mayor prevalencia en Odontología, que es la caries dental.

En el 2015 Mariana Huertas ⁽⁶⁸⁾, realizó una investigación in vitro, sobre el efecto antibacteriano y citotóxico de *Physalis peruviana* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*, obteniendo halos de inhibición de 19.5mm y 25 mm respectivamente. Obteniendo halos “Muy Sensibles” (++). Los resultados obtenidos difieren con los resultados del presente estudio al obtener halos inhibición de 12.40 mm al 100% de concentración, 9.27 mm al 75% sobre cepas *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM. Categorizándolos como “Sensibles” (+). Pero en ambos estudios el control positivo fue la clorhexidina y su halo de inhibición fue mayor en ambos.

Otra investigación en el 2013 realizada por Franco et al ⁽³⁾, tuvo como finalidad evaluar el efecto antibacteriano de la plante de *Physalis peruviana* (1.0 mg/ml), conjuntamente con Gentamicina (0.016 mg/ml) sobre 6 cepas de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* a las 24 horas de incubación, se obtuvo resultados negativos sobre *S. aureus* y *P. aeruginosa* y se comprobó que la sustancia es “Muy Sensible” (+) sobre *K. pneumoniae*. Sin embargo, en este estudio realizado en 15 muestras de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668TM, se evidenció que fue “Sensible” en concentraciones al 75% y 100%; finalmente comprobando que el aceite esencial posee efecto antibacteriano.

En el 2017 Bernarda Ruilova realizó un estudio en Ecuador, en el que se utilizó hojas de *Physalis peruviana* de la ciudad de Guaranda, cuya finalidad fue evaluar el efecto antibacteriano sobre cepas de *Listeria spp* adquiridas de la Universidad de Bolívar, en la que se obtuvo resultados “Muy sensibles” (++), el extracto etanólico fue mayor que la Ampicilina y Gentamicina, a causa de éste resultado el autor recomienda hacer estudios sobre otras bacterias patógenas. No obstante en el presente estudio se recolectó hojas de la Ciudad de Guaranda y se corroboró su efecto antibacteriano, ya que el aceite esencial al 75 y 100% fue

“Sensible” sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ confirmando las recomendaciones de la autora.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Physalis peruviana* a la concentración del 100%, presentó un efecto inhibitorio in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, produciendo un halo de inhibición promedio de 12.40mm, ubicándolo como “Sensible” (+), según Duraffourd.
- El aceite esencial de *Physalis peruviana* a la concentración del 75 %, presentó un efecto inhibitorio in vitro menor a la concentración del 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, produciendo halos de inhibición promedio de 9.27mm, ubicándolo como “Sensible” (+), según la escala de Duraffourd.
- El aceite esencial de *Physalis peruviana* a la concentración del 50%, presentó un efecto inhibitorio in vitro menor a la concentración del 75% sobre *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, produciendo halos de inhibición promedio de 6.73mm, ubicándolo como “Resistente” (+), según la escala de Duraffourd.
- El aceite esencial de *Physalis peruviana* a la concentración del 25%, no presentó efecto inhibitorio in vitro sobre *Streptococcus mutan* ATCC® 35668™.
- La clorhexidina presentó un efecto inhibitorio in vitro, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, produciendo un halo de inhibición promedio de 13.67 mm, ubicándolo como “Sensible” (+), según la escala de Duraffourd
- El *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™, presentó sensibilidad frente al aceite esencial de *Physalis peruviana* al 50%,75% y 100%, sin embargo, se observó y comprobó que la clorhexidina obtuvo un mayor halo inhibitorio.
- El efecto antibacteriano a las 24 y 48 horas fueron exactamente igual, sólo hubo mayor reproduccción de la cepa

6.2 RECOMENDACIONES

- Realizar estudios in- vitro con muestras de microorganismos tomadas de pacientes, que acuden a la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.
- Realizar estudios in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis peruviana*, sobre otros microorganismos que afecten a la cavidad oral por sus efectos antimicóticos y antivirales comprobados en la evidencia científica.
- En futuras investigaciones realizar el tiempo de incubación a las 24 horas, ya que no hubo deferencia de los halos inhibitorios a las 48 horas, sólo se produjo mayor reproducción de la cepa.
- Evitar el uso en futuras investigaciones de aceite esencial de *Physalis peruviana* en concentraciones al 25% o inferiores, debido a que no produce efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.
- Se recomienda, recolectar las hojas un día antes de la fase experimental, ya que las hojas deben reposar una noche después de ser lavadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cardentey J. Empleo de la medicina natural y tradicional en el tratamiento estomatológico. AMC [Internet]. 2015 [citado 04 Jun 2017]; 19 (3): p. 316-321. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552015000300014&lng=es
2. Alarcón Galleguillos, M., & Fernández Da Silva, R. Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en Odontología. Salus. 2013; 17(3).
3. Franco LA, Matiz GE, Pájaro IB, Gómez HA. Actividad antibacteriana in vitro de extractos y fracciones de *Physalis peruviana* y *Caesalpinia pulcherrima*. Bol Latinoam Carie Plant Med Aromat 2012; 12(3): 230-7
4. Zavala, D., Quispe, A., Posso, M., Rojas, J., & Vaisberg, A. Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí) en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica. UNMSM In Anales de la Facultad de Medicina. 2006; 67(4): pp. 283-289
5. Duque RJ, Pérez JA, Hidalgo FI. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cubana Estomatol. [Internet]. 2006 [citado 04 Jun 2017]; 43 (1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007&lng=es
6. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. Revista Ces Odontología. 2013; 26(1): p. 44-56
7. Kustner, E. Antisépticos en medicina bucal: la clorhexidina. Jano. (2003); 59 (1.458): p. 35-37
8. López Gabriela. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC) 10556. 2014. (Consultado 2017 Jun 04). Disponible en URL: <http://repositorioacademico.upc.edu.pe/upc/bitstream/10757/337212/1/Tesis+L%C3%B3pez+Rodr%C3%ADguez.pdf>
9. Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica. 2009; 2(42).
10. Bermudez, M. Uso industrial de plantas Aromáticas medicinales. Unpublished ingeniería, Universidad Politécnica de Madrid. 2009
11. Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. 2006; 36: p. 663-671.
12. Rojas S, Echeverría S. Caries Temprana de Infancia: ¿Enfermedad Infecciosas? Rev. Med. Clin. Condes. 2014; 25(3): p. 581-587
13. Maya, J. J., Ruiz, S. J., Pacheco, R., & Valderrama, S. L. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. Infectio. 2011; 15(2): pp. 98-107
14. Gaete F, Oliva M. Efectividad del Colutorio de Manzanilla Comparado con Placebo y Clorhexidina en Pacientes con Gingivitis entre 19 y 25 Años: Ensayo Clínico Controlado. Int. J. Odontostomat. [Internet]. 2012 [citado 04 Jun 2017]; 6(2): p. 151-156. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2012000200006&lng=es
15. Alarcón M, Fernández R. Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en Odontología. Salus [Internet]. 2013 [citado 05 Jun 2017]; 17(3): p. 42-50. Disponible en:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382013000300007&lng=es

16. Peredo H, Palou E, López A. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2009; 3 (1):p. 24-32
17. s.n. Aceites esenciales Hevea. [Online].; s.f [cited 2017 Marzo 05. Available from: http://es.labo-hevea.com/downloads/HE_es.pdf
18. Bruneton J. *Farmacognosia, Fitoquímica. Plantas Medicinales*. Segunda ed. Zaragoza: Acribia S. A.; 2001.
19. Usano-Aleman, J., Paúl, J. P., & Díaz, S. Aceites esencial: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *REDUCA*. 2014; 7(2).
20. Angulo Flórez, A. M., Cardona, E., Lozano Calderón, A. T., Montañez Pinzón, K. A., & Salcedo Osorio, A. F. *Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de plantas medicinales y aromáticas*. 2014; 1
21. Stashenko, E. *Aceites esenciales*, Centro Nacional de investigaciones para la agroindustrialización de especies vegetales aromáticas y medicinales tropicales. Universidad industrial de Santander. CENIVAM. 2009
22. Bermudez, M. *Uso industrial de plantas Aromáticas medicinales*. Unpublished ingeniería, Universidad Politécnica de Madrid. 2009
23. Aguilar JR. Protocolo de limpieza, desinfección y esterilización del material, equipamiento y vehículos sanitarios (Consultado 2017 Jun 04). Disponible en URL: <http://www.emergencias.es.org>
24. Pássaro CP. *Physalis peruviana L.: FRUTA ANDINA PARA EL MUNDO*. 1st ed. España: Cornucopia; 2014. (Consultado 2017 Jun 04). Disponible en URL: <http://redcornucopia.org/uploads/formacion/Documentos/12/140620837217Physalis%20peruviana%20L.%20FRUTA%20ANDINA%20PARA%20EL%20MUNDO.pdf>
25. Aguilar JR. Protocolo de limpieza, desinfección y esterilización del material, equipamiento y vehículos sanitarios (Consultado 2017 Jun 04). Disponible en URL: <http://www.emergencias.es.org>
26. Calvo Villegas I. *EL CULTIVO DE LA UCHUVA (Physalis peruviana)*. Proyecto Microcuenca Plantón – Pacayas. 2009; Boletín técnico No. 10
27. Fischer G, Almanza P, & Miranda D. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Rev Bra de Fruticultura*. 2014; 36(1): p. 01-15.
28. Cueva, M. B. R., León, R. A. T., López, M. M., Yanchaliquín, A., Morejón, I. F. B., & Salguero, H. S. Antibacterial Effects of Uvilla (*Physalis peruviana* L.) extracts against *Listeria* spp. Isolated from Meat in Ecuador. *Int. J. Curr. Microbiol*. 2017; 6(4), p: 1146-1153
29. Matiz, G. E., Calle, J., Pinzón, R., & Ospina, L. F. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica*. 2007; 27(1), 110-5.
30. Palomer R. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. *Rev. chil. pediatr.* [Internet]. 2006 [citado 04 Jun 2017]; 77(1): p. 56-60. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062006000100009&lng=es
31. Neira G, Ramírez G, Sánchez P. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. *Rev*

- Cubana Plant Med [Internet]. 2005 [citado 04 Jun2017] ; 10(3-4): .Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000300008&lng=es
32. Reyes Jurado, F., Palou, E., & López Malo, A. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. 2012; 6(1): 29-39.
 33. Lagos, E. (2012). Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *thymus vulgaris* L. “tomillo” frente a *porphyromonas gingivalis* atcc 33277 causante de gingivitis. Tesis de grado, Odontología, Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann. Tecna-Perú
 34. Patrick, M., Rosenthal, S., & Pfaller, A. (2009). Microbiología médica. Sexta edición. Editorial El Sevier Mosby. 2009.
 35. Gómez, A. A., Agudelo, C. M., Sánchez, S. B., Clavijo, M. C., Ávila, A. C., Correa, C. D & Isabel, S. Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la odontología. Pontificia Universidad Javeriana. 2006
 36. Lamont R. Microbiología e inmunología oral. Primera ed. Saavedra DJLM, editor. México: Editorial El Manual Moderno; 2015.
 37. García Santos MC. Estudio A Doble Ciego Aleatorio Sobre la Prevencion Quimioterapéutica de la Caries Dental con Barnices de Clorhexidina y Timol en Niños de 5 a 8 años. Tesis Doctoral. Madrid: universidad complutense de madrid, departamento de estomatología iv; 2004. report no.: isbn: 84-669-2621-6.
 38. Núñez, D. P., & García Bacallao, L. Bioquímica de la caries dental. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2010; 9(2): 156-166.
 39. Bordoni N, Escobar A, Castillo R. Odontología Pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual. 1st ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 2010.
 40. Ortiz Uribe, N. C. Desinfección de cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* usando vinagre, clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio. Bachelor's thesis, Quito: UCE. 2017
 41. López Lascano da. Microorganismos Presentes en los cepillos dentales después de su uso. 2014. Tesis previo a la obtención del título de odontólogo
 42. González Rodríguez S. Epidemiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años. Revista de ciencias médicas. 2014 Marzo; 20(2): p. 208-218.
 43. Higashida B. Odontología Preventiva. Segunda edición ed. México, D.F.: McGRAWHILL; 2009
 44. MSP. Caries. Guías de Práctica Clínica. Informe Técnico. Quito: Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Normatización MSP; 2015. Report No.: ISBN 978-9942-07-971-8.
 45. Escobar G, Ortiz A, Mejia M, et al. Caries dental en los menores de 20 años en Colombia: Un problema se salud publica. Rev Facultad Nacional . 2003
 46. Cuadrado DB, Peña RE, and Gómez JF. El concepto de caries: hacia un tratamiento no invasivo. Rev. ADM. 2013; 70 (2): p. 54-60.
 47. González Sanz, Á. M., González Nieto, B. A., & González Nieto, E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutrición hospitalaria*. 2013; 28: 64-71.
 48. Núñez, D. P., & García Bacallao, L. Bioquímica de la caries dental. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2010; 9(2): 156-166.
 49. Sunaina S, Biju T, Veena S, Rahul B, Raghavendra S. An in-vitro evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A

- microbiological study. An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda. 2013
Octubre
50. Negroni, M. *Microbiología estomatológica*. Ed. Médica Panamericana. 2000
 51. Sánchez-Pérez, L., Sáenz-Martínez, L., Luengas-Aguirre, I., Irigoyen Camacho, E., Álvarez Castro, Á. R., & Acosta-Gio, E. Análisis del flujo salival estimulado y su relación con la caries dental. Seguimiento a seis años. *Revista ADM*. 2015; 72(1).
 52. Fazeli, M. R., Amin, G., Attari, M. M. A., Ashtiani, H., Jamalifar, H., & Samadi, N. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food control*. 2007; 18(6): 646-649.
 53. Skov, R., Smyth, R., Larsen, A. R., Bolmstrom, A., Karlsson, A., Mills, K., ... & Kahlmeter, G. Phenotypic detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* by disk diffusion testing and Etest on Mueller-Hinton agar. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44(12): 4395-4399.
 54. Cona, T. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Revista chilena de infectología*. 2002; 19: 77-81.
 55. Vanaclocha, B. V., & Folcara, S. C. *Fitoterapia: vademécum de prescripción*. Barcelona: Masson. 2003; 12.
 56. Llena Puy, C. (2006). La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2006; 11(5): 449-455.
 57. Bascones A, Morante S. Antisépticos Orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avanves*. 2006; 18(1): p. 31-59.
 58. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg-26*. MC GRAW HILL. 2014
 59. Marín, Z. T., Cortés, M., & Montoya, O. I. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente procesada inoculada con la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la técnica de impregnación a vacío. *Revista chilena de nutrición*. 2010; 37(4): 461-472.
 60. Cona, T. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Revista chilena de infectología*. 2002; 19: 77-81.
 61. Gomés de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental*. 3rd ed. México: Panamericana; 2009
 62. Doleski Muhd PS, Ferreira Cuelho CH, Calil Brondani J, Palermo Manfron M. Chemical composition of the *Schinus molle* L. essential oil and their biological activities. *Revista Cubana de Farmacia*. 2015; 49:132-43.
 63. Vásquez S, Lobos O, Padilla C. Presencia de genes de virulencia *gtfB* y *spaP* en *Streptococcus mutans* aislados desde saliva y su relación con el índice COP y ceod. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*. 2014;7(2):65
 64. Douglas, A. *Características Agronómicas de *Fisalis* producida por diferentes métodos* Ed. Médica Panamericana 2011
 65. Ruiz, C., Díaz, C., & Rojas, R. Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2015; 81(2): 81-94

66. Figueroa-Gordon, M., Alonso, G., & Acevedo, A. M. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. *Acta odontológica venezolana*. 2009; 47(1): 1-13.
67. Campos Florián, J., Bobadilla Villa, D., Huamán Bermeo, M., & Bazán Vásquez, M. Efecto del extracto del fruto de *Physalis peruviana*" tomatillo. *Scientia Agropecuaria*. 2011; 2(2).
68. Huertas Campos, M. C... Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de *Physalis peruviana* (capulí) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). 2015

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de elaboración del trabajo experimental.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

CERTIFICADO

Certifico que la Señorita SALAS ROMERO SAMANTHA SOLANGE, con Cédula de Identidad No. 172768132-0, realizó las pruebas diagnósticas bacteriológicas en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador en conjunto con la Dra. Rachide Acosta, para el estudio de su tesis con el tema "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA VS CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS". Dicho estudio fue realizado con las normas de calidad establecidas.

La mencionada señorita puede hacer uso de este documento como crea conveniente a sus intereses.

Quito, 2 de agosto del 2017

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

Alexandra



Anexo 2: Certificado de obtención del aceite esencial de *Physalis peruviana*.

Quito, 26 de julio del 2017

A QUIEN INTERESE

Yo, Darwin Roldán Robles Bioquímico Farmacéutico con CC 1002174116,

CERTIFICO QUE:

El aceite de Uvilla (*Physalis Peruviana*) que se utilizó en el trabajo de tesis de la señorita Samantha Solange Salas Romero "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Physalis Peruviana* vs Clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ". Fue elaborado bajo mi responsabilidad técnica controlando los parámetros de calidad que este tipo de productos requieren.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad. El mencionado señor puede hacer uso de este certificado como bien lo pareciere.

Atentamente



B.F. Darwin Roldán Robles. Msc.

CC 1002174116

Anexo 3: Compra de la cepa Streptococcus mutans ATCC® 35668™ en Medibac.



IMPORTADOR - DISTRIBUIDOR
Proveedor Integral para Laboratorio
www.medibac.com medibac@medibac.com
ESTABLECIDOS EN 1991

MATRIZ
Guayaquil : Enrique Ortega Moreira (Av. Las Aguas) 1111
y Laureles (Urdesa Central)
Teléfonos: (04) 288 1414 - 238 8597 - 288 1887
Celular: (09) 98574 829

SUCURSAL MULTIPLE GUAYAQUIL
Victor Emilio Estrada # 916 e Ilanes (Urdesa Central)
Telfs.: (04) 602 999 - 238 7418 - 288 3948 - 612 069 - 548 929 - 548 210

SUCURSAL QUITO
Av. República de El Salvador N34-399 e Irlanda. (La Carolina)
Edificio Rosanía. Planta Baja, Oficinas 4 y 6
Teléfonos: (02) 226 1478 - 246 6318

SUCURSAL PORTOVIEJO
Cda. Los Mangos calle Elias Cedeño E/ Bolívar Avila y Manuel Andrade
Piso 1.
Telf.: (05) 256 5182 Celular: 0958935253

R.U.C. 0992401494001

FACTURA

002-001-000006194

Autorización S.R.L. 1119461840

FECHA DE AUTORIZACIÓN: 15 /Septiembre/2016

Documento Categorizado: NO

Cliente: SALAS ROMERO CARLA DANIELA

Dirección: AV. AMÉRICA Y VOZ ANDES EDIF. KENZEN PISO 5

R.U.C. / C.C.: 1715935951001

Teléfono: 022 438140

Asesor Comercial: CARMITA PAZMIÑO

Fecha de Emisión: 28/06/2017

Fecha de Vencimiento: 29/06/2017

Orden de Compra:

Orden de Pedido: 17.247

CANT.	CÓDIGO	MARCA	DESCRIPCIÓN	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
1	0969P	MBL	STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 35668	171,95	171,95



Innovación, Calidad y Servicio

FORMA DE PAGO

OTROS 192,58

Son: Ciento Noventa Y Dos Y 58 / 100 Dólares Americanos **Dólares**

SUMAN \$ 171,95

DESCUENTO

BASE 0 0,00

BASE 12 171,95

I.V.A. 12% 20,63

TOTAL \$ 192,58

Medibac Inc S.A.

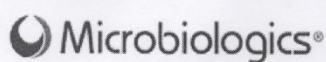
Firma Autorizada

Firma Cliente

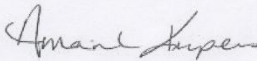
FAVOR EMITIR CHEQUE CRUZADO A NOMBRE DE MEDIBAC INC. S.A.
Declaro recibir la mercadería de esta FACTURA a mi entera conformidad; por lo tanto, DEBO Y PAGARÉ a la orden de MEDIBAC INC S.A. Esta factura de encontrarse vencida, al siguiente día devengará el máximo de INTERES POR MORA autorizado por la LEY, más todos los gastos de cobranzas ocasionados. En caso de juicio me sujetaré a los jueces competentes de la ciudad de Guayaquil y a la acción ejecutiva para lo cual renuncio a fuero y domicilio. **PASADO LOS CINCO DIAS DE SALIDA LA MERCADERIA NO SE ACEPTAN DEVOLUCIONES.**
SOLICITE SU RECIBO DE COBRO AL CANCELAR ESTA FACTURA

ORIGINAL: ADQUIRENTE // COPIA 1: EMISOR COPIA 2: S.R.L.

Anexo 4: Estado liofilizado de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0969 Lot Number: 969-46 Reference Number: ATCC® 35668™* Purity: > 99.9% of Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2		Expiration Date: 2018/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2016/12/1
Performance		
Macroscopic Features: Small, circular, white to translucent. Microscopic Features: Gram positive cocci in medium or long chains.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

ATCC Licensed
Derivative

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.


ACCREDITED
 TESTING CERT #2655.01

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

MEDIBAC-INC S.A.
 Distribuidor para el Ecuador de
MICROBIOLOGICS
 Registro Sanitario AD-541-04-13

Anexo 5: Activación de la cepa de acuerdo a las normas del fabricante.

KWIK-STIK™ Instructions for Use

Please add the packaging option to the catalog number when placing an order: P = KWIK-STIK™ 2 Pack, S = KWIK-STIK™ 10 Pack. Example: 0335P, 0335S

- 

Allow the unopened KWIK-STIK™ pouch to equilibrate to room temperature. Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK™ unit.
- 

Tear off Pull-Tab portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC record. Do not disassemble the device during hydration.
- 

Pinch (once only) the ampoule at the top of the KWIK-STIK™ (just below the fluid meniscus of the ampoule) found in the cap to release the hydrating fluid.
- 

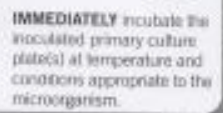
Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of fluid through shaft into bottom of unit containing pellet. Allow the hydrating fluid to flow through the swab shaft and into the bottom portion of the unit containing the pellet.
- 

Using a pinching action on the bottom portion of the unit, crush the pellet in the fluid until the pellet suspension is homogenous.
- 

IMMEDIATELY heavily saturate the swab with the hydrated material and transfer to agar medium.
- 

Inoculate the primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.
- 

Using a sterile loop, streak to facilitate colony isolation.
- 

Using proper biohazard disposal, discard the KWIK-STIK™.
- 

IMMEDIATELY incubate the inoculated primary culture plate(s) at temperature and conditions appropriate to the microorganism.

Visit www.microbiologics.com or call 320.253.1640 to place your order!

Anexo 6: Certificado de esterilización del materia utilizado en el Laboratorio de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

CERTIFICADO

El Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Universidad Central del Ecuador, certifica que todo el material utilizado en la realización de las tesis de la Facultad de Odontología, es sometido a proceso de esterilización previo a su uso.

Quito, 2 de agosto del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

Alexandra



Anexo 7: Protocolo de bioseguridad para el manejo de desechos infecciosos.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

PROTOCOLO DE MANEJO DE DESECHOS INFECCIOSOS

- a) Los cultivos de agentes infecciosos y desechos biológicos, cajas Petri, placas de frotis y todos los instrumentos para manipular, mezclar o inocular microorganismos son recolectados en un recipiente específico rotulado y son llevados al "área de generación".
- b) Los desechos serán clasificados y separados, por los responsables en el área de generación.
- c) Las Cajas Petri, los tubos de ensayo de vidrio, Hisopos contaminados se colocaran en autoclave para el proceso de esterilización mediante la combinación de calor y presión proporcionada por el vapor de agua, en un tiempo determinado a 134° C, a 1,1 atmósferas por un periodo de 30 min.
- d) Se deja enfriar aproximadamente por 30 minutos.
- e) Las placas, portaobjetos y cubreobjetos, se deja en un recipiente de vidrio para su posterior descontaminación (hipoclorito 5.000 ppm durante 20 minutos), se lava con agua y detergente.
- f) Posterior a ello todo el material de desechos generado y previamente tratado se coloca en funda roja rotulada que contiene la siguiente información: contenido (cortopunzante, infeccioso), peso, fecha y persona responsable. Se realiza el traslado del material generado al cuarto de Depósito Final de Desechos de la Facultad de Ciencias químicas hasta su recolección.
- g) El personal responsable observando los lineamientos de bioseguridad correspondiente usa guantes, mascarilla, gorro, que posteriormente son desechados en fundas rojas.
- h) El manejo externo de desechos biológicos, es efectuado por la Empresa Pública Metropolitana Integral de Residuos Sólidos, "EMGIRS-EP", quienes trabajan conjuntamente con el laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas, y son los encargados de retirar del área de Depósito los desechos infecciosos, biológicos y especiales.

Quito, 2 de agosto del 2017

Rachide Acosta

Dra. Rachide Acosta
LABORATORIO CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Anexo 8: Autorización para la eliminación de desechos infecciosos.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO

AUTORIZACIÓN

Se autoriza el uso de las instalaciones del depósito de desechos infecciosos del Laboratorio Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas, para descartar los materiales contaminados que fueron utilizados en el proyecto de investigación: " EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA VS CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS". Realizado por la Srta. Salas Romero Samantha Solange.

Quito, 2 de agosto del 2017


Dra. Rachide Acosta
JEFA DE LOS LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICO Y BACTERIOLÓGICO



Ministerio

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral – Teléfono: 2502-456 – 2502-262 Ext. 16 – Quito

Anexo 9: Certificado de resultados de análisis microbiológico.



CLIENTE: SAMANTHA SALAS ROMERO
MUESTRA: ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA
FECHA DE ANÁLISIS: 2017/07/24

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA VS
CLORHEXIDINA SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS

VALORES DE SENSIBILIDAD EN EL AROMATOGRAMA (DURAFFOURD)

S. NULA < 8 mm
S. LÍMITE 9-14 mm
S. MEDIA 15-19 mm
SUMAMENTE SENSIBLE > o = 20 mm

CEPA DE ESTUDIO: STREPTOCOCCUS MUTANS

ATCC 35668
LOTE 969-465
FECHA DE CADUCIDAD 30-09-18

RESULTADOS

REPETICIÓN	FRUTO PSHYSALIS PERUVIANA										CLORHEXIDINA 0,12%		AGUA DESTILADA	
	25%		50%		75%		100%		100%		24 HORAS		24 HORAS	
	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
1	6	6	6	6	10	10	12	12	12	12	13	13	6	6
2	6	6	7	7	9	9	12	12	12	12	13	13	6	6
3	6	6	7	7	8	8	13	13	13	13	14	14	6	6
4	6	6	7	7	9	9	12	12	12	12	13	13	6	6
5	6	6	6	6	9	9	14	14	14	14	13	13	6	6
6	6	6	7	7	8	8	12	12	12	12	14	14	6	6
7	6	6	7	7	9	9	12	12	12	12	14	14	6	6
8	6	6	6	6	9	9	13	13	13	13	14	14	6	6
9	6	6	7	7	10	10	12	12	12	12	13	13	6	6
10	6	6	7	7	9	9	12	12	12	12	14	14	6	6
11	6	6	7	7	10	10	11	11	11	11	14	14	6	6
12	6	6	7	7	10	10	12	12	12	12	13	13	6	6
13	6	6	6	6	9	9	12	12	12	12	14	14	6	6
14	6	6	7	7	10	10	13	13	13	13	15	15	6	6
15	6	6	7	7	10	10	14	14	14	14	14	14	6	6

Rachide Acosta
DRA. RACHIDE ACOSTA

Anexo 10: Ficha de recolección de datos.

Nombre de la bacteria	Número de cepa	Número de muestra	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA								CONTROL POSITIVO		CONTROL NEGATIVO	
			25%		50%		75%		100%		Clorhexidina 0,12%		Suero fisiológico	
			24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Streptococcus mutans ATCC	35668	Halos de inhibición (mm)												
		1	6	6	6	6	10	10	12	12	13	13	6	6
		2	6	6	7	7	9	9	12	12	13	13	6	6
		3	6	6	7	7	8	8	13	13	14	14	6	6
		4	6	6	7	7	9	9	12	12	13	13	6	6
		5	6	6	6	6	9	9	14	14	13	13	6	6
		6	6	6	7	7	8	8	12	12	14	14	6	6
		7	6	6	7	7	9	9	12	12	14	14	6	6
		8	6	6	6	6	9	9	13	13	14	14	6	6
		9	6	6	7	7	10	10	12	12	13	13	6	6
		10	6	6	7	7	9	9	12	12	14	14	6	6
		11	6	6	7	7	10	10	11	11	14	14	6	6
		12	6	6	7	7	10	10	12	12	13	13	6	6
		13	6	6	6	6	9	9	12	12	14	14	6	6
		14	6	6	7	7	10	10	13	13	15	15	6	6
		15	6	6	7	7	10	10	14	14	14	14	6	6

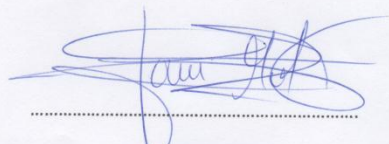
Anexo 11: Carta de renuncia del trabajo estadístico.

Quito, DM 30 DE Agosto del 2017

A quien corresponda:

Yo, ING JAIME MOLINA con CI. 1709175275, por el presente renuncio a todos los derechos de autor y propiedad intelectual relacionado al trabajo estadístico, análisis de resultados, matriz o variables realizado en el trabajo titulado **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA VS CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS"**, de la Srita SALAS ROMERO SAMANTHA SOLANGE, por lo tanto puede hacer uso del presente como a bien tuviere.

Atentamente:



ING. JAIME MOLINA

CI. 1709175275

UNIVERSIDAD CENTRAL DE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ENTRECALADO
6/9/2017
FECHA
FIRMA
UNIDAD DE REGISTRO
TITULADO

Anexo 12: Certificado de traducción oficial del resumen

TOPIC: "Antibacterial effect of *Physalis peruviana* essential oil versus chlorhexidine, on *Streptococcus mutans* strains"

ABSTRACT

Traditional medicine has been used for dentistry purposes for many years, due to the need to find new natural and accessible alternatives with less collateral effects, to prevent and treat certain diseases through the inhibition of pathogenic microorganisms. Scientific evidence has demonstrated that *Physalis peruviana* essential oil has a great inhibitory effect against Gram positive bacteria. Among the latter, we can find *Streptococcus mutans*, which is responsible for one of the diseases with the highest rate of prevalence in public health, namely dental cavities, due to its high virulence and pathogenicity. Hence, the objective of the present study was to determine the inhibitory effect of *Physalis Peruviana* (Uvilla) essential oil, obtained through steam distillation technique, compared to chlorhexidine, on *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ strains. Concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% *Physalis Peruviana* essential oil were used, using 0.12% chlorhexidine as positive control and distilled water as negative control. Halos of inhibition were measured after 24 and 48 hours of exposure. Results were obtained through Kruskal Wallis non-parametric tests and showed that 50%, 75% y 100% *Physalis peruviana* essential oil have antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ strains.

KEY WORDS:

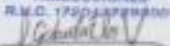
STREPTOCOCCUS MUTANS / VIRULENCE / PATHOGENICITY / CHLORHEXIDINE / PHYSALIS PERUVIANA

Quito, November 3rd, 2017. I hereby CERTIFY that this is a faithful, complete and accurate translation to English from the original document listed below, originally written in Spanish.

GABRIELA FLORES VILLACIS

TRADUCCIONES

R.M.C. 1750142960001



Gabriela Flores Villacis

TRANSLATOR

0993641388

Anexo 13: Certificado de aprobación por parte del Comité de Ética en Seres Humanos



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

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

CERTIFICA:

Que conoció la evaluación realizada por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Odontología al Protocolo de Investigación presentado por el (la) señor (ita), **Samantha Solange Salas Romero**, egresado (a) de Grado de la Facultad de Odontología, con el tema:

"Efecto antibacteriano del aceite esencial de Physalis Peruviana vs Clorhexidina sobre Cepas de Streptococcus mutans."

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

Quito, 01 de agosto del 2017,

Dr. Fernando Salazar Manosalvas
PRESIDENTE

Dr. Patricio Pazán León
SECRETARIO

Germana R.

Anexo 14: Aprobación del tema de investigación



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



INSCRIPCIÓN DEL TEMA (A-3-A)

1. TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN			
EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE PHYSALIS PERUVIANA VS CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS			
Proyecto No.	Uso exclusivo de la C.I.		
Recibido por	Firma	Fecha	
Entregado por	Firma	Fecha	
2. DATOS DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL			
Nombre y apellidos	Samantha Solange Salas Romero		
Número de C.I.	1727681320		
3. DATOS DEL TUTOR			
Nombre y apellidos	JUAN PABLO JARAMILLO BURNED		
Número de C.I.	1713048310	Cargo	☐ Docente tiempo completo ☒ Docente medio tiempo
Área de Investigación	CIENCIAS ODONTOLÓGICAS BÁSICAS		
Línea de Investigación	BIOLOGÍA-BUCAL		
Firma del Tutor			
4. DATOS DEL CO-TUTOR (EN CASO QUE LO REQUIERA)			
Nombre y Apellidos			
Número de C.I.		Cargo	☐ Docente tiempo completo ☐ Docente medio tiempo
Área de Investigación			
Línea de Investigación			
5. RESUMEN DE PROYECTO			
Máximo 250 palabras			
Objetivo Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de physalis peruviana (capuli) vs clorhexidina al 2% sobre cepas de streptococcus mutans			
Metodología El efecto antimicrobiano de los agentes del estudio serán evaluados a partir de una unidad de sedimento liofilizado de Streptococcus mutans con referencia ATCC 35668 importadas de			



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



BEU por la empresa Medibac, en 15 unidades experimentales (cajas Petri con Agar Muller Hinton). Posteriormente serán incubadas por 24 horas a 35°C en el laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador

La physalis peruviana será obtenida personalmente en la ciudad de Ambato. Para poder obtener este extracto se tendrá que macerar el fruto de la planta con metanol durante un determinado tiempo, luego esta será filtrada y se obtendrá el aceite esencial. La característica de esta sustancia es que conserva las propiedades esenciales y constitutivas de la planta que se realizará Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador

Justificación

La relevancia del presente estudio se ve justificada ya que a pesar de avances científicos en la actualidad la caries dental es uno de los mayores problemas en nuestra sociedad, que puede avanzar a problemas mayores si no es tratada a tiempo. Varios microorganismos son responsables de la patogénesis de la caries dental, pero el más prevalente es el *Streptococcus mutans* por lo tanto es importante investigar como detener la proliferación de esta bacteria, buscando alternativas complementarias naturales accesibles y asequibles en el Ecuador. En nuestro país la physalis peruviana conocida como uvilla, capulí o uchuva es una alternativa medicinal cuya evidencia científica demuestra efecto antiinflamatorio, analgésico, antibacteriano. En cuanto a una evidencia científica contra *Streptococcus mutans* ha sido poco documentado y comprobado

6-9 meses

6. INSTITUCIÓN PARTICIPANTE

Nombre la Institución	Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador		
Representante legal	Rachide Alexandra Acosta Rojas		
Teléfonos	2502262	Correo electrónico	labclinicoqc@hotmail.com
Dirección	Francisco Viteri y Gilberto Gatto Sobral Ciudadela Universitaria		
Página Web	Laboratorioqc.wordpress.com		

7. APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA U.C.E.

SI

NO

8. OBSERVACIONES

Firma del Investigador/Alumno
Samantha Solange Salas Romero

Firma del Coordinador de la Unidad de Titulación:
Dra. KARINA FARFÁN.