



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
ESTOMATOLOGÍA**

TESIS

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE MYRCIARIA DUBIA
“CAMU-CAMU” FRENTE STREPTOCOCCUS
MUTANS ATCC 35668**

**PARA OPTAR TITULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

Autor:

Pasco Pérez César Gustavo

Asesor:

Dra. CD. La Serna Solari Paola Beatriz

Línea de Investigación:

Ciencia de la vida y cuidado de la salud humana

Pimentel – Perú

2019

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO
DE MYRCIRIA DUBIA “CAMU-CAMU” FRENTE STREPTOCOCCUS
MUTANS ATCC 35668.**

Aprobación del jurado

Dra. C.D. La Serna Solari Paola Beatriz
Asesor metodólogo

DRA. MBLGA. Henckell Sime Clara Luisa
Presidente del jurado de tesis

MG.CD. Romero Gamboa Julio Cesar
Secretario del jurado de tesis

MG. MBLGO. López López Elmer
Vocal del jurado de tesis

DEDICATORIA

A Dios

Por darme la vida y guiarme por un buen camino.

A mis padres

Cesar agosto y María del pilar quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más.

A mi hermana

Por su presencia constante siempre, apoyo moral, que me brindo a lo largo de esta etapa.

A mi novia

Daniella T. por la gratitud, voluntad y la ayuda desinteresada que me brindaste a lo largo de este proceso me ayudo a concluir esta meta

AGRADECIMIENTO

A la **Lic. Fressia Arrunategui Cabrera** coordinadora de laboratorios FACCSA, gracias a su orientación y paciencia, pude haber hecho esta investigación.

A mi asesora metodológica **Dra. CD. La Serna Solari Paola Beatriz**, por su tiempo y paciencia en la asesoría de toda la tesis, también por sus buenos aportes que han dado buenos resultados en la finalización de la misma.

A mis padres **Cesar Augusto y María del Pilar** por todo el sacrificio que hicieron para poder apoyarme en todo, para ejecutar de la mejor manera el presente estudio.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanolico *Myrciaria dubia* “camu-camu” en concentraciones de 25% 50% y 75% y un control positivo con Gluconato de clorhexidine al 0.12% frente al crecimiento de *streptococcus mutans* (ATCC 35658). Fue un estudio experimental, descriptivo, observacional. La muestra estuvo conformada por el grupo placas petri con la siembra adecuada de la bacteria *Streptococcus mutans* de 1 a 2×10^8 (UFC/ml) con las tres concentraciones del extracto hidroetanolico, para la recolección de datos se utilizo la ficha de recolección de datos. Los resultados mostraron que todas las concentraciones mostraron halos de inhibición superiores a 7 mm, que aumentaron directamente proporcional a la concentración utilizada y que hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones. Se concluye que el extracto hidroetanólico *Myrciaria dubia* (camu-camu), si presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *streptococcus mutans* (ATCC 35668)

Palabras Claves: Antibacteriano, Myrciaria dubia, Streptococcus Mutans, Inhibición.

ABSTRAT

The objective of this research was to determine the antibacterial effect of the hydroquinhanic extract *Myrciaria dubia* "camu-camu" in the values of 25% and 75% and a positive control with 0.12% chlorhexidine gluconate against the growth of *Streptococcus mutans* (ATCC 35658). The extract was obtained through the fruit *Myrciaria dubia*, the susceptibility was made using the Kirby Bauer method (disk diffusion). For the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC). A sterile swab record was established with the *S. Mutans* inoculum in Mueller-Hinton-based blood agar plates where sterile filter paper discotheques were placed in which 25 μ L of each grade of the extract were incorporated. Sowed and faced the results of the extract were subsequently incubated at 37 ° C for 24 hours. It was determined that all expressions are shown in a halo of inhibition greater than 7 mm, which increases proportionally to the concentration and there is a statistically significant difference between them. In addition, the minimum inhibitory concentration was 25%. It was concluded that the hydrogenated extract *Myrciaria dubia* (camu-camu), if it has antibacterial effect in vitro on strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 35668)

Key Words: Antibacterial, *Myrciaria dubia*, *Streptococcus Mutans*, Inhibition.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Realidad Problemática.....	1
1.2.	Trabajos Previos	2
1.3.	Teorías relacionadas al tema.....	4
1.3.1.	La microbiota	4
1.3.2.	La saliva	4
1.3.3.	Película adquirida	4
1.3.4.	La caries dental.....	5
1.3.5.	Myrciaria dubia “Camu Camu”	6
1.3.6.	Compuestos fenólicos.....	6
1.3.7.	Medicina alternativa	6
1.3.8.	Fitoterapia.....	6
1.3.9.	Medio de cultivo.....	7
1.4.	Formulación del Problema.....	7
1.5.	Justificación e importancia del estudio.....	7
1.6.	Hipótesis.....	8
1.7.	Objetivos	9
1.7.1.	Objetivo general	9
1.7.2.	Objetivos específicos	9
1.8.	Controles	9
II.	MÉTODO.....	10
2.1.	Tipo y Diseño de Investigación.....	10
2.2.	Variables, Operacionalización.....	10
2.2.1.	Variable Independiente:.....	10
2.2.2.	Variable Dependiente:	10
2.3.	Población y muestra.....	11
2.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	11
2.5.	Procedimiento de análisis de datos.....	12
2.6.	Aspectos éticos.....	13
2.7.	Aporte científico.....	13
III.	RESULTADOS.....	14
3.1.	Tablas y figuras	14
3.2.	Discusión de resultados.....	18
IV.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	20
	CONCLUSION	20

REFERENCIAS.....	22
ANEXOS	25
ANEXO N°01	25
ANEXO N°02	26
ANEXO N°03	27
ANEXO N° 04	28
ANEXO N° 05	31
ANEXO N°06	32
ANEXO N°07	34
ANEXO N°08	35
ANEXO N°09	37

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental constituye una de las enfermedades crónicas, de origen multifactorial que produce la desmineralización de los tejidos dentales duros, el desequilibrio entre factores patológicos y protectores influye en el inicio y progresión de la caries¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS), muestra que entre el 60% y 90% de adolescentes presentan caries dental, sin embargo, en los adultos el panorama es preocupante ya que un 100% padecen esta condición, lo cual muchas veces esto acompañado de dolor y diversas molestias².

Por otro lado, se sabe que *Streptococcus Mutans* (*S. mutans*) se transmite inicialmente por la madre a través de la saliva durante el proceso de lactancia, también se sabe que *S. mutans* se encuentra en la flora oral inmediatamente después de la erupción dental³.

Si nos situamos en nuestros antepasados, se conoce que el hombre trato de aliviar muchas de sus dolencias producidas por diversas enfermedades, con los recursos que tenía a su disposición y lo que la naturaleza le otorgaba, sin embargo, con el trascurso del tiempo y el avance de la ciencia se desarrolló la forma de aliviar muchas enfermedades, ya sea por medio de plantas medicinales endémicas de cada región, término que con el tiempo tomo el nombre de medicina tradicional, lo cual ha profundizado su estudio frente a algunas enfermedades y poder así ser comparado con algunos medicamentos de otro proceder, se puede afirmar entonces que la fitoterapia aún está vigente y hoy en día se pueden obtener estudios que demuestren científicamente las bondades que nos puede regalar la naturaleza⁴.

Ante esta situación, en la presente investigación se determinará el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Myrciria Dubia* “Camu” frente a *Streptococcus mutans* mediante el método kirby-bauer o difusión de disco.

1.1. Realidad Problemática.

La caries dental es una enfermedad infecto-contagiosa, una de las principales causas es el consumo desmedido de azúcar fermentable, lo que lleva a un cambio en el equilibrio de la flora oral⁵. Actualmente, muchos bebés sufren de caries, que es causada por varios factores, como hábitos incorrectos de lactancia

materna, factores ambientales, nivel educativo, mala higiene oral y ninguna visita al dentista⁶.

Según estudios realizados en Latinoamérica, el *S. mutans* está asociado con la formación de caries dental, por lo que este microorganismo es uno de los principales factores que originan esta enfermedad en las personas, es importante indicar que los grados de infección por *S. mutans* aumentan el peligro de tener caries⁷.

Además, *S. mutans* genera ácidos que viajan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, liberando un tipo de reacción química, separando rápidamente los minerales del esmalte, creando calcio y fosfato, para que luego se propague, lo que a su vez se extiende fuera del esmalte, lo que se conoce como desmineralización⁸.

El Ministerio de Salud (MINSA) en el 2013, informó que, en el Perú, alrededor del 90% sufre de caries dental, además de otras enfermedades orales como la enfermedad periodontal y las malas oclusiones, el 10% de la población ha perdido entre una o dos piezas dentales debido a la mala higiene bucal⁹.

1.2. Trabajos Previos

Saldarriaga E¹⁰. Perú. (2017). Análisis del efecto antibacteriano in vitro de los extractos de *Myrciaria Dubia* (camu camu) al 25%, 50%, 75% y 100% en *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Se utilizó el extracto de la cáscara de *Myrciaria Dubia*, con el procedimiento de Kirby-Bauer y para la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los resultados mostraron que las zonas inhibitorias aumentaron más de 8 mm en proporción a la densidad que se utilizó y que hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones, además la concentración inhibitoria más baja fue de 25%. Se concluye que el extracto etanólico de *Myrciaria Dubia* (Camu Camu) tenía un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

Camere R¹¹. Perú. (2015). Determino la evaluación in vitro de los efectos antibacterianos y citotóxicos del extracto metanólico de la semilla y pulpa de *Myrciaria Dubia* (camu camu) en cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). Los resultados demostraron que el extracto de metanol de las semillas obtuvo más efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*. Por otro lado, para el grupo de hemoglobina

Streptococcus, la inhibición de halo de semillas y extractos de pulpa fue de 19.21 mm y 19.34 mm. Para ambas cepas, la concentración inhibitoria mínima del extracto de pulpa fue de 125 µg / ml, e incluso a bajas concentraciones, se estudió la actividad antibacteriana de las semillas. Se concluye que los extractos tienen efectos antibacterianos en las cepas.

López E¹². Perú. (2017). Evaluó el efecto antibacteriano del fruto de Myrciaria Dubia, Citrus Grandis y Citrus Reticula sobre Escherichia Coli y Salmonella Tiphly, los resultados confirmaron que cuando se usó el zumo de Eucommia ulmoides para combatir E. coli, la supresión del halo fue de 16.90 mm, mientras que Salmonella fue de 11.19 mm. Para el jugo de cítricos, el halo de inhibición del crecimiento de E. coli fue de 14,52 mm y Salmonella typhimurium fue de 17,10 mm. También que los cítricos reticulados no producían un halo suprimido en el crecimiento de E. coli. Se concluye que la Eucommia ulmoides y jugo de cítricos grandes tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de Escherichia coli y Salmonella, y los cítricos reticulados no tienen actividad antibacteriana significativa contra estos microorganismos.

Moromi H¹³, *et al*, Perú. (2014). Estableció la eficacia in vitro del extracto hidroalcohólico en cepas patrones ATCC de S.mutans y Porphyromona gingivalis. Los resultados in vitro indican que el enjuague bucal fue efectivo en los 10 pacientes, lo que fue significativa en la reducción de la flora microbiana en la saliva hasta 10 minutos, y notaron la recuperación de dicha flora en el número total de microorganismos después de 30 minutos. Streptococcus mutans en agar de soja Trypticase y agar de péptido salivarius de Streptococcus mutans. Solo hubo una diferencia significativa en los recuentos de Streptococcus mutans. En conclusión, existe evidencia de que Myrciaria dubia tiene efectos antibacterianos in vitro e in vivo.

Solano X¹⁴.*et al*, Ecuador. (2016). Identificaron el efecto inhibidor de streptococcus mutans en el crecimiento bacteriano in vitro mediante el uso de extractos: acuoso y oleoso de Rosmarinus officinalis. Se evaluó la acción antimicrobiana de S. mutans ATCC 25175 a través de técnica de difusión de discos en medio sólido. Los resultados mostraron que el extracto oleoso producido produjo un halo de

supresión promedio de 11.93 mm ($p < 0.001$), mientras que el pico de supresión promedio de clorhexidina fue de 16.13 mm ($p < 0.001$). No se encontró diferencias entre el extracto oleoso y la clorhexidina ($p > 0.05$). La conclusión es que el extracto acuoso de romero no tiene efecto antibacteriano en *S. mutans*, y el extracto oleoso de romero tiene efecto antibacteriano en *S. mutans*, similar a la clorhexidina.

1.3. Teorías relacionadas al tema.

1.3.1. La microbiota

Son microorganismos contituidos por cocos Gram positivos anaerobios facultativos y *Streptococcus*, una microbiota estreptocócica parecido a la de la mucosa yugal. Por otro lado, también se sitúan en varias partes del cuerpo, como los labios que son una zona de transición de la piel y las mucosas están colonizadas por microbiota cutánea como el estafilococo epidermidis, hay bacterias en el paladar duro. Las bacterias de la encía están relacionadas con la placa coronal lisa en la unión dentogingival y el tracto respiratorio superior como *haemophilus*, *corynebacterium* y especies de *neisseria*¹⁵.

1.3.2. La saliva

Es una secreción proveniente de las glándulas salivales mayores como parótida, sublingual y submandibulares en un 93% y de las glándulas salivales menores un 7%. Su función antibacteriana está dada por las enzimas y proteínas salivales, que se absorbe de diferente manera sobre los microorganismos, brinda defensa para la integridad de la mucosa en conjunto con la acción muscular de la lengua, labios y carrillos, conservando la higiene en áreas accesibles de la cavidad bucal, pero una de las funciones más importantes es la acción amortiguadora, tampón o buffer, que admite que el pH salival se mantenga en equilibrio¹⁶.

1.3.3. Película adquirida

Es el periodo inicial del desarrollo de la biopelícula en la que las lectinas (péptidos proteicos) reconocen y fijan los residuos de glicina. En la película comprada, estas articulaciones son producidas por fimbrias (procesos cortos, finos y numerosos que presentan diferentes bacterias) y las proteínas de la superficie de algunos microorganismos¹⁷.

1.3.4. La caries dental

Es una disbiosis, generado por el consumo excesivo de azúcar. Es una de las enfermedades infecciosa y transmitibles más común entre la población, la cual se manifiesta a través de un proceso de desequilibrio molecular generando la desmineralización de la superficie dental, esta condición genera cavidades que pueden llegar a afectar la dentina, la pulpa, estimulando la destrucción completa de la pieza dentaria²³.

Principales microorganismos relacionados a la caries dental

Incluyen *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *S. sobrinus*, *Actinomyces* spp y *Lactobacillus* spp. Se ha informado que estas especies cariogénicas permanecerían constantes independientemente de la edad de los sujetos. Durante años, *S. mutans* fue la causa más importante de caries dental. Su papel patogénico fue el comienzo de la desmineralización del esmalte dental en la caries coronal y la superficie de la raíz en la caries radicular¹⁹.

- ***Streptococcus mutans***, Es un microorganismo relacionado con la aparición de caries dental, ocupa un papel importante al comienzo de la desmineralización. No siempre está aislado antes del desarrollo de las lesiones, y también puede producirse en áreas sin caries dental¹⁸.

Vías de transmisión de *S. mutans*, La transmisión de madre a hijo se ha incitado como la ruta principal para adquirir *Streptococcus mutans*, entre los niños y sus cuidadores, compañeros y las escuelas. Por esta razón, la caries dental se ha definido como contagiosa durante muchos años¹⁹.

- ***Actinomyces***, son bacilos filamentosos grampositivos, anaerobios y heterofermentativos, que se origina de una mezcla de ácidos orgánicos²⁰.
- ***Lactobacillus***, Son bacterias Gram-positivas, bacterias anaerobias facultativas, ácidas y ácidas, y un valor de pH cercano a 5 es favorable para su crecimiento y el inicio de su actividad proteolítica²¹.
- ***Bifidobacterium***, Pertenece a la familia Bifidobacteriaceae. Tisser los aisló por primera vez en 1899 de las heces de los bebés que amamantan. En este punto se les dio el nombre de *Bacillus bifidus* ya que su morfología y fisiología de *Lactobacillus* spp forman gran parte del siglo XX. Son grampositivos, anaeróbicos, ácidos y ácidos, polimórficos, no móviles y no forman esporas^{22,23}.

1.3.5. Myrciaria dubia “Camu Camu”

Es un fruto de la región amazónica que contiene ácido ascórbico (vitamina C), fruta tropical que se distribuye principalmente en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela²⁶.

El camu camu es una gran fuente de minerales como el potasio, sodio, calcio, entre otros, y por su alto contenido de vitamina C, favorece a la formación de colágeno^{27 28}.

1.3.6. Compuestos fenólicos

Las actividades biológicas de los polifenoles han llamado la atención porque han probado ser efectivas para prevenir enfermedades relacionadas con el estilo de vida y mantener la salud humana²⁹.

Formas de uso

Su principal uso es en la industria farmacéutica para la elaboración de cápsulas de vitaminas y frutas secas para la fabricación de cápsulas de vitaminas para preparar jugos de frutas y helados caseros, y frutas y verduras procesadas para producir néctar, pulpa, mermeladas e incluso bebidas alcohólicas. Los cosméticos se usan como antioxidantes médicos debido a sus propiedades colorantes, que pueden prevenir enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas, estrés y energía muy saludable, y también promueven la absorción de nutrientes³⁰.

1.3.7. Medicina alternativa

Estos son tratamientos que se han desarrollado fuera de la medicina occidental tradicional o convencional para aplicarse a ciertas enfermedades o al bienestar general. Estas terapias tienen efectos beneficiosos y no han pasado por el desarrollo necesario de la evaluación de eficacia y seguridad después de la cual se somete a la medicina convencional³¹.

1.3.8. Fitoterapia

En 1978, la OMS definió estos conceptos como una "planta medicinal", cualquier planta que contenga sustancias en sus componentes que puedan usarse para fines terapéuticos o que sean precursores de la síntesis semiquímica-farmacéutica³².

1.3.9. Medio de cultivo

Es una técnica de laboratorio, que consta de una solución que contiene nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que permiten las condiciones el desarrollo de los microorganismos. Existe diversidad de medios de cultivo, lo cual se adecua para todos³³.

1.3.9.1. Componente de un medio de cultivo

Contienen una fontana de carbono, e general son azúcares simples como glucosa, lactosa, pero también hay algunos organismos que usan CO₂. También tienen una fuente de nitrógeno que generalmente usan las proteínas parcialmente hidrolizadas, como las peptonas³⁴.

1.3.9.2. Medios más utilizados³⁵

- ***Agar nutritivo***

Es el medio más usado para todo tipo de bacterias, de gran utilidad porque permanece sólido aun a temperaturas más altas. Además, se utiliza para procedimientos de análisis de alimentos, agua y otros.

- ***Agar sangre***

Es la mezcla del agar nutritivo con 5% sangre ovina. Utilizada para investigaciones de diferentes tipos de hemolisis, empleada también para el crecimiento de estreptococos.

- ***Agar Mueller Hinton***

Es un medio de cultivo utilizado comúnmente para realizar pruebas de susceptibilidad a antibióticos.

- ***Agar cerebro corazón***

Es un medio de cultivo sólido, rico en nutrientes que proporciona un desarrollo microbiano adecuado, empleado como hemocultivo, o medio base para pruebas metabólicas.

1.4. Formulación del Problema.

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Myrciria dubia* “Camu Camu” frente *Streptococcus Mutans* ATCC 35668?

1.5. Justificación e importancia del estudio.

Es de vital importancia conocer que hasta el día de hoy la caries dental sigue

siendo considerada como una de las principales causas de la consulta y la más prevalente en el mundo y que está muy relacionada con factores socioculturales, económicos, ambientales y de comportamiento, que afectan del 60% al 90% de la población.

Hoy en día el uso terapéutico de la medicina alternativa, como sustitutas de las medicinas farmacéuticas convencionales a tomado mayor importancia en la sociedad y por investigadores para demostrar científicamente sus efectos descritos, ya que con el tiempo han ido en aumento los estudios que avalen los efectos farmacológicos de muchas plantas y frutos.

La importancia de este trabajo se debe a que existen diversos estudios acerca del efecto de “ camu camu” sobre un gran numero de bacterias pero existe información limitada acerca del extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu” Frente Streptococcus Mutans, al demostrar que el efecto antibacteriano de dicho fruto es positivo y significativo, servirá para en un futuro poder realizar otros estudios mas complejos para crear colutorios, dentrífricos y materiales dentales que contengan este componente, asimismo incentivarán a realizar otros estudios para enfrentar este extracto a otras bacterias u hongos de importancia odontológica.

1.6. Hipótesis

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu” al 25% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₁: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu”25% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu” al 50% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₂: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu” 50% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu” al 75% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₃: El extracto hidroetanólico de Myrciria dubia “Camu Camu”75% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “camu camu” frente a *S. mutans* ATCC 35668

1.7.2. Objetivos específicos

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “camu camu” frente streptococcus mutans al 25%.

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “camu camu” frente streptococcus mutans al 50%.

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “camu camu” frente streptococcus mutans al 75%.

1.8. Controles

Controles para la susceptibilidad

- Se empleó como control positivo, disco de clorhexidina al 0.12%.
- No se empleó control negativo debido a que en la metodología utilizada en los trabajos previos solo utilizaron el control positivo.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y Diseño de Investigación.

Cuantitativa, experimental.

2.2. Variables, Operacionalización.

2.2.1. Variable Independiente:

Extracto de hidroetanólico de *Myrciria dubia* “camu camu”

2.2.2. Variable Dependiente:

Efecto antibacteriano

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Dimensiones	Indicadores	Técnica e instrumento de recolección de datos
Variable Dependiente: Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutans</i>	Capacidad de una sustancia para impedir el crecimiento de una bacteria .	Se calculará mediante un valor numérico obtenido midiendo el halo de inhibición se que encontrará por cada concentración evaluada ³⁷	cuantitativa	Crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i>	Halo de inhibición nula (-) menor o igual 8 mm; sensibilidad límite (sensible = +) de 9 a 14 mm; media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm Sumamente sensible (S.S. = +++) si será igual o superior a 20 mm.	Método de Kirby-bauer
Variable Independiente : Concentración del Extracto de <i>Myrciria Dubia</i> “camu camu”	Esencia o disolución concentrada de una sustancia obtenida de otra	El extracto obtenido será diluido en distintas concentraciones y así se evaluará en que concentración hay más efecto antibacteriano	cuantitativa	hidroetanólico	Concentraciones 75 % 50% 25%	Ebullición Maceración Dilución doble seriada

2.3. Población y muestra.

La población estuvo constituida por el grupo placas petri con la siembra adecuada de la bacteria *Streptococcus mutans* de 1 a 2×10^8 (UFC/ml) con las tres concentraciones del extracto hidroetanolico del fruto *Myrciaria dubia* “camu camu”, realizadas en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Por recomendación del especialista en microbiología, y del estadístico se realizó un muestreo no probabilístico, en lo se determinó realizar 15 placas petri : constituidos por 1 concentración madre de extracto hidroetanolico diluida en 3 concentraciones de extracto hidroetanolico al 25%, 50%, 75% , 1 cepa de *Streptococcus Mutans ATCC35668* y se realizó 15 repeticiones, se obtuvo 45 unidades experimentales.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

Técnica de recolección de datos: ficha de recolección de datos

Se utilizó una ficha de recolección de datos (anexo 1) elaborada por el investigador, la cual consistió en un cuadro en el que se indicó el número de placa petri con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC. 35668, el extracto hidroetanolico de *Myrciaria dubia* subdividido en concentraciones al 25%, 50% y 75%, el cual tuvo un control positivo con clorhexidina al 0.12%.

Recolección de datos

Se presentó la debida autorización a las autoridades de la Universidad Señor de Sipán para realizar los procedimientos en el laboratorio de FACCSA (Anexo2).

El procedimiento se inició con la desinfección del fruto de *Myrciaria dubia* “camu camu”, el cual fue desinfectado con alcohol de 96 °, posteriormente al fruto se le agrego 100 ml de agua destilada y ½ litro de etanol la mezcla fue trasladada en un recipiente estéril a un sonicador durante 8 horas aprox.

Luego con el extracto obtenido se llevó a un centrífuga durante 60 RPM x 100 en un tiempo de 5 minutos esto se realizó para obtenido un extracto filtrado libre de impurezas.

Posteriormente se llevó a cabo el extracto filtrado a un rota vapor a 70° x 1 h, lo cual nos dio un extracto purificado libre de etanol.

El extracto en estado líquido se preservó en refrigeración a 2°C en un recipiente de vidrio, hasta su reactivación.

La concentración Stock estuvo preparada por 20 ml de extracto purificado, así mismo durante el procedimiento de dilución doble seriada, se calcularon 3 diluciones, lo cual fueron distribuidas en discos de papel filtro en la superficie de placa petri.

Las colonias de *Streptococcus mutans* se seleccionaron de dos a cinco colonias aisladas del mismo tipo morfológico y en la parte superior de cada colonia se colocó a una botella estéril con 4-5 ml de suero fisiológico, se midió la turbidez al 0.5 del estándar de McFarland.

Después de 15 minutos se ajustó la turbidez de la suspensión de inóculo, por medio de una torunda estéril sumergida en ella. Se roto con un hisopo varias veces y se presionó contra la pared interna del tubo. Este procedimiento se repitió dos o más veces, girando la placa aproximadamente 60°. Finalmente se pasó sobre los bordes del agar, colocando los discos de papel de filtro en la superficie del agar. Se dejó reposar durante 30 minutos para luego ser incubadas a 36 ° C, durante 24 horas.

Luego de las 24 horas de incubación, se observó cada placa cada placa, para luego ser medidos con una regla en milímetros e interpretados según orientaciones del CLSI (Clínical Laboratory Estándar Institute)³⁸.

Valides y confiabilidad.

Para el presente estudio se realizó la validación del instrumento a través de una constancia de calibración por parte de un especialista (anexo 3). La confiabilidad está demostrada por un estudio, cuyo resultado de la prueba piloto dio un efecto inhibitorio al 50% y 75%. Del extracto hidroetanólico *Myrciaria dubia* (anexo 3)

Prueba piloto: se realizó la prueba T-student 6 x 1 x 1 x 3 (que significa dos repeticiones una especie, un extracto y tres concentraciones) y para evaluar la significancia la prueba de cohen. (Anexo 04)

2.5. Procedimiento de análisis de datos.

T- student Para determinar la relación del efecto antibacteriano del extracto de *Myrciaria Dubia* “camu camu” en el crecimiento bacteriano, se realizará la prueba T- student de 15 x 1 x 1 x 3 (cinco repeticiones, una especie, un extracto y 3 concentraciones) y para evaluar la significancia la prueba de cohen,

Chi-cuadrado: Es la prueba de hipótesis que relaciona la distribución de los datos con una distribución esperada de la información.

Alfa de conbrach Es un promedio ponderado de las correlaciones entre las variables.

2.6. Aspectos éticos.

Se consideró la bioseguridad, con respecto a su inactivación de los medios con *Streptococcus mutans*, mediante auto clavado a una temperatura de 121 °C a 1 atm de presión a lo largo de 15 minutos, con la finalidad de evitar su propagación; no fue necesario un consentimiento informado por ser un estudio experimental.

2.7. Aporte científico

En el análisis donde se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* contra *Streptococcus mutans* ATCC 35668, el extracto se obtuvo exponiéndolo a un sonicador durante 8 horas para agitar las partículas con una corriente eléctrica que manda su energía a un plan mecánico que lo cambió en vibraciones de alta magnitud que generaron ondas de ultrasonido para poder romper las paredes celulares y obtener una mezcla homogénea, así mismo este proceso se encargó de cada uno de los componentes del extracto a utilizar y por otro lado sería un método más rápido y para obtener un extracto purificado, se utilizó una Rota de vapor.

III. RESULTADOS.

Tablas y figuras Tabla 1

Efecto bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” frente Streptococcus Mutans al 25%

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Control – 25,0%	-14,75	2,489	,557	-15,915	-13,585	-14,909	19	,000

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

Se observa que una desviación media promedio de 16,0 con una desviación de 0,459. Además de una significancia menor a 0,05.

		N	Media	Desviación estándar	p	d de Cohen
Concentración del extracto 25%	Casos	20	1,25	2,337		-10,75
	Controles	20	16,0	,459	.000	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

En la tabla anterior se observa que, la aplicación bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” hizo efecto positivo frente a S. mutans ATCC 35668 al 25% ;es decir es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de cohen cuyo efecto del tamaño es muy alta ($d = -10.75$)

Tabla 2**Efecto bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” frente Streptococcus Mutans al 50%**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Control – 50,0%	4,100	1,071	,240	3,599	4,601	3,118	19	,000

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

Se observa que una desviación media promedio de 4,10 con una desviación de 1,071 con una significancia menor a 0,05

		N	Media	Desviación estándar	p	d de Cohen
Concentración del extracto 50%	Casos	20	11,90	0,788	.001	-6,575
	Controles	20	16,00	0,459	.000	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

En la tabla anterior se observa que, la aplicación bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” hizo efecto positivo frente a S. mutans ATCC 35668 al 50%, además es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de cohen cuyo efecto del tamaño es muy alta ($d = -6.71$)

Tabla 3**Efecto bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” frente Streptococcus Mutans al 75%**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Control - 75,0%	,400	1,429	,320	,269	1,349	1,252	19	,000

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

Se observa que una desviación media promedio de 0,400 con una desviación de 1,429 con una significancia menor a 0,05

		N	Media	Desviación estándar	p	d de Cohen
Concentración del extracto 75%	Casos	20	16,40	0,642	.001	0,887
	Controles	20	16,00	0,259	.000	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

En la tabla anterior se observa que, la aplicación bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” hizo efecto positivo frente a S. mutans ATCC 35668 al 75%, además es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de cohen cuyo efecto del tamaño es muy alta ($d = 0,887$)

Tabla 4**Efecto bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” frente Streptococcus Mutans**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
General	6,400	,821	,184	,269	1,069	1,052	19	,000

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

Se observa que una desviación media promedio de 0,400 con una desviación de 1,429 con una significancia menor a 0,05

		N	Media	Desviación estándar	p	d de Cohen
Concentración del extracto 75%	Casos	20	16,40	0,642	.001	0,887
	Controles	20	16,00	0,259	.000	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

En la tabla anterior se observa que, la aplicación bacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu camu” hizo efecto positivo frente a S. mutans ATCC 35668 al 75%, además es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de cohen cuyo efecto del tamaño es muy alta ($d = 0,887$)

3.1. Discusión de resultados.

El uso terapéutico de la medicina alternativa como sustituto de las drogas convencionales se ha vuelto más importante en la sociedad actual y por investigadores para demostrar científicamente sus efectos, ya que con el tiempo han ido en aumento los estudios que avalen los efectos farmacológicos de muchas plantas y frutos.

Por esta razón, la presente investigación evaluó *in vitro* el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* contra *S. mutans*, y se encontró que las concentraciones 75% y 50% tenían un efecto antibacteriano significativo.

Sin embargo, la investigación de Saldarriaga E¹⁰. Muestran que los halos de inhibición son superiores a los 8 mm y que hubo diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones, también la concentración mínima inhibitoria fue de 25%. concluyendo que si presentan efecto inhibitorio, lo cual coincide con mi investigación.

También se obtuvo un efecto inhibitorio ante *Streptococcus mutans*, también presento una diferencia en que el halo mínimo que obtuvimos fue de 6 mm dándonos que al 25% no se obtuvo efecto inhibitorio, dicha diferencia se podría presentar por el fruto ya que solo utilizo la cáscara y etanol y en mi presente investigación usamos todo el fruto y extracto hidroetanólico.

Por otro lado, Camere R¹¹. demostró que el extracto metánolico de la semilla hubo mayor resultado antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* con halos de 21.36 mm, mientras que la pulpa tuvo 16.20 mm, la concentración mínima inhibitoria del extracto de la pulpa fue de 125 µg/ml para las dos cepas. Lo cual coincide con mi estudio ya que, si obtuvimos un efecto antibacteriano ante *Streptococcus mutans*, la diferencia se encontró al momento que no se podía comparar los halos de concentración ya que los parámetros de la investigación de Camere R¹¹ son diferentes debido a que el comparo el efecto de los componentes del fruto y en mi búsqueda se comparó concentraciones 25%,50% Y 75%.

López E¹². Demostró que el efecto del zumo de *Myrciaria dubia* y *Citrus grandis* tienen efecto inhibitorio del desarrollo de *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*,

Citrus reticulata no mostro eficacia antibacteriana importante en los microorganismos, que al comparar los resultados del presente estudio se encontro que el extracto de *Myrciaria dubia* presenta efecto antibacteriano tanto en bacterias Gram + y Gram –.

Moromi H¹³. En su estudio evidencio el efecto antimicrobiano del *Myrciaria dubia* tanto in vitro como in vivo. Similar a mis resultados ya que el efecto del extracto de *Myrciaria dubia* aumento a efectividad de acuerdo a las concentraciones. Por otro lado, Solano X¹⁴. Demostro que el extracto acuoso de romero no tiene efecto antibacteriano en *S. mutans*, y el extracto oleoso de romero tiene efecto antibacteriano en *S. mutans* y el efecto es similar a la clorhexidina. Debido a que el fruto del extracto es diferente, lo que al comparar con mi estudio no fue similar.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSION

El extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* frente a *S. mutans* ATCC 35668 si tiene un efecto antibacteriano.

El extracto hidroetanólico de *Myrciaria Dubia* “Camu camu” hizo efecto positivo frente a *S. mutans* ATCC 35668 al 75%, además es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de Cohen cuyo efecto del tamaño es muy Alta

El extracto hidroetanólico de *Myrciaria Dubia* “Camu camu” hizo efecto positivo frente a *S. mutans* ATCC 35668 al 50%, además es altamente significativo $p < 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de Cohen cuyo efecto del tamaño es muy alta

El extracto hidroetanólico de *Myrciaria Dubia* “Camu camu” no hizo frente a *S. mutans* ATCC 35668 al 25%, es decir no fue significativo $p > 0.05$. Siendo corroborado por la prueba d de cohen cuyo efecto es insignificante ($d = -49,297$)

RECOMENDACIONES

El extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* puede ser en el futuro de mucha consideración en el campo odontológico si se estudian por separados sus componentes químicos para así determinar su relevancia de cada uno de ellos.

Ejecutar estudios con otro tipo de bacterias de consideración odontológica para poder determinar si el extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* tiene efecto.

Realizar estudios con hongos de importancia odontológica para poder determinar si el extracto hidroetanólico de *Myrciaria dubia* no sólo tiene efecto antibacteriano sino también anti fúngico.

REFERENCIAS

- 1.- Núñez D, García L. Bioquímica de la caries dental. Revigsta Habanera de Ciencias Médicas 2010;9(2) 156-166.
- 2.- OMS| Salud bucodental [Internet]. 2012. [Citado 24 de octubre de 2018].
- 3.- Lamas M. estudio de la colonización por estreptococos mutan y hábitos dietéticos durante la lactancia y primera infancia [Tesis]. España. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de odontología.
- 4.- Avello M. *et al.* Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev. Med chile 2010; 138: 1288-1293.
- 5.- MINSA| Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la caries dental en niñas y niños [Internet]. 2017 [Citado 24 de octubre de 2018].
- 6.- Guerrero V. *et al.* Epidemiology of Tooth Decay and Risk Factors Associated to Primary Dentition in Preschoolers. México, Vol. LXV, No. 3 Mayo-Junio 2009.
- 7.- Gispert E. Relación entre el grado de infección por streptococcus mutans y la posterior actividad cariogénica. Rev Cubana Estomatol 2000; 37(3):157-61.
- 8.- Ojeda J. *et al.* Streptococcus mutans and dental caries. Revista CES odontología, volumen 26 No. 1 Primer semestre de 2013.
- 9.- MINSA| Salud bucal [Internet]. 2012 [Citado 24 de octubre de 2018].
- 10.- Saldarriega E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de myrciaria dubia (camu camu) sobre streptococcus mutans (atcc 25175). [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de estomatología. 2017.
- 11.-Camere R. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de semilla y pulpa de la Myrciaria dubia (camu camu) sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556). [Tesis]. Perú: Universidad Peruana de ciencias aplicadas. Facultad de ciencias de la salud. Escuela de odontología. 2015.
- 12.- López A. Antibacterial effect of Myrciaria Dubia, Citrus Grandis and Citrus Reticulate juice on Escherichia Coli and Salmonella Tiphy. [Tesis]. Perú: Universidad privada César Vallejo. Escuela profesional de nutrición. 2017.
- 13.- Nakata H. *et al.* Efectividad in vitro e in vivo de un colutorio a base de Myrciaria Dubia “camu” sobre bacterias de importancia oral. [Tesis]. Perú. Universidad nacional mayor de San Marcos. 2014.

- 14.- Solano X, Moya T, Zambrano M. Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero” [Tesis]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador, Facultad de odontología; 2016.
- 15.- Cruz S. *et al.* Microbiota of oral cavity ecosystems. Rev Cubana Estomatol vol.54 no.1 Ciudad de La Habana ene.-mar. 2017.
- 16.- Zaragoza T. *et al.* La saliva, auxiliar de diagnóstico. Universidad Nacional autónoma de México. Facultad de estudios superiores Zaragoza. ISBN: 978-607-02-9978-0.
- 17.- Sarduy L. *et al.* La biopelícula: una nueva concepción de la placa dentobacteriana, medicent Electrón. 2016 jul. -sep.; 20(3).
- 18.- Pedraza D. *et al.* Diseño y valoración de un medio de cultivo selectivo (sulbac) para *Streptococcus Mutans*. [Tesis]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias carrera de Bacteriología. 2006.
- 19.- Giacaman R. *et al.* Quantification of caries-associated bacteria from saliva of adults and older adults. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 6(2); 71-74, 2013.
- 20.- Rojas S. *et al.* Early childhood caries: infection disease? , [REV. MED. CLIN. CONDES - 2014; 25(3) 581-587].
- 21.- Figueroa M. *et al.*, Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. Universidad central de Venezuela. Facultad de odontología.
- 22.- Carrasco C. Diversidad de especies y genotipos de *Bifidobacterium* en saliva y caries de niños chilenos de 7 a 11 años de edad con y sin caries. [Tesis]. Chile: Universidad de Chile. Facultad de odontología.
- 23.- Espinoza C. *et al.* Caries dental según prevalencia y experiencia en las provincias de morropon y huancabamba, piura - perù, 2017. [Tesis]. Chile: Perú. Universidad peruana Cayetano Heredia. 2018.
- 24.- Cuadrado D. Cariología: el manejo contemporáneo de la caries dental. [Tesis]. México: Universidad nacional autónoma de México. 2012.
- 25.- De Estrada J. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Facultad de ciencias médicas de Matanzas. Cuba.
- 26.- Arellano E. Camu - camu (*Myrciaria dubia*): Tropical fruit of excellent functional properties that help to improve the quality of life. Scientia Agropecuaria 7(4): 433–443(2016).
- 27.- Chang A. El Camu Camu: Aspectos químicos, farmacológicos y tecnológicos. Perú. 2013.

- 28.- El Camu camu néctar de la vida. [Internet]. [Citado 24 de Octubre de 2018].
- 29.- Camu Camu: Myrciaria Dubia. [Internet]. [Citado 24 de Octubre de 2018]. Disponible:http://www.ipcinfo.org/fileadmin/user_upload/inpho/InfoSheet_pdfs/CAMU_CAMU.pdf.
- 30.- Arellano E. Camu - camu (Myrciaria dubia): Tropical fruit of excellent functional properties that help to improve the quality of life. *Scientia Agropecuaria* 7(4): 433–443(2016).
- 31.- Manceñido N. Terapias alternativas en la enfermedad. Grupo español de trabajo. [Internet]. [Citado 24 de Octubre de 2018]. Disponible: <http://geteccu.org/contenidos/up/2013/03/Terapias-Alternativas.pdf>.
- 32.- Cañigueral S. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? 265 ISSN 0326-2383.
- 33.- Preparación de medios de cultivo. [Internet]. [Citado 24 de Octubre de 2018]. Disponible: <https://www.ugr.es/~cjl/medios%20de%20cultivo.pdf>.
- 34.- Barrero L. Microbiología Clínica. Editorial Síntesis. España.
- 35.- Casado C. Medios de cultivo en laboratorio de microbiología. 2012.
- 36.- Caries Dental. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Instituto de ciencias de la salud. Área académica de Odontología. Primera edición. 2012.
- 37.- Pérez S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Stevia Rebaudiana sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de estomatología; 2013.
- 38.- Clinical and Laboratory Standars Institute. Métodos de dilución para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. Norma aprobada—octava edición. 2009; (26)2: 1 -100. M07-A8.

ANEXOS

ANEXO N°01

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

<i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	Extracto hidroetanólico de <i>Myrciaria Dubia</i>			Control positivo Clorhexidina 0.12%
	75 %	50%	25%	
Placa 1				
Placa 2				
Placa 3				
Placa 4				
Placa 5				
.				
Placa 15				

ANEXO N°02

PERMISO PARA EJECUCION

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

Espele valorada S/ 20.00

FORMATO DE SOLICITUD

Solicita: Permiso para utilizar el laboratorio de Microbiología

Señor (a), Srta. :
Dr. Utecho Uca Pardo
Pardo Pérez Ceiza Gustavo con DNI N° 40269333

(Nombres y Apellidos de solicitante)

Email pperezceiza@unss.edu.pe Teléfono 977 851462 Dirección Calle Unión Héroes Barrio del Gallo

Ante Ud. Con el debido respeto expongo lo siguiente:

Que en mi condición de Alumno - Estudiante de 1er y 2do ciclo

(Padre - Docente- Alumno)- (Especialidad - Ciclo)

Recurso a su honorable despacho para solicitarle lo siguiente:

Pedir permiso para usar el laboratorio de microbiología para poder realizar mi Práctica Práctico del curso de microbiología I del 2do de nos de noviembre, con fines de la realización de un diagnóstico.

Por lo expuesto, agradeceré ordenar a quien corresponda se atienda mi petición por ser de justicia.

Chiclayo, 07 de Noviembre 2018.


Firma del Solicitante

Anexos:
a. _____
b. _____
c. _____





ANEXO N°03

1. **Autor** : César Gustavo Pasco Pérez.

2. **Administración y Clasificación:**

Se administró utilizando los siguientes materiales:

- Hoja de Respuesta
- Lápiz o lapicero
- Regla milimétrica

3. **Baremación** : Autor

4. **Prueba Piloto:**

	25%	50%	75%	Control positivo clormexidina
1	7	12	15	16
2	6	12	16	16
3	5	12	18	15
4	3	11	15	16
5	4	11	16	16

5. **Consistencia Interna**

Para determinar la confiabilidad del instrumento se aplicó la consistencia interna dada por el método del alfa de Cronbach, el mismo que se define como:

$$\alpha = \frac{K}{K-1} \left[1 - \frac{\sum V_i}{V_t} \right]$$

Donde:

α = Alfa de Cronbach

K = Número de Ítems

V_i = Varianza de cada Ítem

V_t = Varianza total

Luego para el instrumento conocimiento tiene una consistencia interna de:

Alfa de Cronbach	N de elementos
,758	5

Entonces podemos indicar que el instrumento es altamente confiable

ANEXO N° 04

Prueba de hipótesis

Prueba de hipótesis

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” al 25% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₁: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 25% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

$$gl = (3 - 1)(3 - 1) = 4$$

Prueba estadística

Aplicaremos la comparación de valores paramétricos ubicados en la tabla Chi cuadrado según lo planteado en la hipótesis

$$\chi_c^2 = \sum \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde

O_i es el valor observado

e_i es el valor esperado

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,556	4	,968
N de casos válidos	20		

Se probará la hipótesis nula Ho, para esto se aprecia que el valor de la prueba estadística Chi cuadrado calculado = 0,556 es menor que el valor de Chi cuadrado tabulado = 9,4877, por lo que se acepta la hipótesis nula, concluyendo el extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 25% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” al 50% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₂: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 50% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

$$gl = (4 - 1)(3 - 1) = 6$$

Prueba estadística

Aplicaremos la comparación de valores paramétricos ubicados en la tabla Chi cuadrado según lo planteado en la hipótesis

$$\chi_c^2 = \sum \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde

O_i es el valor observado

e_i es el valor esperado

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13,148	6	,000
N de casos válidos	20		

Se probará la hipótesis nula Ho, para esto se aprecia que el valor de la prueba estadística Chi cuadrado calculado = 13,148 es mayor que valor de Chi cuadrado tabulado = 12,592 por lo que se rechaza la hipótesis nula, concluyendo el extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 50% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₀: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” al 75% no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

H₃: El extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 75% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

Nivel de significancia

$$\alpha = 0,05$$

$$gl = (4 - 1)(3 - 1) = 6$$

Prueba estadística

Aplicaremos la comparación de valores paramétricos ubicados en la tabla Chi cuadrado según lo planteado en la hipótesis

$$\chi_c^2 = \sum \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde

O_i es el valor observado

e_i es el valor esperado

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	17,188	6	,000
N de casos válidos	20		

Se probará la hipótesis nula Ho, para esto se aprecia que el valor de la prueba estadística Chi cuadrado calculado = 17,188 es mayor que valor Chi cuadrado tabulado = 12,592 por lo que se rechaza la hipótesis nula, concluyendo el extracto hidroetanólico de Myrciria Dubia “Camu Camu” 75% si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*.

ANEXO N° 05

CERTIFICADO DE CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0969 Lot Number: 969-49** Reference Number: ATCC® 35668™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2019/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2017/12/6
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Macroscopic Features: Small, circular, white to translucent. Microscopic Features: Gram positive cocci in medium or long chains.	Performance Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative <div style="text-align: right;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**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.



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

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



ANEXO N°06

OBTENCION DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO *MYRCIARIA DUBIA*



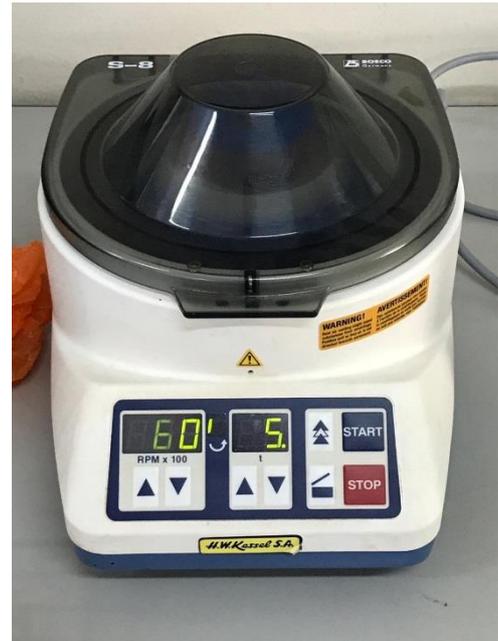
TRITURACION DEL FRUTO
Myrciaria Dubia



MACERADO EN ETANOL AL 100%
Myrciaria Dubia



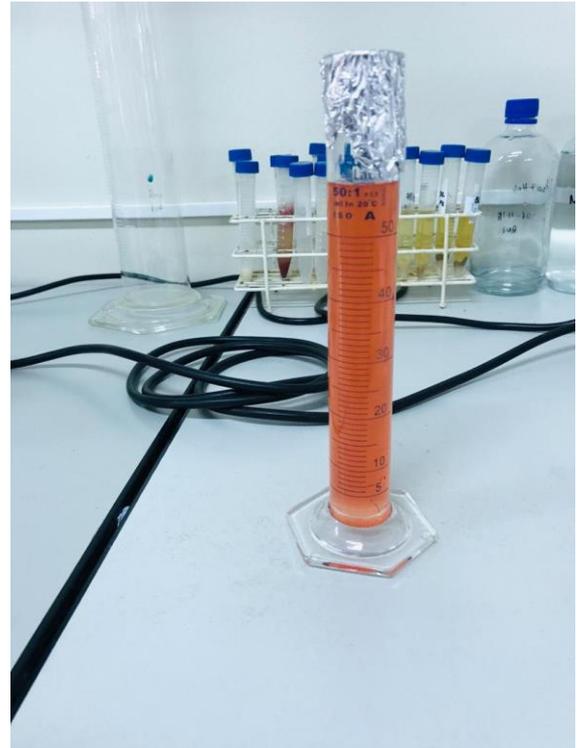
SONICATORS
Myrciaria Dubia



CENTRIFUGADO DEL EXTRACTO
Myrciaria Dubia

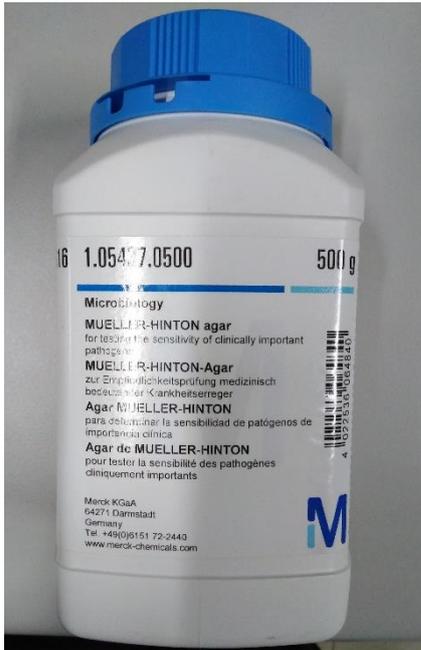


ROTAVAPOR A 70 ° CENTIGRADOS
Myrciaria Dubia



EXTRACTO PURIFICADO
Myrciaria Dubia

ANEXO N°07



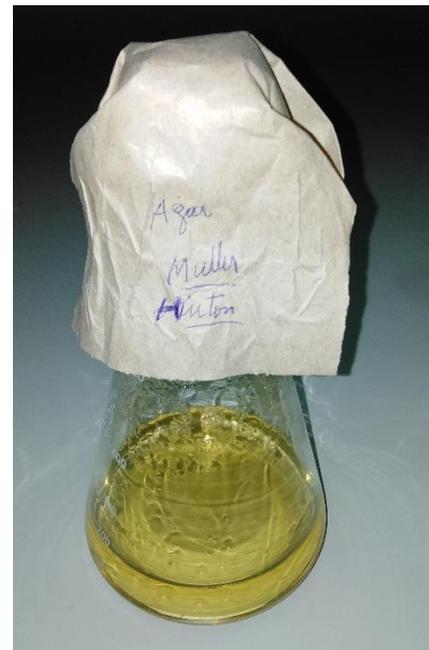
AGAR BASE MUELLER HINTON
Myrciaria Dubia



PESADO DE AGAR MUELLER HINTON
Myrciaria Dubia



PESADO DE AGAR MUELLER HINTON
Myrciaria Dubia



AGAR MUELLER HINTON
Myrciaria Dubia

ANEXO N°08



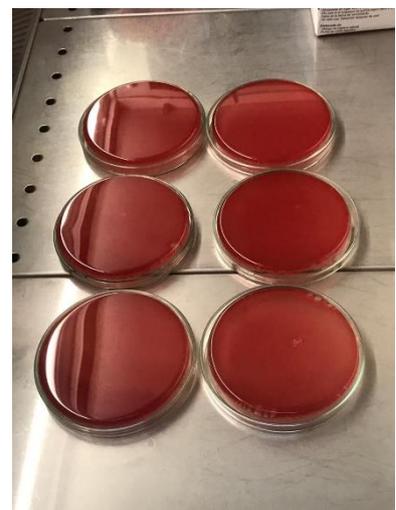
MATERIAL ESTERIL
Myrciaria Dubia



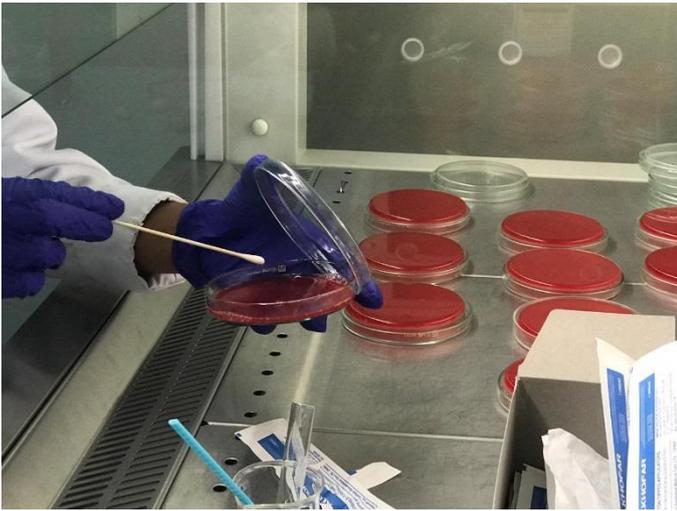
CABINA PARA SEGURIDA BIOLOGICA
Myrciaria Dubia



PLACAS PETRI CON AGAR SANGRE
Myrciaria Dubia



PLACAS PETRI CON AGAR SANGRE
Myrciaria Dubia



SEMBRADO DEL INÓCULO EN PLACAS CON AGAR SANGRE
Myrciaria Dubia



CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO
Myrciaria Dubia



DISCOS SEGUN LA CONCENTRACION
Myrciaria Dubia



DISCOS SEGUN LA CONCENTRACION
Myrciaria Dubia

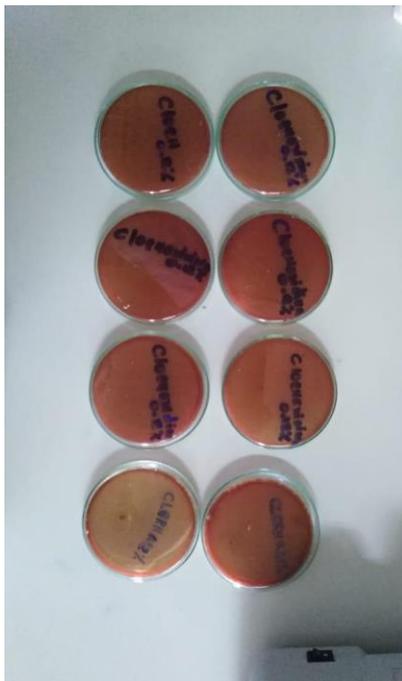
ANEXO N°09



HALOS DE INHIBICIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE *MYRCIARIA DUBIA*



HALOS DE INHIBICIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE *MYRCIARIA DUBIA*



CONTROL POSITIVO CON CLORHEXIDINA AL 0.12%



CONTROL POSITIVO CON CLORHEXIDINA AL 0.12%

ANEXO 10

Base de datos

<i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	Extracto hidroetanólico de <i>Myrciaria Dubia</i>			Control positivo Clorhexidina 0.12%
	75 %	50%	25%	
Placa 1	17 mm	13 mm	3mm	20mm
Placa 2	18mm	14mm	5mm	19mm
Placa 3	18mm	14 mm	5mm	20mm
Placa 4	19mm	15mm	4mm	20mm
Placa 5	19 mm	13mm	5 mm	20mm
Placa 6	17mm	14mm	5mm	20mm
Placa 7	18mm	15mm	3mm	20mm
Placa 8	19mm	14mm	4mm	20mm
Placa 9	18mm	15mm	4mm	19mm
Placa 10	18mm	16 mm	4mm	18mm
Placa 11	18mm	16 mm	4mm	18mm
Placa 12	17mm	16 mm	5mm	19mm
Placa 13	19mm	16 mm	5mm	19mm
Placa 14	19mm	14mm	3mm	19mm
Placa 15	19mm	14mm	3 mm	19mm