

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

TESIS
**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
ACUOSO DE *RUBUS FRUTICOSUS* Y
MYRCIANTHES RHOPALOIDES SOBRE
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, ESTUDIO
*IN VITRO***

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE CIRUJANO
DENTISTA**

Autores:

Bach. Choquehuanca Flores, Tatiana Whitney

<https://orcid.org/0000-0002-0312-0214>

Bach. Villavicencio Morales, Mirto Alain

<https://orcid.org/0000-0002-2125-8292>

Asesor:

Mg. CD. Romero Gamboa, Julio Cesar

<https://orcid.org/0000-0003-3013-9735>

Línea de Investigación

Calidad de Vida, Promoción de la Salud del Individuo y la
Comunidad para el Desarrollo de la Sociedad

Sublínea de investigación

Nuevas alternativas de prevención y el manejo de enfermedades crónicas
y/o no transmisibles

Pimentel – Perú

2024

Aprobación del jurado

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *RUBUS FRUTICOSUS* Y
MYRCIANTHES RHOPALOIDES SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, ESTUDIO IN
VITRO**

MG. CD. ESPINOZA PLAZA JOSE JOSE

Presidente del jurado evaluador

MG. CD. ASCANOA OLAZO JIMMY ANTONIO

Secretario de jurado evaluador

MG. CD. ROMERO GAMBOA JULIO CESAR

Vocal de jurado evaluador

20% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Fuentes principales

- 16%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 14%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

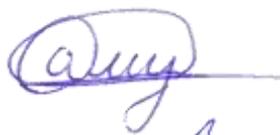
DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Quienes suscriben la **DECLARACIÓN JURADA**, somos Mirto Alain Villavicencio Morales según DNI 41845160 y Tatiana Whitney Choquehuanca Flores según DNI 70088667, **egresado (s)** del Programa de Estudios de **ESTOMATOLOGIA** de la Universidad Señor de Sipán S.A.C, declaro (amos) bajo juramento que soy (somos) autor(es) del trabajo titulado:

Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio in vitro

El texto de nuestro trabajo de investigación responde y respeta lo indicado en el Código de Ética del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Señor de Sipán (CIEI USS) conforme a los principios y lineamientos detallados en dicho documento, en relación a las citas y referencias bibliográficas, respetando al derecho de propiedad intelectual, por lo cual informo que la investigación cumple con ser inédito, original y auténtico.

En virtud de lo antes mencionado, firman:

MIRTO ALAIN VILLAVICENCIO MORALES, SEGÚN DNI	41845160	
TATIANA WHITNEY CHOQUEHUANCA FLORES, SEGÚN DNI	70088667	

Pimentel, 06 de diciembre de 2024

DEDICATORIA

A YHWH, el Padre Eterno por concederme la vida en este mundo, por su infinito amor y ser la fuente de mi energía, además de ser mi pronta ayuda en momentos de debilidad y desánimo.

A mis amados padres Eloy y Gladis por concebirme y criarme con amor y paciencia, por brindarme las herramientas necesarias para afrontar la vida en sus momentos difíciles y disfrutar a plenitud de los buenos, siempre guiándome con sabiduría.

A mi amada novia Yhosely y mis apreciados hermanos Abner, Galita, Marcos, María y Elías por ser mi apoyo incondicional en diferentes momentos de mi vida y que con sus acertados consejos supieron guiar mi camino.

Mirto Alain Villavicencio Morales

En primer lugar, a Dios y mi virgencita de Guadalupe, por ser mi guía, brindarme salud y permitirme cumplir mis metas. A mis padres amados Jorge Luis y mi mamá y mejor amiga Olga que con su soporte y ánimos siempre estuvieron ahí en todo momento, a mis hermanos, mis abuelos. A mi amada hija por ser la luz de mi vida y darme fuerzas para salir adelante.

Tatiana Whitney Choquehuanca Flores

AGRADECIMIENTOS

Al Todopoderoso Creador por ser nuestra fuente suprema de conocimiento y darnos la inspiración para realizar la presente investigación

A nuestros padres y hermanos porque además de su apoyo moral nos ayudaron económicamente en el desarrollo de esta profesión de forma incondicional y que en todo momento estuvieron para darnos un soporte y guiarnos en esta etapa universitaria.

Al Dr. Julio Cesar Romero Gamboa por su tiempo y su conocimiento brindados en la realización de esta investigación.

A la Dra. Paola La Serna Solari por incentivar en nosotros la continuación del tema vertido en este documento.

Al Dr. Orlando Pérez Delgado que nos brindó su apoyo durante la fase experimental en los laboratorios de la Universidad Señor de Sipán y aún después de eso.

A todos los docentes que de una u otra manera fueron parte de nuestra formación académica profesional.

A la Universidad Señor de Sipán por su compromiso en nuestra formación profesional y el desarrollo de esta tesis.

Agradecemos a las personas que formaron parte de este proceso, que nos ayudaron a poder continuar y seguir avanzando.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* y *M. rhopaloides* sobre *S. mutans* ATCC 25175. Se empleó un diseño experimental siendo el de dilución doble seriada, se realizó en el laboratorio de Investigación de la Universidad Señor de Sipán. Se utilizaron placas Petri con medio Cerebro-Corazón (BHI) para luego sembrar la bacteria en todas las unidades experimentales. Se empleó un total de 60 discos; en 14 de ellos placas a razón de 5 discos por placa estando embebidos en los extractos acuosos y de clorhexidina (0.12%). El grupo poblacional estuvo constituido por un cultivo de *S. mutans* ATCC. Las variables se obtuvieron mediante la formación de un halo alrededor del disco de sensibilidad.

La clorhexidina obtuvo una sensibilidad intermedia, mientras que para *R. fruticosus* y *M. rhopaloides* la sensibilidad fue nula; aunque la evidencia indica que ambas plantas presentan moléculas con principios antibacterianos, como polifenoles (glucósidos de flavonol, proantocianidinas y antocianinas). Esto puede deberse al procedimiento y la exposición a la temperatura. La evidencia indica que no hay una etapa de macerado y que la exposición a la temperatura es por corto tiempo mientras que lo realizado incluyó un tiempo de maceración y exposición más prolongada a temperatura de ebullición hasta conseguir evaporar y concentrar el extracto. Se llega a concluir que el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* y *M. rhopaloides* sobre *S. mutans* ATCC 25175 es nulo y clorhexidina presenta una inhibición más elevada.

PALABRAS CLAVES

Streptococcus mutans, antibacterianos, curare, Rubus, Myrcianthes

ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the antibacterial effect of the aqueous extract of *R. fruticosus* and *M. rhopaloides* on *S. mutans* ATCC 25175. An experimental design was used, being that of serial double dilution, it was carried out in the Research laboratory of the Señor de Sipán University. Petri dishes with Brain-Heart medium (BHI) were used to then seed the bacteria in all experimental units. A total of 60 discs were used; in 14 of them plates at a rate of 5 discs per plate were soaked in the aqueous extracts and chlorhexidine (0.12%). The population group consisted of a culture of *S. mutans* ATCC. The variables were obtained by forming a halo around the sensitivity disc.

Chlorhexidine obtained an intermediate sensitivity, while for *R. fruticosus* and *M. rhopaloides* the sensitivity was null; although the evidence indicates that both plants present molecules with antibacterial principles, such as polyphenols (flavanol glycosides, proanthocyanidins and anthocyanins). This may be due to the procedure and temperature exposure. The evidence indicates that there is no maceration stage and that the exposure to temperature is for a short time while what was done included a maceration time and longer exposure to boiling temperature until the extract was evaporated and concentrated. It is concluded that the antibacterial effect of the aqueous extract of *R. fruticosus* and *M. rhopaloides* on *S. mutans* ATCC 25175 is null and chlorhexidine presents a higher inhibition.

KEYWORDS

Streptococcus mutans, anti-bacterial agents; curare, Rubus, Myrcianthes

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Realidad Problemática.....	11
1.2. Antecedentes de Estudio.....	13
1.2.1. Internacionales.....	13
1.2.2. Nacionales.....	14
1.2.3. Regionales.....	15
1.3. Teorías Relacionadas al Tema.....	16
1.3.1. Efecto Antibacteriano.....	16
1.3.2. Extracto Acuoso.....	17
1.3.3. Estudio In Vitro.....	19
1.3.4. Caries Dental.....	21
1.3.5. Medio de Cultivo.....	23
1.3.6. Cepa Bacteriana.....	24
1.3.7. Susceptibilidad Bacteriana.....	26
1.3.8. Streptococcus mutans.....	28
1.3.9. Streptococcus mutans ATCC 25175.....	30
1.3.10. Clorhexidina.....	31
1.3.11. Rubus fruticosus:.....	32
1.3.12. Myrcianthes rhopaloides.....	34
1.4. Formulación del Problema.....	35
1.5. Justificación e Importancia del Estudio.....	35
1.6. Hipótesis.....	36
1.7. Objetivos.....	36
1.7.1. Objetivo General.....	36
1.7.2. Objetivos Específicos.....	37
II. Metodología.....	37
2.1. Tipo de Investigación.....	37
2.2. Diseño de la Investigación.....	37

2.3. Ámbito de Estudio.....	38
2.1. Operacionalización de Variables.....	39
2.4. Población y Muestra.....	40
2.4.1. Criterios de inclusión.....	41
2.4.2. Criterios de exclusión.....	41
2.4.3. Criterios éticos.....	41
2.4.4. Criterios de rigor científico.....	42
2.5. Instrumentos de recolección de datos.....	43
2.5.1. Coordinación.....	43
2.5.2. Técnicas de recolección de datos.....	43
2.5.3. Ficha de recolección de datos.....	43
2.6. Procedimiento para muestras vegetales.....	44
2.6.1. Recolección herbaria.....	44
2.6.2. Procesamiento del extracto acuoso.....	45
2.7. Procedimiento para la Cepa bacteriana.....	46
2.7.1. Obtención de la cepa bacteriana.....	46
2.7.2. Preparación del medio de cultivo.....	46
a. Medio Soya Tripticasa (TSA).....	46
b. Agar Mitis Salivarius.....	46
c. Medio Cerebro – Corazón (BHI).....	47
2.7.3. Activación y obtención de colonias de Streptococcus mutans (ATCC 25175).....	47
2.8. Susceptibilidad del extracto acuoso.....	47
2.8.1. Lectura.....	48
III. RESULTADOS.....	49
IV. DISCUSIÓN.....	52
V. CONCLUSIONES.....	54
VI. RECOMENDACIONES.....	54
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad Problemática

Una de las enfermedades más comunes del sistema estomatognático es la caries dental, producida por diversos factores que se produce tras la erupción de los dientes (1). Entre esos factores tenemos al bacteriano, y dentro de este, el principal actor es el *Streptococcus mutans* (2).

S. mutans es una bacteria gram positiva (3) que coloniza las estructuras duras de la boca y que, junto con otras bacterias, forman en un primer momento el biofilm (4–6), llegando a generar grandes y profundas cavidades hasta perder por completo la estructura dental, producto de la desmineralización. Este descenso de minerales en la densidad del diente se produce cuando los restos de comida que quedan en boca son aprovechados por *S. mutans*; esa digestión bacteriana da como deshechos sustancias ácidas (6,7) que perforan los dientes.

Se ha establecido una mayor prevalencia de *S. mutans* en la cavidad oral, en consecuencia, al controlar a este agente patógeno se puede reducir significativamente la incidencia de caries (8).

Una de las formas de combatir la caries dental es el empleo de productos alternativos, que por su bajo costo y accesibilidad son los más recomendados en países en vías de desarrollo (2,3). Así tenemos que, Khoramian *et al* (8) menciona *Teucrium polium* (manzanilla, hierba de flores silvestres) como una alternativa para disminuir de manera efectiva el crecimiento poblacional de *S. mutans*, con una duración de hasta tres semanas.

Otros productos naturales son las bayas, como *Rubus fruticosus* (zarzamora), *Myrcianthes rhopaloides* (lanche), *Malpighia emarginata* (acerola) y *Vaccinium vitis-idaea* (arándano rojo) que aportan con fitonutrientes (9–11); estos actúan como antiinflamatorios y antimicrobianos (12,13); prueba de ello Barros B *et*

al (9), Demirbas A *et al* (14) y Četojević *et al* (15) confirman estos efectos de las bayas en hongos como: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis*; y bacterias como: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella typhimurium*, y *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, el esfuerzo realizado en Perú por disminuir la caries es insuficiente puesto que el Ministerio de Salud del Perú (MINSA) registra para el año 2019 una tasa del 90,4% de peruanos con caries dental (16).

La incidencia de enfermedades odontológicas en el Perú es alta. Siendo la caries dental la más elevada, con una alta prevalencia (90%) por arriba de enfermedades como las periodontales (85%) y maloclusiones (80%), junto con lesiones en la mucosa bucal, cáncer bucal y otros traumatismos bucodentales. Además, se observan dientes cariados, perdidos y obturados (CPOD) en niños de 6 a 12 años, lo que ha llevado a que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) clasifique al Perú como un país en estado de emergencia. Ante esta situación, los expertos destacan la necesidad de implementar acciones de salud pública tanto a nivel individual como colectivo para manejar la funcionalidad, el dolor dental y el impacto en la calidad de vida de los ciudadanos, especialmente aquellos en situación de exclusión y con riesgo de enfermedades bucales (17). Por otro lado, el Dr. Marcos Calle, quién es el director ejecutivo de la Dirección de Salud Bucal del Minsa informó que, la prevalencia de caries entre escolares de 3 a 15 años es del 85,6%, lo que significa que 9 de cada 10 escolares padecen esta enfermedad (18), hecho que llama la atención para establecer un conjunto de métodos con el objetivo de disminuir lo más posible esas cifras.

1.2. Antecedentes de Estudio

1.2.1. Internacionales

Barbieri *et al.* (2022, Croacia) (19) evaluaron los efectos antimicrobianos de los extractos de *Rubus fruticosus* y *Juniperus oxycedrus* sobre *Listeria monocytogenes*. En esta investigación experimental, se utilizó un enfoque basado en dosis subletales derivadas de las hojas de estas plantas. Los resultados indicaron una reducción en la concentración celular máxima y un aumento en las células lesionadas (46.83% a las 72 horas), lo que sugiere que los constituyentes, como la rutina y el ácido clorogénico, afectan la permeabilidad de la membrana bacteriana. Concluyeron que estos extractos ralentizan el crecimiento de *L. monocytogenes*.

Acosta J (2021, Ecuador) (20) estudió el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camelia sinensis* (té verde) y propóleo sobre *S. mutans*. Usaron un diseño experimental *in vitro* con 150 discos de sensibilidad en placas de Petri inoculadas con la bacteria. Los resultados mostraron que el extracto al 30% inhibió el crecimiento bacteriano con halos de inhibición de hasta 9.20 mm, mientras que el extracto al 10% no mostró actividad. Se concluyó que el extracto de *C. sinensis* al 30% posee actividad antibacteriana significativa frente a *S. mutans*.

Ben Lagha A *et al.* (2020, Canadá) (12) investigaron el impacto de la cereza agria (*Prunus cerasus* L.) sobre patógenos orales como *S. mutans*, *C. albicans* y *Fusobacterium nucleatum*. Se utilizó una metodología cuantitativa y descriptiva, y se descubrió que la quercetina y las procianidinas de la cereza no poseían un efecto antimicrobiano significativo solo inhibieron su formación en un 70% en las muestras obtenidas, esto significa que un 30% no tuvo efecto. Concluyeron que la cereza agria puede disminuir la adhesión bacteriana a superficies dentales, mejorando la protección contra infecciones orales.

Barros B *et al.* (2019, Brasil) (9) realizaron un estudio exploratorio que tenía como objetivo inhibir el crecimiento de diversas especies de *Candida* (*C. albicans*,

C. parapsilosis, *C. krusei* y *C. tropicalis*). Utilizaron un extracto salino de las hojas de *Malpighia emarginata* (acerola) como sustancia antimicrobiana. Los resultados mostraron que este extracto fue capaz de inhibir hasta el 90% del crecimiento de estas especies de *Candida*, sin provocar daño celular, y fomentando la proliferación de células involucradas en la curación. Concluyeron que el extracto de *M. emarginata* tiene potencial para ser usado como tratamiento antifúngico eficaz.

Shaikh S y Kumar M (2017, Arabia Saudita) (21) se propusieron evaluar el impacto de diferentes bayas (frambuesas, fresas, arándanos, uvas y moras) sobre *Streptococcus mutans* y *Fusobacterium nucleatum*. Utilizaron un estudio correlacional, donde los polifenoles presentes en los extractos de estas frutas actuaron como inhibidores de la actividad bacteriana. Los resultados mostraron que los polifenoles de las bayas, especialmente de grosella negra, arándano rojo, arándano y mora, inhibieron la actividad de la F-ATPasa de *S. mutans*, alterando el pH intracelular y eliminando al microorganismo en el 65% de las muestras usadas. Se concluyó que los polifenoles presentes en estas bayas son responsables de la antiagregación bacteriana, lo que previene la formación de placa dental.

1.2.2. Nacionales

El estudio de Ascate M (2019, Perú) (11) tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana de extractos de *Myrcianthes rhopaloides* sobre varias bacterias patógenas. La investigación cuantitativa usó discos de sensibilidad en bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La CMI de la fracción 3 del extracto de 45° G.L. fue de 0,313 mg/mL y su CMB fue de 0,625 mg/mL frente a *Staphylococcus aureus*. La CMI de la fracción 3 del extracto decocto fue de 0,156 mg/mL y su CMB fue de 0,313 mg/mL, frente a *Staphylococcus Aureus*. Sin embargo, no se registró actividad inhibidora en *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se concluyó que los

extractos más efectivos fueron el decocto y el etanólico a 45°GL, siendo los más eficaces contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y *Bacillus subtilis*.

Ortega *et al* (2018, Perú) (22), donde evaluaron el extracto hidroetanólico de (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se utilizó el método de difusión en disco y microdilución en caldo para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB). Los resultados mostraron que el extracto presentó un efecto antibacteriano significativo con halos de inhibición de hasta 25.47 mm a concentraciones de 100 µg/mL, superando al control positivo (clorhexidina 0.12%). Concluyeron que el extracto de *C. citratus* tiene un efecto bactericida sobre *S. mutans*, con concentraciones de 80-90 µg/mL mostrando una efectividad similar.

1.2.3. Regionales

Santos J (2019, Lambayeque) (23) en su investigación planteó como objetivo describir la inhibición del extracto de *R. glaucus* (mora andina) sobre la *S. aureus* y *E. coli*. Fue un tipo de investigación básica, descriptiva. Tuvo como población el 100% del extracto de *R. glaucus*. Se obtuvo como resultado una inhibición de un halo promedio de inhibición de 13.556 mm en *S. aureus* y 12.670 mm en *E. coli*. Se concluyó que en general el extracto de *R. glaucus* (mora andina) tiene la capacidad de inhibir a *S. aureus* y *E. coli*, teniendo una acción directamente proporcional a la dosis del extracto y dependiendo de la cepa utilizada.

Guevara R (2018, Lambayeque) (24) tuvo como objetivo determinar del efecto inhibitorio *in vitro* de extracto natural del fruto de *R. glaucus* sobre *S. aureus*. La población estuvo representada por cepas de *S. aureus*, aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente Las Mercedes de Chiclayo. Tuvo como resultado que la carga bacteriana disminuyó a tal punto que no se aprecian UFC en las placas para los casos de las cepas resistentes a oxacilina a concentraciones de 50% y 75% de extracto, sin embargo, los resultados son un poco distintos para el caso de la cepa sensible a oxacilina pues en estas placas si se aprecian UFC en las concentraciones

de 50% y 75% aunque en menor cantidad que el control. Concluyó en que existe un efecto inhibitorio del extracto comprobado por el análisis llevado a cabo.

1.3. Teorías Relacionadas al Tema

1.3.1. Efecto Antibacteriano

El estudio del efecto antibacteriano es crucial en el campo de la medicina y la biología, especialmente en la era contemporánea donde la resistencia a los antibióticos se ha convertido en una amenaza significativa para la salud pública global. Los agentes antibacterianos incluyen una amplia gama de sustancias naturales y sintéticas diseñadas para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas y prevenir infecciones. Este ensayo explora los mecanismos de acción de estos agentes, la resistencia bacteriana emergente y las perspectivas futuras en la investigación y desarrollo de nuevos antibacterianos.

Los agentes antibacterianos funcionan mediante diversos mecanismos, como la inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana, la interferencia con la síntesis de proteínas, la alteración de la membrana celular y la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. Por ejemplo, los antibióticos beta-lactámicos, como la penicilina, actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, lo que lleva a la lisis celular (25). Otros, como los aminoglucósidos, se unen a la subunidad ribosomal 30S de las bacterias, interrumpiendo la síntesis de proteínas (26).

Sin embargo, la eficacia de los agentes antibacterianos está amenazada por la creciente prevalencia de bacterias resistentes a los antibióticos. La resistencia bacteriana puede surgir a través de mutaciones genéticas o la adquisición de genes de resistencia de otras bacterias mediante transferencia horizontal de genes. La resistencia a múltiples

fármacos (MDR) en bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* representa un desafío significativo para el tratamiento de infecciones (27). La Organización Mundial de la Salud ha destacado la necesidad urgente de nuevos antibióticos y estrategias terapéuticas para combatir la resistencia a los antibióticos (28).

En respuesta a esta crisis, la investigación está enfocada en el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes antibacterianos. Las plantas medicinales y los productos naturales han demostrado ser fuentes prometedoras de nuevos compuestos antibacterianos. Además, la biotecnología y la ingeniería genética están explorando nuevas vías para diseñar y producir antibióticos más efectivos y específicos.

1.3.2. Extracto Acuoso

Los extractos acuosos de plantas medicinales han sido objeto de creciente interés debido a sus potenciales propiedades terapéuticas, incluyendo su actividad antibacteriana. Estos extractos, obtenidos a través de la extracción de compuestos bioactivos utilizando agua como solvente, representan una alternativa natural y accesible a los antibióticos sintéticos. Este ensayo explora el proceso de obtención de extractos acuosos, sus mecanismos de acción antibacteriana y las evidencias actuales de su efectividad.

La obtención de extractos acuosos implica la maceración, infusión o decocción de partes de la planta, tales como hojas, raíces o flores, en agua. Este método es particularmente adecuado para extraer compuestos polares y solubles en agua, como flavonoides, taninos y alcaloides, que han demostrado tener actividad biológica significativa (29). A diferencia de otros métodos de extracción que utilizan solventes orgánicos, los extractos

acuosos son más seguros y económicos, lo que facilita su aplicación en comunidades con recursos limitados.

Los mecanismos de acción antibacteriana de los extractos acuosos pueden variar dependiendo de los compuestos presentes. En general, estos extractos pueden alterar la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, inhibir la síntesis de proteínas o de ácidos nucleicos, y generar estrés oxidativo en las células bacterianas. Por ejemplo, los flavonoides y taninos presentes en muchos extractos acuosos son conocidos por su capacidad para formar complejos con proteínas bacterianas y desestabilizar la membrana celular (30).

Evidencias recientes han demostrado la efectividad de los extractos acuosos contra una variedad de patógenos bacterianos. Un estudio sobre el extracto acuoso de *Moringa oleifera* mostró actividad significativa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los resultados sugieren que los compuestos bioactivos presentes en *Moringa oleifera* pueden ser una fuente prometedora de nuevos agentes antibacterianos (31). Otro estudio destacó el potencial del extracto acuoso de *Azadirachta indica* (neem) en la inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, bacterias responsables de infecciones nosocomiales (32).

A pesar de los prometedores resultados, es importante abordar algunas limitaciones en el uso de extractos acuosos. La variabilidad en la concentración de compuestos bioactivos debido a factores como la temporada de cosecha y las condiciones de crecimiento de la planta puede afectar la consistencia y eficacia de los extractos. Además, se requieren estudios clínicos exhaustivos para evaluar la seguridad y eficacia de estos extractos en humanos antes de su implementación generalizada (33).

En conclusión, los extractos acuosos de plantas medicinales representan una prometedora fuente de agentes antibacterianos naturales. Su potencial para inhibir el crecimiento de patógenos bacterianos, junto con su accesibilidad y seguridad, los posiciona como una alternativa viable a los antibióticos sintéticos. La investigación futura debe enfocarse en estandarizar los métodos de extracción y realizar estudios clínicos para validar su uso terapéutico.

1.3.3. Estudio In Vitro

Los estudios *in vitro* representan una herramienta fundamental en la investigación biomédica y farmacológica. Estos estudios, realizados en un entorno controlado fuera de un organismo vivo, permiten investigar mecanismos biológicos, evaluar la eficacia y seguridad de nuevos fármacos y comprender mejor las interacciones celulares y moleculares. Este ensayo examina las ventajas, limitaciones y aplicaciones de los estudios *in vitro* en la ciencia contemporánea.

Una de las principales ventajas de los estudios *in vitro* es el control preciso del entorno experimental. Los investigadores pueden manipular variables específicas, como la concentración de un compuesto o las condiciones del medio de cultivo, para estudiar sus efectos sobre células o tejidos. Esto permite una evaluación detallada de los mecanismos de acción a nivel celular y molecular, lo que es crucial para el desarrollo de nuevos tratamientos médicos (34). Además, los estudios *in vitro* suelen ser menos costosos y más rápidos de realizar en comparación con los estudios *in vivo*, que implican la experimentación en organismos vivos.

Los estudios *in vitro* son particularmente valiosos en la fase inicial del desarrollo de fármacos. Permiten la evaluación de la citotoxicidad y la eficacia de compuestos farmacológicos antes de pasar a estudios más complejos en

animales y humanos. Por ejemplo, la prueba de nuevos agentes anticancerígenos en líneas celulares tumorales ha sido esencial para identificar candidatos prometedores para ensayos clínicos (35). Además, estos estudios son cruciales para comprender las vías de señalización celular y las interacciones farmacológicas, proporcionando información vital para el diseño de fármacos más efectivos y seguros.

Sin embargo, los estudios *in vitro* tienen limitaciones inherentes. Una de las principales críticas es la falta de complejidad biológica en comparación con un organismo vivo. Las condiciones artificiales de los cultivos celulares pueden no replicar completamente el microambiente de un tejido o la interacción entre diferentes sistemas orgánicos. Esto puede llevar a resultados que no siempre son predictivos de los efectos *in vivo* (36). Por esta razón, los estudios *in vitro* deben ser complementados con estudios *in vivo* para validar los hallazgos y asegurar su relevancia biológica.

Además, la interpretación de los resultados de estudios *in vitro* requiere cautela. La dosificación y la exposición a los compuestos pueden diferir significativamente de las condiciones fisiológicas. La extrapolación de datos *in vitro* a escenarios clínicos debe hacerse considerando estas diferencias y las posibles variaciones en la respuesta biológica entre diferentes tipos de células y organismos (37). A pesar de estas limitaciones, los estudios *in vitro* continúan siendo una piedra angular de la investigación biomédica. La tecnología avanzada, como los modelos de órganos en chip y las técnicas de cultivo tridimensional, está mejorando la relevancia y la precisión de estos estudios. Estas innovaciones permiten una mejor imitación del entorno biológico natural y promueven una investigación más traslacional (38).

En conclusión, los estudios *in vitro* ofrecen una herramienta poderosa y versátil para la investigación biomédica. Su capacidad para proporcionar un

control experimental riguroso y datos detallados sobre mecanismos biológicos los hace indispensables en el desarrollo de nuevos fármacos y tratamientos. Sin embargo, la integración con estudios *in vivo* es esencial para una comprensión completa y aplicable de los fenómenos biológicos. La continua evolución de las técnicas *in vitro* promete avanzar en nuestra capacidad para abordar complejos desafíos científicos y médicos.

1.3.4. Caries Dental

La caries dental es una enfermedad producto de un desequilibrio ecológico, causado por el aumento de la ingesta de carbohidratos fermentables que lleva a un desbalance en la composición y la actividad en el biofilm y la pérdida mineral causada por los ácidos bacterianos, producto del metabolismo de los carbohidratos (39).

La caries dental es una infección crónica común resultante de bacterias cariogénicas adherentes a los dientes, principalmente *Streptococcus mutans*, que metabolizan los azúcares para producir ácido, desmineralizando la estructura del diente con el tiempo (40).

La caries dental representa una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial, con un impacto significativo en la salud oral de la población. Se caracteriza por la desmineralización progresiva de los tejidos duros del diente, principalmente el esmalte y la dentina, debido a la actividad ácida de las bacterias presentes en la placa dental. Este proceso erosivo es el resultado de la fermentación de carbohidratos por parte de bacterias como *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, que producen ácidos que disuelven los minerales del esmalte (41).

La etiología de la caries dental es multifactorial e involucra una interacción compleja entre factores microbiológicos, ambientales y genéticos. Las bacterias cariogénicas presentes en la placa dental juegan

un papel crucial en el inicio y la progresión de la enfermedad. Estas bacterias metabolizan los carbohidratos de la dieta para producir ácidos que desmineralizan el esmalte dental. Además, factores como la dieta rica en azúcares y carbohidratos fermentables, la falta de higiene oral adecuada, la disminución del flujo salival, la exposición al fluoruro y la susceptibilidad genética contribuyen al desarrollo de la caries dental (42).

La prevención y el control de la caries dental son fundamentales para mantener una buena salud oral a lo largo de la vida. Las estrategias preventivas incluyen la promoción de una adecuada higiene oral, la limitación del consumo de alimentos y bebidas azucaradas, el uso de productos dentales con fluoruro y la aplicación tópica de selladores dentales. Además, la detección temprana de lesiones incipientes mediante exámenes clínicos y radiográficos permite la implementación de tratamientos conservadores para detener la progresión de la enfermedad y preservar la estructura dental (43).

En casos más avanzados de caries dental, se requieren tratamientos restauradores para restablecer la forma y la función de los dientes afectados. Estos tratamientos pueden incluir empastes dentales, incrustaciones, coronas y endodoncias, dependiendo de la extensión de la lesión. Sin embargo, es importante destacar que la prevención sigue siendo la piedra angular en la gestión de la caries dental, ya que los tratamientos restauradores solo abordan las consecuencias de la enfermedad y no su causa subyacente (44).

En conclusión, la caries dental es una enfermedad prevenible y tratable que afecta a personas de todas las edades en todo el mundo. La implementación de medidas preventivas efectivas y la educación sobre hábitos saludables son fundamentales para reducir la incidencia de la caries y mejorar la salud oral de la población.

1.3.5. Medio de Cultivo

Los medios de cultivo son fundamentales en la microbiología, biotecnología y numerosas disciplinas científicas, ya que proporcionan el entorno adecuado para el crecimiento y estudio de microorganismos, células vegetales y animales. Un medio de cultivo bien diseñado permite la proliferación, diferenciación y análisis de células en condiciones controladas, facilitando una amplia gama de investigaciones y aplicaciones prácticas. Este ensayo examina los componentes esenciales, tipos, aplicaciones y desafíos asociados con los medios de cultivo.

Un medio de cultivo está compuesto por nutrientes básicos necesarios para el crecimiento celular, incluyendo fuentes de carbono y nitrógeno, vitaminas, minerales y, en algunos casos, factores de crecimiento específicos. Los componentes básicos de un medio de cultivo incluyen agua, sales minerales, aminoácidos, carbohidratos y otras sustancias específicas según el tipo de célula o microorganismo a cultivar (45). La selección adecuada de estos componentes es crucial para asegurar el crecimiento óptimo y la viabilidad de las células.

Existen diversos tipos de medios de cultivo, diseñados para satisfacer las necesidades específicas de diferentes organismos. Los medios de cultivo pueden ser clasificados en medios definidos y complejos. Los medios definidos tienen una composición química exacta conocida, lo que permite el control preciso de las condiciones experimentales. En contraste, los medios complejos contienen ingredientes de composición variable, como extractos de levadura o peptonas, proporcionando una amplia gama de nutrientes (46). Además, los medios pueden ser selectivos, diferenciales, enriquecidos o de mantenimiento, según el objetivo del cultivo.

La aplicación de medios de cultivo es extensa y variada. En microbiología, se utilizan para aislar y estudiar bacterias, hongos y otros

microorganismos. Por ejemplo, el agar MacConkey es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacterias gramnegativas y la diferenciación de aquellas que fermentan lactosa (47). En biotecnología, los medios de cultivo son esenciales para la producción de bioproductos, como proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales. En la investigación médica, se utilizan para el cultivo de células humanas y animales, permitiendo estudios sobre biología celular, toxicología y desarrollo de fármacos (48).

A pesar de su importancia, el uso de medios de cultivo presenta varios desafíos. La contaminación es uno de los principales problemas, ya que puede comprometer la integridad de los experimentos. La asepsia rigurosa y el uso de técnicas estériles son esenciales para prevenir la contaminación microbiana (49). Además, la optimización de los medios de cultivo para diferentes tipos celulares requiere una comprensión profunda de las necesidades metabólicas específicas y las interacciones celulares. La variabilidad en la calidad de los componentes del medio también puede afectar la reproducibilidad y consistencia de los resultados experimentales.

En resumen, los medios de cultivo son herramientas esenciales en la investigación científica y tienen aplicaciones cruciales en microbiología, biotecnología y medicina. Su diseño y optimización requieren un enfoque meticuloso para asegurar el crecimiento adecuado y la viabilidad de los organismos cultivados. A medida que avanza la tecnología, el desarrollo de medios de cultivo más sofisticados y específicos continuará impulsando el progreso en diversas áreas de la ciencia y la medicina.

1.3.6. Cepas Bacterianas

Las cepas bacterianas son fundamentales en el estudio de la microbiología, la biotecnología y la medicina. Una cepa bacteriana se define como una variante genética dentro de una especie bacteriana, que puede

presentar diferencias en características morfológicas, fisiológicas y genéticas. Este ensayo examina la importancia de las cepas bacterianas en la investigación científica, sus aplicaciones en la biotecnología y la salud, y los desafíos asociados con su identificación y manejo.

Las cepas bacterianas son esenciales para entender la diversidad y la adaptabilidad de las bacterias. Cada cepa puede poseer características únicas que la hacen más apta para sobrevivir en ciertos ambientes o condiciones. Por ejemplo, las cepas de *Escherichia coli* pueden variar significativamente en su patogenicidad; algunas cepas son comensales inofensivos del tracto intestinal humano, mientras que otras, como *E. coli* O157, son patógenas y pueden causar enfermedades graves (50). El estudio de estas diferencias es crucial para comprender los mecanismos de patogénesis y resistencia a los antibióticos.

En la biotecnología, las cepas bacterianas se utilizan ampliamente para la producción de productos comerciales y farmacéuticos. Las cepas de *Bacillus thuringiensis*, por ejemplo, son explotadas por sus propiedades insecticidas y se utilizan en productos agrícolas biopesticidas (51). Asimismo, las cepas de *Streptomyces* son conocidas por su capacidad para producir antibióticos como la estreptomicina, que ha sido fundamental en el tratamiento de diversas infecciones bacterianas (52). La ingeniería genética permite la modificación de cepas bacterianas para mejorar su rendimiento y producir nuevos compuestos de interés.

La identificación y caracterización de cepas bacterianas son procesos esenciales para asegurar la eficacia y seguridad en sus aplicaciones. Las técnicas tradicionales de identificación bacteriana incluyen métodos fenotípicos, como la morfología de las colonias y las pruebas bioquímicas. Sin embargo, estos métodos pueden ser limitados y poco precisos. Con el avance de la biología molecular, las técnicas genotípicas, como la

secuenciación del ADN y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han revolucionado la capacidad para identificar y caracterizar cepas bacterianas con mayor precisión y rapidez (53).

Uno de los desafíos significativos en el manejo de cepas bacterianas es la evolución y la resistencia a los antibióticos. Las bacterias pueden adquirir resistencia a través de mutaciones genéticas o la transferencia horizontal de genes, lo que resulta en la aparición de cepas resistentes que son difíciles de tratar con los antibióticos convencionales. La resistencia a los antibióticos es una preocupación global que requiere una vigilancia continua y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para combatir infecciones (54).

En conclusión, las cepas bacterianas desempeñan un papel crucial en la investigación científica, la biotecnología y la medicina. La comprensión de sus características únicas y su manejo adecuado es esencial para aprovechar sus beneficios y mitigar los riesgos asociados, especialmente en el contexto de la resistencia a los antibióticos. Los avances en técnicas de identificación y caracterización continuarán mejorando nuestra capacidad para estudiar y utilizar estas valiosas herramientas biológicas.

1.3.7. Susceptibilidad Bacteriana

La susceptibilidad bacteriana se refiere a la sensibilidad de las bacterias a los agentes antimicrobianos, lo cual es crucial para el tratamiento efectivo de infecciones bacterianas. La evaluación de la susceptibilidad bacteriana es un componente esencial de la microbiología clínica, ya que guía la elección de antibióticos adecuados y ayuda a monitorizar la aparición de resistencia. Este ensayo examina los métodos utilizados para determinar la susceptibilidad bacteriana, la importancia clínica de estos estudios y los

desafíos que enfrenta la medicina moderna debido a la resistencia antimicrobiana.

Los métodos para evaluar la susceptibilidad bacteriana incluyen pruebas de difusión en agar, pruebas de dilución y técnicas moleculares. El método de difusión en disco, también conocido como prueba de Kirby-Bauer, es uno de los más comunes. Este método implica la colocación de discos impregnados con antibióticos sobre una placa de agar inoculada con la bacteria de interés. Después de la incubación, se mide el halo de inhibición alrededor de cada disco para determinar la susceptibilidad (55). Otro método ampliamente utilizado es la prueba de dilución en caldo, que determina la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un antibiótico, es decir, la menor concentración capaz de inhibir el crecimiento bacteriano visible (56).

La importancia clínica de evaluar la susceptibilidad bacteriana no puede subestimarse. La información obtenida a través de estas pruebas permite a los médicos seleccionar el tratamiento antibiótico más efectivo, reduciendo así la morbilidad y mortalidad asociada con infecciones bacterianas. Además, estas pruebas son esenciales para la vigilancia epidemiológica de la resistencia antimicrobiana, ayudando a identificar tendencias emergentes y a desarrollar estrategias de control (57). Por ejemplo, el aumento de infecciones causadas por bacterias multirresistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Escherichia coli* productora de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) subraya la necesidad de pruebas de susceptibilidad precisas y oportunas (58).

Sin embargo, la creciente resistencia a los antibióticos presenta numerosos desafíos. Las bacterias tienen la capacidad de desarrollar resistencia a través de varios mecanismos, como la modificación de los sitios de acción del antibiótico, la producción de enzimas inactivadoras, la alteración de la permeabilidad de la membrana celular y la expulsión activa

de los antibióticos mediante bombas de eflujo (59). La rápida propagación de genes de resistencia entre las bacterias, facilitada por la transferencia horizontal de genes, exacerba este problema y limita las opciones de tratamiento disponibles.

Para abordar la resistencia antimicrobiana, es esencial un enfoque multifacético que incluya el uso racional de antibióticos, la implementación de programas de vigilancia robustos y el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. La administración adecuada de antibióticos, basada en pruebas de susceptibilidad bacteriana, puede ayudar a minimizar el uso excesivo e inapropiado de estos medicamentos (60). Además, la investigación continua en el descubrimiento de nuevos antibióticos y terapias alternativas, como los bacteriófagos y los moduladores del sistema inmunitario, es vital para enfrentar la resistencia emergente.

En suma, la susceptibilidad bacteriana es un aspecto crítico de la microbiología clínica y la práctica médica. Las pruebas para determinar la susceptibilidad bacteriana son esenciales para guiar el tratamiento de infecciones y monitorizar la resistencia antimicrobiana. Aunque la resistencia a los antibióticos representa un desafío significativo, la combinación de estrategias de manejo adecuadas, vigilancia y desarrollo de nuevas terapias ofrece un camino prometedor para mitigar este problema global.

1.3.8. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans es una bacteria grampositiva, anaerobia facultativa, parte del grupo de los *Streptococcus viridans*. Se encuentra predominantemente en la cavidad bucal humana y es uno de los principales microorganismos responsables de la formación de caries dental. Una de sus características distintivas es su capacidad para fermentar carbohidratos, principalmente sacarosa, produciendo ácidos orgánicos como ácido láctico.

Este proceso de fermentación reduce el pH en la superficie dental, desmineralizando el esmalte y facilitando la aparición de caries.

Esta bacteria se adhiere a la superficie de los dientes mediante la producción de una matriz extracelular compuesta por polisacáridos insolubles, lo que contribuye a la formación de la placa dental. La capacidad de *S. mutans* para sintetizar glucanos a partir de la sacarosa es fundamental para su adherencia a la superficie dental y su colonización. Además, produce enzimas como la glucosiltransferasa, que promueve la producción de glucanos extracelulares y facilita la acumulación bacteriana.

Los ácidos generados por *S. mutans* no solo afectan el esmalte, sino que también crean un ambiente ácido que favorece su propia proliferación, dado que es más tolerante a ambientes ácidos que otras bacterias orales. Esto permite que domine en la microbiota bucal en condiciones de bajo pH, lo que aumenta el riesgo de desarrollo de caries. A largo plazo, la actividad de *S. mutans* contribuye a la progresión de caries dentales, especialmente si no se toman medidas de higiene bucal adecuadas.

Además de las caries, *S. mutans* se ha asociado con otras complicaciones de salud. Una de estas complicaciones se origina cuando *S. mutans* ingresa al torrente sanguíneo a través de heridas en las encías lo que provoca una endocarditis infecciosa, una infección que afecta las válvulas cardíacas. Aunque esta es una complicación rara, subraya la importancia de mantener una buena salud bucal para prevenir infecciones sistémicas.

El control de *S. mutans* implica prácticas de higiene dental rigurosas, como el cepillado regular, el uso de hilo dental y el enjuague bucal. Se han desarrollado varias estrategias para inhibir su crecimiento, incluyendo el uso de compuestos antibacterianos como la clorhexidina, el flúor y probióticos que pueden interferir con la colonización bacteriana en la boca.

1.3.9. *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Streptococcus mutans ATCC 25175 es una cepa de referencia ampliamente utilizada en estudios de microbiología, especialmente en investigaciones sobre caries dentales. La ATCC (American Type Culture Collection) designa esta cepa como un estándar en investigaciones que buscan comprender las propiedades patogénicas y de resistencia de *S. mutans*. Esta cepa se ha caracterizado por su capacidad para formar biofilms sobre superficies dentales, lo que es clave en la comprensión de la dinámica de las infecciones orales.

En estudios de laboratorio, *S. mutans* ATCC 25175 es crucial para probar la eficacia de nuevos agentes antimicrobianos, enjuagues bucales y tratamientos preventivos de caries. Su capacidad para metabolizar azúcares y producir ácidos orgánicos, especialmente ácido láctico, es evaluada rigurosamente para analizar cómo estas sustancias pueden afectar la salud bucal. Además, esta cepa es utilizada para investigar los mecanismos genéticos de la resistencia a la acidificación del entorno bucal, una de las principales causas de su persistencia en la cavidad oral.

El estudio de *S. mutans* ATCC 25175 también ha permitido profundizar en la genética de la formación de biofilm. Los biofilms son comunidades bacterianas altamente organizadas que se adhieren a superficies, como los dientes, y son difíciles de erradicar mediante métodos convencionales de higiene. Esta cepa, en particular, es utilizada para observar cómo la glucosiltransferasa (GTF) participa en la síntesis de glucanos que permiten la adherencia de las bacterias a las superficies dentales.

Uno de los principales objetivos al usar esta cepa en investigaciones es evaluar tratamientos antimicrobianos. Agentes como la clorhexidina, el flúor y los extractos naturales se prueban en estudios *in vitro* para observar

su capacidad de inhibir el crecimiento y la adherencia de *S. mutans* ATCC 25175. Estas pruebas son clave para el desarrollo de productos que pueden reducir la incidencia de caries dentales en la población general.

Finalmente, el uso de *S. mutans* ATCC 25175 ha sido fundamental en el desarrollo de nuevas vacunas experimentales contra la caries dental. Se ha propuesto la inhibición de la glucosiltransferasa como uno de los enfoques para prevenir la formación de biofilms. Aunque aún no se ha desarrollado una vacuna eficaz, la investigación continua en torno a esta cepa permite una mejor comprensión de los mecanismos subyacentes a la colonización bacteriana en la cavidad oral.

1.3.10. Clorhexidina

La clorhexidina es un compuesto antimicrobiano de amplio espectro, utilizado comúnmente en productos para el control de la higiene bucal, como enjuagues y geles. Es particularmente efectiva contra bacterias grampositivas, como *Streptococcus mutans*, y se usa ampliamente para prevenir la formación de placa dental y caries. Su capacidad para destruir bacterias se basa en la ruptura de las membranas celulares bacterianas, lo que provoca la salida de componentes intracelulares y, en última instancia, la muerte de la célula.

Uno de los principales usos de la clorhexidina es como enjuague bucal en concentraciones del 0.12% y 0.2%. Estos enjuagues son eficaces para reducir la cantidad de bacterias patógenas en la boca, incluyendo *S. mutans*, y prevenir enfermedades periodontales y gingivitis. La clorhexidina también ha demostrado ser útil en la inhibición de la formación de biofilm dental, lo que reduce la acumulación de placa y el desarrollo de caries.

El mecanismo de acción de la clorhexidina implica su afinidad por las superficies bacterianas cargadas negativamente. Una vez que entra en

contacto con la membrana bacteriana, causa una alteración en la permeabilidad de la célula, lo que conduce a la fuga de componentes celulares esenciales y, finalmente, a la muerte de la bacteria. Además, la clorhexidina tiene un efecto residual, lo que significa que su actividad antimicrobiana persiste incluso después de que se ha eliminado de la cavidad bucal.

A pesar de sus beneficios, el uso prolongado de clorhexidina puede tener algunos efectos secundarios. El más común es la tinción de los dientes, especialmente con el uso continuo a largo plazo. También puede alterar el sabor temporalmente y, en algunos casos, causar irritación en los tejidos bucales. Sin embargo, estos efectos suelen ser menores en comparación con los beneficios de su uso en la prevención de enfermedades bucales.

En odontología, la clorhexidina sigue siendo uno de los agentes antimicrobianos más recomendados para controlar la placa y las infecciones orales. Sin embargo, su uso debe ser supervisado por profesionales de la salud dental, ya que un uso excesivo o inadecuado puede afectar negativamente el microbiota bucal natural y causar otros efectos adversos.

1.3.11. *Rubus fruticosus*:

Rubus fruticosus, comúnmente conocida como zarzamora o mora, es una planta cuyas frutas y hojas han sido ampliamente investigadas por sus propiedades medicinales. Las zarzamoras son ricas en compuestos bioactivos como flavonoides, antocianinas y taninos, todos ellos con potentes propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Las hojas de *R. fruticosus* contienen altas concentraciones de ácido elágico y quercetina, dos compuestos que han demostrado tener efectos antimicrobianos contra varios patógenos orales, incluyendo *Streptococcus mutans*.

Estudios *in vitro* han demostrado que los extractos de *Rubus fruticosus* pueden inhibir el crecimiento de bacterias como *S. mutans*, responsable de la formación de caries. Esto se debe principalmente a la presencia de polifenoles, que interfieren en la adhesión bacteriana y la formación de biofilms en la superficie de los dientes. Los taninos presentes en la planta tienen la capacidad de precipitar proteínas, lo que puede afectar la adhesión bacteriana y, en última instancia, reducir la formación de placa dental.

Además de sus propiedades antimicrobianas, los extractos de *R. fruticosus* también han mostrado efectos antiinflamatorios. Esto es beneficioso para la salud bucal, ya que la inflamación de las encías es una de las primeras etapas de la gingivitis. Los flavonoides presentes en las hojas y los frutos de la planta ayudan a reducir la respuesta inflamatoria en los tejidos periodontales, lo que puede contribuir a una mejor salud general de las encías.

La capacidad antioxidante de *R. fruticosus* también juega un papel importante en la prevención de enfermedades orales. Los antioxidantes neutralizan los radicales libres que pueden dañar las células de la boca y los dientes, protegiendo así contra el estrés oxidativo que puede agravar sus efectos. Estos compuestos no solo tienen aplicaciones para la salud bucal, sino que también se han utilizado tradicionalmente para tratar diversas afecciones como infecciones de la piel y heridas debido a sus propiedades antimicrobianas.

Finalmente, *R. fruticosus* ha mostrado tener potencial como una alternativa natural en productos de higiene bucal, especialmente en aquellos destinados a prevenir caries e infecciones periodontales. Sin embargo, es importante seguir investigando para determinar las dosis y formas más efectivas de uso de sus extractos.

1.3.12. *Myrcianthes rhopaloides*

Myrcianthes rhopaloides, también conocida como arrayán andino, es una planta nativa de los Andes cuyo uso medicinal ha sido tradicionalmente valorado en muchas culturas. Los extractos de las hojas y corteza de esta planta contienen diversos compuestos bioactivos, incluyendo taninos, flavonoides y aceites esenciales, que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

En estudios recientes, los extractos de *M. rhopaloides* han mostrado actividad contra una variedad de bacterias patógenas, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. Los extractos acuosos y etanólicos de esta planta han demostrado ser efectivos en la inhibición del crecimiento bacteriano, particularmente en bacterias que causan infecciones orales y enfermedades de la piel. Esta actividad se ha atribuido a la presencia de compuestos como la quercetina y los taninos, que afectan la pared celular bacteriana.

Además de sus propiedades antimicrobianas, *M. rhopaloides* también ha mostrado tener efectos antiinflamatorios. Esto es particularmente útil en el tratamiento de afecciones periodontales, donde la inflamación juega un papel importante en la progresión de la enfermedad. Los extractos de la planta reducen la inflamación en los tejidos gingivales, lo que ayuda a prevenir el daño a largo plazo.

Por otra parte, los antioxidantes presentes en *M. rhopaloides* son efectivos en la neutralización de radicales libres, lo que protege las células bucales del daño oxidativo. Esto es beneficioso no solo para la salud bucal, sino también para la prevención de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo.

Finalmente, aunque la investigación sobre *M. rhopaloides* sigue en desarrollo, sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias sugieren un gran potencial en la medicina natural, especialmente en productos para la higiene bucal y el tratamiento de infecciones cutáneas.

1.4. Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*?

1.5. Justificación e Importancia del Estudio

Este estudio se justifica teóricamente porque aportará con distintas definiciones y descripciones básicas que permitirán tomar decisiones respecto al tratamiento de la caries producida por el *S. mutans*; ciertamente esta bacteria ha sido tratada y trabajada en otros estudios y confrontada con otros antibacterianos; sin embargo, en el presente estudio emplearemos *R. fruticosus* y *M. rhopaloides* que son plantas muy conocidas en zonas donde el acceso a la salud pública es difícil, además son plantas con cualidades antimicrobiana muy prometedoras. Asimismo, permitirá tener una base sólida para enriquecer futuros estudios referentes al tema marcando la ruta para iniciar posteriores investigaciones.

En la práctica, la caries es una enfermedad que está tan distribuida en los peruanos, puesto que de cada 10 personas 9 tienen caries (18), y el identificar insumos de bajo costo y fácil acceso será una forma más de cómo combatir esta enfermedad. Además, será una fuente conocimientos comprobados para los especialistas y empresas abocados al área de la salud bucal que podrían concluir, por ejemplo, en la elaboración de colutorios.

En cuanto al aspecto metodológico, este radica en que es una aplicación *in vitro* que utiliza la exploración como manera de conseguir resultados, es decir, su

alcance metodológico es más amplio por comprobar *in actu* o *de facto* lo que se propone estudiar, no es meramente una recopilación de ideas o citas, sino que su objetividad está en que tiene asidero real e investigativo partiendo de datos empíricos.

El impacto social radica en que la caries viene afectando la calidad de vida de la población, con una morbilidad muy acentuada, mientras que el trabajo de investigación aportará con una posible solución para disminuir esa morbilidad, mejorando las condiciones personales asociadas al bienestar de las personas que se beneficiarán de este estudio, por ello será muy importante la realización de esta investigación.

1.6. Hipótesis

H₀: El efecto antibacteriano de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* no inhibirá el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, en un estudio *in vitro*.

H₁: El efecto antibacteriano de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* inhibirá el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, en un estudio *in vitro*.

1.7. Objetivos

1.7.1. Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*.

1.7.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *M. rhopaloides* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175.
- Comparar si existen diferencias entre los extractos acuosos y el gluconato de clorhexidina al 0.12%.

II. Metodología

2.1. Tipo de Investigación

El presente proyecto de investigación por su propósito es básico debido a que por sus descubrimientos y resultados busca nuevos productos y avances científicos (61); por su naturaleza es experimental debido a que presenta una “manipulación intencionada de la variable independiente y el análisis de su impacto sobre una variable dependiente” (62). Es una investigación transversal debido a que se utiliza la misma variable y es efectuada solo una vez, es explicativa porque además de describir el fenómeno se enfoca en la causa que lo origina, además es prospectiva debido a que el diseño que se elabora es previo al fenómeno a estudiar. Es analítico porque aborda el qué y cómo del fenómeno estudiado.

2.2. Diseño de la Investigación

Se empleó el diseño completamente al azar *in vitro*, pues es el que mejor se adaptó a las necesidades del estudio; ya que el diseño establecido calcula probabilísticamente la relación causa – efecto que se establecen entre las variables de estudio para de esta manera rechazar o aceptar a la hipótesis nula.

Este diseño experimental fue el de dilución doble seriada, el mismo que consistió en ocho tratamientos conteniendo cultivo de *S. mutans* ATCC 25175 con discos de sensibilidad embebidos en extracto acuoso de *R. fruticosus* (zarzamora) y *M. rhopaloides* (lanche) a diferentes concentraciones y un control con un cultivo de *S. mutans* ATCC 25175 con discos de sensibilidad embebidos en gluconato de clorhexidina al 0.12%. Para el caso de los extractos, ambos contaron con un total de siete repeticiones y para el caso del control, este contó con cuatro repeticiones (Anexo 1).

2.3. Ámbito de Estudio

Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán (Anexo 2), ambiente que cuenta con lo necesario para preparar los extractos acuosos y aplicarlos en las muestras bacterianas.

2.1. Operacionalización de Variables

Las variables contempladas en este proyecto son: “Efecto antibacteriano del extracto de *R. fruticosus* (zarzamora)”, “Efecto antibacteriano del extracto de *M. rhopaloides* (lanche)” y “Mortalidad de *S. mutans*”; la descripción de estas y su desarrollo se detallan en la tabla 2, y es como sigue:

Tabla 1: Descripción y operacionalización de las variables.

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Técnica e Instrumentos de recolección de datos
Efecto antibacteriano del extracto de <i>R. fruticosus</i> (zarzamora)	Acción bactericida o bacteriostática que posee un extracto (24)	Formación de un halo alrededor del disco de sensibilidad	Incremento del halo de inhibición	Distancia en milímetros del halo de inhibición. Nulo (≤ 6 (-)), intermedio (7–14 (+)). Sensibilidad media (15–19 (++)), sumamente sensible ($20 \geq$ (+++))	Observación: regla milimetrada, vernier digital
Efecto antibacteriano del extracto de <i>M. rhopaloides</i> (lanche)	Acción bactericida o bacteriostática que posee un extracto (11)	Formación de un halo alrededor del disco de sensibilidad	Incremento del halo de inhibición	Distancia en milímetros del halo de inhibición. Nulo (≤ 6 (-)), intermedio (7–14 (+)). Sensibilidad media (15–19 (++)), sumamente sensible ($20 \geq$ (+++))	Observación: regla milimetrada, vernier digital
Mortalidad de <i>S. mutans</i>	Muerte o lisis de células o de colonias de <i>Streptococcus mutans</i> .	Presencia no observable de colonias o células alrededor del disco de sensibilidad	Disminución de la presencia bacteriana alrededor del disco de sensibilidad	Distancia en milímetros del halo de inhibición. Nulo (≤ 6 (-)), intermedio (7–14 (+)). Sensibilidad media (15–19 (++)), sumamente sensible ($20 \geq$ (+++))	Observación: regla milimetrada, vernier digital

2.4. Población y Muestra

El universo poblacional estuvo constituido por un cultivo de *S. mutans* ATCC 25175, que se obtuvo del laboratorio de Investigación de la Universidad Señor de Sipán, en estado de liofilización.

Se utilizaron 4 placas Petri de 50 ml las cuales fueron previamente desinfectadas, rotuladas y esterilizadas en seco, luego fueron llenadas 2 placas con medio de cultivo Mitis Salivarius y 2 placas con medio Cerebro – Corazón (BHI), luego se pasó a la siembra de la bacteria *S. mutans* en todas las unidades experimentales.

Se empleó un total de 60 discos de sensibilidad antimicrobiana, los mismos que fueron distribuidos en 14 placas Petri, a razón de 5 y 4 discos por placa, los que estuvieron embebidos en los extractos acuosos y gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Considerando que las variables son cuantitativas continuas, la fórmula para calcular el tamaño muestral es la siguiente (63):

$$n = \frac{2 \times (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 s^2}{\delta^2}$$

Donde:

α = probabilidad de cometer error tipo I

β = probabilidad de cometer error tipo II

Z = coeficiente de la distribución normal estándar

δ = error de estimación absoluto

s = desviación estándar

δ se obtiene a partir de una muestra piloto o un bioensayo previo

Reemplazando los datos:

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.50 \times 0.50 \times 38}{0.05^2(38 - 1) + 1.96^2 \times 0.50 \times 0.50}$$

$$n = \frac{36.4952}{0.0925 + 0.9604} = \frac{36.4952}{1.0529} = 34.66160129 \cong 35$$

2.4.1. Criterios de inclusión

- Cepas bacterianas que contengan *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Bateria bacteriana que contenga gluconato de Clorhexidina al 0.12%.
- Bateria experimental que contenga extracto acuoso de la planta *M. rhopaloides* (lanche).
- Bateria experimental que contenga extracto acuoso de la planta *R. fruticosus* (zarzamora).

2.4.2. Criterios de exclusión

- Placas Petri que presenten contaminación con bacterias distintas a *S. mutans* ATCC 25175.
- Placas Petri con discos cuyos halos de inhibición contacten entre sí.
- Colonias bacterianas de *S. mutans* que estén contaminadas.
- Plantas en mal estado de conservación o infectadas con algún virus o bacteria.
- Extracto acuoso en estado de fermentación.

2.4.3. Criterios éticos.

El presente proyecto se basó en los principios éticos:

- Principio de Autonomía: Principio que defiende a la libertad individual que cada uno tiene para determinar sus propias acciones de acuerdo con su elección. Se respetarán las opiniones y criterios de cada uno de los investigadores respecto a la interpretación de los datos.

- Principio de Beneficencia: Incluye evitar el daño, es decir minimizar los riesgos para los sujetos de la investigación, usando el anonimato, además se informa que los datos obtenidos solo serán utilizados para fines de investigación y para diseñar estrategias de promoción de la salud.
- Principio a la Dignidad Humana: Este principio consiste en dar a conocer el tipo de investigación, la utilidad de éste, la justificación y los objetivos a los que se pretende llegar, para que los interesados sepan los efectos o daños que podrían derivarse.
- Principio de Justicia: Incluye el derecho de la persona a un trato justo y equitativo; antes, durante y después de su participación; y a la privacidad.
- Principio de veracidad: se respetarán los datos y los criterios de objetividad.

2.4.4. Criterios de rigor científico.

Los principales criterios de rigor científico que se utilizaron durante toda la investigación fueron:

- Observación: Proceso de conocimiento por el cual se perciben deliberadamente ciertos rasgos existentes en el objeto de conocimiento.
- Análisis: Es un procedimiento mental mediante el cual un todo complejo se descompone en sus diversas partes y cualidades. El análisis permite la división mental del todo en sus múltiples relaciones y componentes.
- Síntesis: Establece mentalmente la unión entre las partes previamente analizadas y posibilita descubrir las relaciones esenciales y características generales entre ellas. La síntesis se produce sobre la base de los resultados obtenidos previamente en el análisis.

- Inductivo: Procedimiento mediante el cual a partir de hechos singulares se pasa a proposiciones generales, lo que posibilita desempeñar un papel fundamental en la formulación de la hipótesis.
- Deducción: Es un procedimiento que se apoya en las aseveraciones y generalizaciones a partir de las cuales se realizan demostraciones o inferencias particulares. Las inferencias deductivas constituyen una cadena de enunciados cada uno de los cuales es una premisa o conclusión que se sigue directamente según las leyes de la lógica.

2.5. Instrumentos de recolección de datos

2.5.1. Coordinación

Se coordinó con el director de Investigación de la Universidad Señor de Sipán para el permiso correspondiente para el uso del laboratorio de Investigación y la asignación de un docente de investigación para la supervisión del experimento.

2.5.2. Técnicas de recolección de datos

Utilizaremos la observación directa, en ese sentido para la determinación de la acción antimicrobiana se procederá a medir el halo de inhibición con una regla milimetrada.

2.5.3. Ficha de recolección de datos

La ficha es un instrumento que sirvió para que los datos recabados, de cada tratamiento con sus repeticiones, sean almacenados para su posterior análisis.

Esta ficha es de autoría propia de los investigadores y fue elaborada en el programa de Microsoft Excel 2016 (Anexo 3).

Posteriormente los datos fueron analizados haciendo uso del programa SPSS versión 22.0, en este programa se aplicó la prueba estadística de normalidad de Shapiro-Wilk, también se aplicó las pruebas no paramétricas U de Mann Whitney, Wilcoxon y Kruskal-Wallis.

Luego los resultados obtenidos del programa SPSS versión 22.0 en formato de gráficos y tablas fueron analizados y confrontados con la bibliografía referente con el fin de responder al problema y llegar a los objetivos.

2.6. Procedimiento para muestras vegetales

2.6.1. Recolección herbaria

Las muestras vegetales de *Rubus fruticosus* (zarzamora) se obtuvieron del barrio Pueblo Nuevo, del distrito de Cajabamba, provincia de Cajabamba, departamento de Cajamarca, en las coordenadas de 7°37'22.6"S 78°02'21.8"W. Mientras que las muestras de *Myrcianthes rhopaloides* (lanche) se obtuvieron del Centro Poblado Huacaday, del distrito de Cachachi, provincia de Cajabamba, departamento de Cajamarca, en las coordenadas de 7°37'24.4"S 78°18'00.1"W.

Las muestras fueron empaquetadas y enviadas al distrito de Pimentel de la provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque, en donde se las almacenó en un ambiente fresco y ventilado.

En el laboratorio de Biología las muestras pasaron por un filtro de selección meticulosa. Se descartaron las hojas en mal estado de conservación y todas aquellas que presentaron signos de infección vírica o fúngica.

Luego se procedió a identificar taxonómicamente a las muestras con la ayuda de la guía taxonómica virtual Trópicos v3.3.2 (Anexo 4) del Missouri Botanical Garden (64).

Las muestras pasaron por un proceso de lavado con agua potable y oreado a temperatura ambiente; posteriormente las muestras fueron colocadas en bandejas de metal dentro de una estufa a 40°C por 48 horas.

Después del proceso de deshidratación, con la ayuda de un mortero y pilón se procede pulverizar la muestra hasta obtener un polvo homogéneo.

2.6.2. Procesamiento del extracto acuoso

Se tomó la muestra en polvo de *R. fruticosus* y se pesó en la balanza electrónica un total de 50g, esto fue vertido en un frasco y se le agregó 500ml de agua destilada para luego ser llevadas hasta hervir por un lapso de 5 minutos.

Luego se filtró dos veces haciendo uso del papel filtro Whatman N°4, seguidamente se procedió colocar el filtrado en el roto-vaporizador y se llevó a ebullición hasta obtener una masa espesa. Luego se tomó 3g de la masa concentrada y se agregó 100ml de agua destilada, la resultante fue el extracto acuoso al 100% (30mg/ml) para ambas especies.

Se utilizó los extractos acuosos concentrados para las diluciones correspondientes a los tratamientos de 12.5% (3.75mg/ml), 25% (7.5mg/ml), 50% (15mg/ml) y 100% (30mg/ml) de ambas especies.

Para la concentración del 100%, en vaso de precipitación se agrega 3g de la masa concentrada y 100ml de agua destilada. Para el 50%, en un tubo de extracción de laboratorio CEN-06T se agrega 1ml del preparado al 100% y 1ml de agua destilada; para el 25% se utilizó 1ml del preparado al 50% y 1ml de agua destilada; para el 12.5% se utilizó 1ml del preparado del 25% y 1ml de agua destilada.

Para la conservación de los extractos acuosos se vertieron en sus respectivos frascos ámbar, previamente esterilizados, y guardados en una refrigeradora para su posterior uso. Este mismo proceso fue aplicado para la muestra en polvo de *M. rhopaloides*.

2.7. Procedimiento para la Cepa bacteriana

2.7.1. Obtención de la cepa bacteriana

La bacteria *S. mutans* ATCC 25175, de la cual se hizo uso, es una cepa estandarizada del laboratorio Culti-Loops™, con lote 125580.

2.7.2. Preparación del medio de cultivo

a. Medio Soya Trypticasa (TSA)

Este medio de cultivo líquido llamado TSA se utilizó para la reactivación de la bacteria liofilizada. Se empleó 3ml del medio de cultivo al cual se le añadió un sobre de *S. mutans* ATCC 25175.

b. Agar Mitis Salivarius

El medio agar Mitis Salivarius (AMS) se preparó a partir del producto comercial HIMEDIA® REF M259-500g Mitis Salivarius Agar Base al que se le agregó H₂O destilada, la solución se llevó a la autoclave para su esterilización a 120°C por unos 15 minutos, después se agregó 1ml de Telurito de potasio (1%). Las concentraciones descritas están en base a 1L de medio de cultivo AMS. Finalmente, para el control de esterilidad se colocaron las placas en la estufa a 36°C por 24 horas y su validez del medio fue comprobada con el cultivo de la cepa bacteriana.

c. Medio Cerebro – Corazón (BHI)

Este medio fue utilizado para la siembra bacteriana, posterior a la reactivación y obtención de colonias. Para la preparación del medio en un matraz de Erlenmeyer se añadió 35.25g del medio en polvo y 750ml de agua destilada, se diluyó y se llevó a la autoclave a 120°C por 15 min para esterilizar.

2.7.3. Activación y obtención de colonias de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Lo primero que se hizo fue adaptar la cepa a temperatura ambiente, posterior a ello se mezcla la cepa deshidratada de *S mutans* ATCC 25175 con el medio TSA, se agitó ligeramente para ayudar a la homogenización, posteriormente haciendo uso de un hisopo estéril se siembra esparciendo el inóculo bacteriano (1ml en promedio) en un par de placas Petri conteniendo el medio de cultivo AMS bajo condiciones de microaerofilia, dentro de una estufa a 36°C por 24 horas.

2.8. Susceptibilidad del extracto acuoso

Para evitar contaminación cruzada en el procedimiento, tanto para la prueba piloto como para el presente estudio, fue realizado en una cabina de seguridad biológica Steril-Bio Ban Compact. El hisopo estéril se embebió en los tubos de ensayo que contenían el inóculo bacteriano, luego se procede al sembrado del inóculo en todas las placas Petri que conforman la batería experimental, el sembrado es por aspersión cubriendo la totalidad de la superficie del medio de cultivo por cuadrantes.

Usando una pinza estéril se tomó los discos de sensibilidad, humedecidos en las concentraciones preparadas, incluyendo el grupo control (gluconato de

clorhexidina al 0.12%), y se colocó dentro de las placas Petri, 5 discos por cada placa. Se conservó entre los discos un área equidistante de tal manera que se evitó el solapamiento de los halos de inhibición. Para facilitar la difusión entre los discos y el medio de cultivo se mantuvo las placas a temperatura ambiente por un tiempo de 3 a 5 min.

Para obtener los resultados se llevan las placas Petri a incubación, colocándolas en forma invertida, durante 24 horas con una temperatura de 37°C con el fin de que se genere tanto el crecimiento microbiano como los halos de inhibición.

2.8.1. Lectura

La medición de los halos de inhibición fue realizada por los investigadores, quienes previamente fueron calibrados (Anexo 5) para asegurar la precisión y consistencia en el procedimiento. Luego de terminado el proceso de incubación se continua con la medición e interpretación del área circundante al disco. Utilizando una regla milimetrada se toman los registros del halo y para la interpretación de los datos resultantes se empleó la escala de Duraffourd y Lapraz (Tabla 2)

Tabla 2: Escala de Duraffourd y Lapraz

Rango (mm)	Interpretación
≤ 6 (-)	Nulo
7 – 14 (+)	Intermedio
15 – 19 (++)	Sensibilidad media
20 ≥ (+++)	Sumamente sensible

III. RESULTADOS

Tabla 3: Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes Rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*.

Extracto	Concentración	Halos en mm	Sensibilidad
<i>Rubus Fruticosus</i>	100%	0	Nulo
<i>Rubus Fruticosus</i>	50%	0	Nulo
<i>Rubus Fruticosus</i>	25%	0	Nulo
<i>Rubus Fruticosus</i>	12.5%	0	Nulo
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	100%	0	Nulo
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	50%	0	Nulo
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	25%	0	Nulo
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	12.5%	0	Nulo
Clorhexidina	-	10	Intermedio

En el análisis general, los extractos acuosos de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* no generaron ningún halo de inhibición en ninguna de las concentraciones probadas (100%, 50%, 25% y 12.5%), lo que indica una sensibilidad nula de *S. mutans* ATCC 25175 frente a estos extractos. Por otro lado, la clorhexidina al 0.12% mostró un halo de inhibición de 10 mm, lo que se traduce en una sensibilidad intermedia. Desde el punto de vista estadístico, se puede mencionar que los extractos vegetales no presentan un efecto significativo sobre el crecimiento de *S. mutans* en este estudio, mientras que la clorhexidina mantiene su efectividad antibacteriana. Esto sugiere que los extractos acuosos de estas plantas no son una alternativa eficaz frente a la clorhexidina en las condiciones evaluadas.

Tabla 4. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175.

Concentración	Halos en mm	Sensibilidad
100%	0	Nulo
50%	0	Nulo
25%	0	Nulo
12.5%	0	Nulo

Los resultados muestran que el extracto acuoso de *Rubus fruticosus* no tuvo ningún efecto antibacteriano sobre *S. mutans* en ninguna de las concentraciones probadas (100%, 50%, 25% y 12.5%). Estadísticamente, no se observó ninguna variación en los halos de inhibición, todos con un valor de 0 mm, lo que indica que el extracto acuoso no es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano de *S. mutans*. Esto contrasta con estudios previos que mostraban potencial antimicrobiano en extractos de frutas similares, sugiriendo que la ausencia de efecto podría estar relacionada con la formulación acuosa específica utilizada en este estudio o con la concentración de los compuestos bioactivos presentes.

Tabla 5. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *M. rhopaloides* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175.

Concentración	Halos en mm	Sensibilidad
100%	0	Nulo
50%	0	Nulo
25%	0	Nulo
12.5%	0	Nulo

En cuanto al efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Myrcianthes rhopaloides*, no se observó ningún halo de inhibición en ninguna de las concentraciones probadas (100%, 50%, 25% y 12.5%). Esto sugiere que el extracto acuoso, en las condiciones evaluadas, no tiene un impacto significativo sobre el crecimiento de *S.*

mutans. Desde un punto de vista estadístico, los resultados son uniformes y no indican ninguna variabilidad en la inhibición bacteriana, lo que refuerza la idea de que el método de extracción y concentración pueden influir en la efectividad de los compuestos bioactivos. Al igual que en el caso de *R. fruticosus*, estos resultados son contrarios a lo reportado en estudios donde se utilizaron otras formas de extracción.

Tabla 6. Diferencias entre los extractos acuosos y el gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Extracto	Concentración	Halos en mm	Sensibilidad	Media (mm)	DS (mm)
<i>Rubus Fruticosus</i>	100%	0	Nulo	0.00	0.00000
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	100%	0	Nulo	0.00	0.00000
Clorhexidina	-	10	Intermedio	10.00	0.23136

En esta comparación entre los extractos acuosos y la clorhexidina al 0.12%, los resultados son claros: mientras que ambos extractos vegetales no mostraron ningún halo de inhibición (sensibilidad nula), la clorhexidina produjo un halo de 10 mm, indicando una sensibilidad intermedia. Estadísticamente, la diferencia entre las sustancias es significativa, lo que demuestra la superioridad de la clorhexidina en cuanto a su actividad antimicrobiana contra *S. mutans*. Estos resultados sugieren que, aunque los extractos vegetales tienen propiedades antimicrobianas en otros contextos, no fueron efectivos en las concentraciones y método acuoso utilizados en este experimento, en comparación con un agente antimicrobiano estándar como la clorhexidina.

IV. DISCUSIÓN

Según el primer objetivo, que fue determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los resultados de este estudio no mostraron una inhibición bacteriana ni aumentó con la concentración del extracto. Estos hallazgos son contrarios con el trabajo de Shaikh y Kumar (2017), quienes observaron que los polifenoles presentes en moras y otras bayas inhiben la actividad bacteriana de *S. mutans*. Aunque Shaikh y Kumar utilizaron un enfoque más amplio sobre varias frutas, la inhibición observada en su estudio sugiere que los compuestos fenólicos en *R. fruticosus* pueden ser clave en la prevención de la formación de placa bacteriana y caries dental, como se mostró en su efecto antiagregante bacteriano.

En cuanto al segundo objetivo, que fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Myrcianthes rhopaloides* sobre *S. mutans*, el estudio reveló que las concentraciones más altas no presentaron una inhibición significativa del crecimiento bacteriano. Esto es contrario con los resultados obtenidos por Ascate M (2019), quien encontró una inhibición considerable de bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* usando extractos de *M. rhopaloides*. En ese estudio se destaca la capacidad de esta planta para actuar como agente antimicrobiano, especialmente contra bacterias grampositivas, lo que respalda su uso potencial en la salud bucal para prevenir infecciones.

El tercer objetivo, que fue comparar los extractos acuosos de *R. fruticosus* y *M. rhopaloides* con la clorhexidina al 0.12%, mostró que, aunque ambos extractos no demostraron actividad antibacteriana significativa, por ende, su efectividad fue inferior a la de la clorhexidina. Este resultado es similar a lo observado por Cárdenas Pachas y Farfán Villafuerte (2021), quienes también compararon extractos naturales con clorhexidina y encontraron que los extractos, aunque eficaces, no superaban la acción bactericida de la clorhexidina. Sin embargo, la potencial ventaja de estos extractos es

que son de origen natural, lo que podría ofrecer una alternativa menos agresiva y más sostenible en productos de higiene bucal.

Comparando estos resultados con los de Barbieri *et al.* (2022), quienes evaluaron el efecto de *Rubus fruticosus* sobre *Listeria monocytogenes*, se observa un patrón similar: los extractos de *R. fruticosus* reducen el crecimiento bacteriano y lesionan las células, lo que indica su capacidad para alterar la membrana bacteriana y afectar la viabilidad de las bacterias. Aunque los patógenos evaluados difieren, ambos estudios subrayan la relevancia de los compuestos fenólicos presentes en *R. fruticosus*, que parecen desempeñar un papel importante en la actividad antimicrobiana. Otro factor que podría estar influyendo en la obtención de una inhibición nula es el proceso para obtener el extracto. Para la obtención de nuestro extracto medimos 500ml de agua destilada y le agregamos 50g de hojas trituradas, luego ebullición, filtrado y después es llevado al roto-vaporizador para obtener una masa espesa de donde obtendremos una concentración de 30mg/ml. Este proceso se diferencia con el realizado por Ascate M (11), ya que al utilizar las hojas de *M. rhopaloides* para el extracto de tipo infuso tomó 4g de muestra triturada a la cual añadió 40ml de agua destilada en ebullición, posteriormente dejó en reposo por 5 minutos y para el extracto del tipo decocto utilizó la misma concentración y la llevó a ebullición en forma gradual por 5 minutos. En este sentido la temperatura también puede estar afectando la estructura química de las moléculas bioactivas, ya que la solución es sometida a evaporación. Algo similar estaría pasando con *R. fruticosus* ya que ambos pasaron por el mismo proceso, mientras que en otros trabajos utilizaron el fruto y no pasó por la mencionada etapa térmica, y solo fue a temperatura ambiente (23) o bien no superó los 40°C (14,15,65,66).

V. CONCLUSIONES

No existe efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*.

El efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175 es nulo.

El extracto acuoso de *M. rhopaloides* al 12.5%, 25% 50% y 100% sobre *S. mutans* ATCC 25175 no tiene efecto.

Finalmente, la diferencia más resaltante que existe entre los extractos y el gluconato de clorhexidina al 0.12% es que, este último, presenta un valor más alto de inhibición.

VI. RECOMENDACIONES

Basado en los resultados que indican que el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *R. fruticosus* sobre *S. mutans* es nulo, se recomienda que en futuras investigaciones se explore otras concentraciones o métodos de extracción que puedan incrementar la concentración de compuestos activos en el extracto. Además, sería beneficioso investigar combinaciones con otros extractos vegetales o aditivos que puedan potenciar su actividad antimicrobiana.

Dado que el estudio muestra que el extracto acuoso de *M. rhopaloides* no tiene efecto sobre *S. mutans*, se sugiere que en futuras investigaciones se utilicen otros solventes de extracción que puedan mejorar la solubilidad y extracción de los compuestos activos presentes en las hojas de *M. rhopaloides*. Además, sería importante considerar la posibilidad de evaluar otros tipos de extractos (como los

extractos etanólicos) o combinaciones con otros productos naturales que puedan potenciar su actividad antimicrobiana.

Considerando que el gluconato de clorhexidina mostró un valor más alto de inhibición en comparación con los extractos vegetales evaluados, se recomienda seguir utilizando este estándar como medida de comparación en futuros estudios. Sin embargo, también es importante continuar investigando extractos vegetales naturales, como los de *R. fruticosus* y *M. rhopaloides*, debido a su potencial para ofrecer alternativas naturales y menos agresivas para el control de bacterias orales.

Es recomendable realizar un ensayo, en laboratorios de investigación especializados de universidades o instituto, donde se establezca de manera precisa el contenido de compuestos fenólicos totales de las bayas, ya que este podría ser uno de otros factores que, de manera sinérgica o no, podrían afectar los resultados a diferencia de sus homólogos del mismo género o grupo familiar.

Así mismo, se recomienda confrontar los extractos de hojas, tallo, raíz, flor y frutos de estas plantas, de tal manera que se establezca en cual de esas partes cuenta con la mayor concentración de biomoléculas con principios antibacterianos.

Otra recomendación sería elaborar un ensayo en donde se confronte los métodos de obtención de los compuestos bioactivos, como por ejemplo la infusión, decocción, extracto etanólico, destilación, etc.; y descartar si en efecto la temperatura podría estar alterando la concentración de moléculas y sus principios antibacterianos, de tal manera que se establezca el mejor proceso para un mayor rendimiento en la extracción de las biomoléculas; con el fin de establecer un Know How que cuente con una eficiencia de extracción de moléculas bioactivas para estas especies de plantas.

Finalmente se recomienda elaborar ensayos en donde las biomoléculas actúen en un cultivo de muestra salival, con el fin de obtener un posible compuesto para un colutorio y su posible comercialización a nivel artesanal o industrial.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madrigal N, Moreno A, Flores NL. Caries y salud bucal, percepciones acerca de la enfermedad. Rev Odontopediatría Latinoam [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]; 11(2). Disponible en: <https://www.revistaodontopediatria.org/index.php/alop/article/view/255>.
2. Riyanti E, Maskoen A, Oewen R, Pratidina N, Achmad H, Ramadhany Y. Antibacterial activity of *Allium sativum* against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in Indonesia. Syst Rev Pharm [Internet]. 2020 [citado el 10 de octubre de 2024];11(04). Disponible en: <http://www.sysrevpharm.org/index.php?fulltxt=100956&fulltxtj=196&fulltxtp=196-1587472923.pdf>.
3. Schovelin-H A, Muñoz-C M. Efecto antibacteriano de la infusión de orégano (*Origanum vulgare*) sobre el crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans*. Int J Odontostomatol. 2018 [citado el 10 de octubre de 2024]; 12(4): 337–42. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2018000400337&script=sci_abstract.
4. Choi Y, Nam S. Antibacterial Activity of Essential Oils Against *Streptococcus mutans*. Medico Leg Update. el 9 de abril de 2020; 20 (1):1804–9. <https://ijop.net/index.php/mlu/article/download/639/594/1152>.
5. Yataco A. Comparación del efecto antibacteriano in vitro entre dos dentífricos herbales y no herbales comercializados en la provincia de Chiclayo sobre cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. Universidad Señor de Sipán. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/7913/Yataco%20D%C3%ADaz%20Antony%20Jiampiers.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
6. Corado A. Probióticos orales y su importancia para el tratamiento de enfermedades bucales como: caries dental y enfermedad periodontal. Revisión sistemática [Internet]. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2020 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/16187/1/T%202746.pdf>.

7. Brito M. Adaptação de *Streptococcus mutans* à lactose, cariogenicidade do biofilme formado e desmineralização da dentina [Maestría]. Piracicaba: Universidad de Estadual de Campinas. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/1082329>.
8. Khoramian S, Jafari A, Marashi S, Faramarzi S, Farid M, Ansari M. The effect of antimicrobial activity of *Teucrium polium* on oral *Streptococcus mutans*: a randomized cross-over clinical trial study. *BMC Oral Health* [Internet]. 2020 [citado el 10 de octubre de 2024]; 20(1):130. Disponible en: <https://bmcoralhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12903-020-01105-6>.
9. Barros B, Barboza B, Ramos BA, Moura M, Coelho L, Napoleão T. Saline extract from *Malpighia emarginata* DC leaves showed higher polyphenol presence, antioxidant and antifungal activity and promoted cell proliferation in mice splenocytes. *An Acad Bras Ciênc* [Internet]. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024];91. Disponible en: <http://www.scielo.br/j/aabc/a/9wkXMWgWSyxdRrhvPLr7r9d/?lang=en>.
10. Kokubu E, Kinoshita E, Ishihara K. Inhibitory effects of lingonberry extract on oral streptococcal biofilm formation and bioactivity. *Bull Tokyo Dent Coll* [Internet]. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]; 60(1):1–9. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/tdcpublication/60/1/60_2018-0007/_pdf.
11. Ascate M. Actividad antibacteriana de las fracciones de extractos de hojas de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth) Mc Vaugh “lanche colorado” [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/items/bb9de778-8549-4e50-b0d9-a82f580c514e>.
12. Ben A, LeBel G, Grenier D. Tart cherry (*Prunus cerasus* L.) fractions inhibit biofilm formation and adherence properties of oral pathogens and enhance oral epithelial barrier function [Internet]. *Phytother Res*. 2020 [citado el 10 de octubre de 2024]; 34(4): 886–95. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337992814_Tart_

cherry_Prunus_cerasus_L_fractions_inhibit_biofilm_formation_and_adherence_properties_of_oral_pathogens_and_enhance_oral_epithelial_barrier_function.

13. Espejo M. Efecto antibacteriano de los extractos hidroetanólico y acuoso de cáscara y semilla de *Myrciaria dubia* (Camu Camu) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.13032/36796>.
14. Demirbas A, Yilmaz V, Ildiz N, Baldemir A, Ocsoy I. Anthocyanins-rich berry extracts directed formation of Ag NPs with the investigation of their antioxidant and antimicrobial activities [Internet]. 2017 [citado el 10 de octubre de 2024]; 248: 1044–9. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2053-1591/ac0d2c>.
15. Četojević Simin D, Ranitovic A, Cvetkovic D, Markov S, Vincic M, Djilas S. Bioactivity of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) pomace: Polyphenol content, radical scavenging, antimicrobial and antitumor activity [Internet]. Acta Period Technol [Internet]. 2017 [citado el 10 de octubre de 2024]; 48:63–76. Disponible en: <https://scindeks.ceon.rs/article.aspx?artid=1450-71881748063C>.
16. Ministerio de Salud (MINSA). El 90.4% de los peruanos tiene caries dental [Internet]. [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>.
17. Remuzgo Huamán M, Remuzgo Huamán SE, Remuzgo Huamán M, Remuzgo Huamán SE. Gestión de políticas públicas de salud bucal desde la perspectiva de los operadores y gestores locales en Ate-Vitarte y Santa Anita, 2017. Horiz Méd Lima [Internet]. julio de 2022 [citado el 7 de agosto de 2024];22(3). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-558X202200030007&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
18. Diario Oficial El Peruano. Minsa advierte que 9 de cada 10 escolares presentan caries dentales [Internet]. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://elperuano.pe/noticia/141696-minsa-advierte-que-9-de-cada-10-escolares-presentan-caries-dentales>.

19. Barbieri F, Montanari C, Šimat V, Skroza D, Čagalj M, Smole-Možina S, et al. Effects of *Rubus fruticosus* and *Juniperus oxycedrus* derivatives on culturability and viability of *Listeria monocytogenes*. Sci Rep [Internet]. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024];12(1):13158. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-17719-7>.
20. Acosta J. Efecto antibacteriano del extracto etanólico al 10%, 20% y 30% de dos productos naturales, frente a cepas de *Streptococcus mutans*. estudio *in vitro* [Internet] [Licenciatura]. Universidad Central del Ecuador. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/24931/1/UCE-FOD-ACOSTA%20JOHANA.pdf>.
21. Shaikh S, Kumar S. Beneficial effects of specific natural substances on oral health. Saudi Med J. 2017 [citado el 10 de octubre de 2024] ;38(12):1181–9. Disponible en: <https://journal-innovations.com/assets/uploads/doc/d7736-1517-1531.23944.pdf>.
22. Ortega-Cuadros M, Tofiño-Rivera AP, Merini LJ, Martínez-Pabón MC, Ortega-Cuadros M, Tofiño-Rivera AP, et al. Antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on *Streptococcus mutans* biofilm and its cytotoxic effects. Rev Biol Trop. diciembre de 2018;66(4):1519–29. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442018000401519.
23. Santos Alvarez JE. Efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina [Internet] [Licenciatura]. [Lambayeque]: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2019 [citado el 23 de abril de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/5504/BC-TES-%204089%20SANTOS%20ALVAREZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.
24. Guevara R. Efecto inhibitorio in vitro del extracto natural de *Rubus glaucus* “mora andina” sobre *Staphylococcus aureus* aislada del Hospital Regional Docente Las Mercedes [Internet] [Licenciatura]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2018 [citado el 10 de

- octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/2940>.
25. Kong K, Schneper L, Mathee K. Beta-lactam antibiotics: From antibiosis to resistance and bacteriology [Internet]. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 2010 [citado el 10 de octubre de 2024]; 118(1): 1–36. <https://pure.psu.edu/en/publications/beta-lactam-antibiotics-from-antibiosis-to-resistance-and-bacteri>.
 26. Munita J, Arias C. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2016 [citado el 10 de octubre de 2024];4(2):10. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>.
 27. Blair J, Webber M, Baylay A, Ogbolu D, Piddock L. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. enero de 2015 [citado el 10 de octubre de 2024];13(1):42–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>.
 28. World Health Organization. 2019 antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline [Internet]. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240000193>.
 29. Cowan M. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999 [citado el 10 de octubre de 2024];12(4):564–82. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10515903/>.
 30. Cushnie T, Lamb A. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*. 2011[citado el 10 de octubre de 2024]; 38(2): 99–107. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514796/>.
 31. Rahman M, Sheik M, Sharmin S, Islam M, Rahman M, Rahman M, et al. Antibacterial activity of leaves juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. (2n = 28) against some human pathogenic bacteria. *Chiang Mai Univ J Nat Sci* [Internet]. 2009 [citado el 10 de octubre de 2024]; 8: 219–27. Disponible en: <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/CMUJ/10891594.pdf>.
 32. Alzohairy M. Therapeutics role of *Azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM*

- [Internet]. 2016 [citado el 10 de octubre de 2024]; 2016: 7382506. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2016/7382506/>.
33. Williamson E, Barnes J, Prieto Garcia J, Heinrich M, Gibbons S. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* [Internet]. 4a ed. Elsevier Health Sciences; 2023. [citado el 10 de octubre de 2024]; 282 p. <https://books.google.com.ec/books?id=NZXQAQAAQBAJ&printsec=frontcover>.
 34. Edmondson R, Broglie J, Adcock A, Yang L. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *ASSAY Drug Dev Technol.* 2014 [citado el 10 de octubre de 2024]; 12(4): 207–18. <https://www.semanticscholar.org/paper/Three-dimensional-cell-culture-systems-and-their-in-Edmondson-Broglye/b776327dc8212170baef1e24100eaa4c60246ddb>.
 35. Van NGA. Drugs, Devices, and the FDA: Part 1. *JACC Basic Transl Sci.* abril de 2016;1(3):170–9. 10.1016/j.jacbts.2016.03.002.
 36. Kamb A. What's wrong with our cancer models? *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. febrero de 2005 [citado el 10 de octubre de 2024]; 4(2): 161–5. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrd1635>.
 37. Castro E. Bioestadística aplicada en investigación clínica: conceptos básicos. *Rev Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 2019 [citado el 10 de octubre de 2024]; 30(1): 50–65. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864019300082>.
 38. Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends Cell Biol* [Internet]. 2011 [citado el 10 de octubre de 2024]; 21(12): 745–54. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0962892411001967>.
 39. Banerjee A, Frencken JE, Schwendicke F, Innes NPT. Contemporary operative caries management: consensus recommendations on minimally invasive caries removal. *Br Dent J.* agosto de 2017;223(3):215–22.
 40. Pitts N, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Entendiendo la caries dental como una enfermedad no comunicable [Internet]. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible

en: <https://www.intramed.net/100065/Entendiendo-la-caries-dental-como-una-enfermedad-no-comunicable>.

41. Machado-Tan T, Reyes-Labarcena B. *Streptococcus mutans*, principal cariogénico de la cavidad bucal [Internet]. Progaleno. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]; 4(3): 209–21. <https://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233>.
42. Thalia C. Bioquímica de la caries dental. En: cibamanz2021 [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/view/360>.
43. Elías J. Manejo no operatorio de la lesión inicial de la caries dental: una revisión de literatura [Internet]. Universidad Iberoamericana (UNIBE); 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unibe.edu.do/jspui/handle/123456789/846>.
44. Barahona J. Evaluación del impacto del programa CERO en la incidencia, prevalencia y severidad de caries de niños y niñas mayores de 6 meses y menores de 7 años correspondientes al Servicio de Salud Metropolitano Occidente [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/188143>.
45. Freshney R, Capes-Davis A. Freshney's Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 8a ed. Wiley-Blackwell; 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. 832. <https://www.wiley.com/en-us/Freshney%27s+Culture+of+Animal+Cells%3A+A+Manual+of+Basic+Technique+and+Specialized+Applications%2C+8th+Edition-p-00005078>.
46. Vega C. Estudio de la composición del hongo *Lentinula edodes* usando herramientas ómicas y su potencial en la producción de un alimento funcional [Internet]. Universidad Nacional de Colombia. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/81964>.
47. Caycedo L, Ramírez L, Suárez D. Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. Nova [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]; 19(36): 49-94.

Disponible en: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/1770>.

48. Carmona G. Formación en cultivos de células animales en la Unidad de Toxicidad in vitro de la Universidad CES [Internet]. el 22 de noviembre de 2022 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/7173>.
49. Tocto L, Tullume W. Estudio descriptivo de prácticas de asepsia y antisepsia en pacientes quemados en el Hospital Regional Docente Las Mercedes [Internet]. 2024 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/12720>.
50. Sanz L. Estudio de factores de virulencia en *Escherichia coli* [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/48444>.
51. Escudero F. El uso de Biopesticidas en la Agricultura moderna [Internet]. 2023 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <http://crea.ujaen.es/jspui/handle/10953.1/20093>.
52. Piña J. Búsqueda de bacterias productoras de antibióticos como estrategia para generar futuras estrategias de control de microorganismos patógenos de humanos [Internet]. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/3941>.
53. Reinoso E, Dieser S, Moliva M. Manual de herramientas moleculares. 1a ed. Argentina: UniRío; 2022 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <http://www.unirioeditora.com.ar/producto/manual-herramientas-moleculares/>.
54. Valle S. Resistencia de los microorganismos a los antibióticos [Internet] [Licenciatura]. Universidad de Jaén; 2023 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: https://crea.ujaen.es/bitstream/10953.1/23109/1/VALLE_CRESPO_SUSANA_TFG.pdf.
55. Abdollahzadeh E, Nematollahi A, Hosseini H. Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: A review [Internet]. Trends Food Sci Technol. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]; 110: 291–303. https://primo.hsl.ucdenver.edu/primo-explore/fulldisplay?docid=TN_cdi_proquest_

journals_2517416592&context=PC&vid=01UCOHS&lang=en_US&search_scope=defau
lt_scope&adaptor=primo_central_multiple_fe&query=sub%2Cexact%2CChemistry%2C
%20Pharmaceutical&facet=citedby%2Cexact%2Ccdi_FETCH-LOGICAL-c464t-
588d0143c74667e02800c3ef1ff90775cbd9e31c075b2b86c32d36e525029ae23&offset=
0.

56. Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz AN. Overview of changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 31st edition. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024];59(12):10. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00213-21>.
57. Boucourt E, Izquierdo A, Bernal E, Acosta M. Vigilancia epidemiológica y prevención de las enfermedades infecciosas emergentes y re-emergentes [Internet]. *J Sci Res Rev Cienc E Investig*. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024];7(Extra 1):31. <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/2729/2354>.
58. Babu N, Mutters N, Marasca G, Conti M, Sifakis F, Vuong C, et al. Mandatory surveillance and outbreaks reporting of the WHO priority pathogens for research & discovery of new antibiotics in European countries [Internet]. *Clin Microbiol Infect*. 2020 [citado el 10 de octubre de 2024]; 26(7): 943.e1-943.e6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31812771/>.
59. Erraqui O. Evolución de la resistencia bacteriana a diferentes antibióticos [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/63172>.
60. RECIMUNDO. Abordaje del uso inapropiado de antibióticos en la práctica clínica: estrategias y recomendaciones actuales [Internet]. RECIMUNDO. [citado el 10 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/1982>.
61. Deroncele A. Competencia epistémica: rutas para investigar [Internet]. *Rev. Univ Soc*. 2022 [citado el 10 de octubre de 2024];14(1):102–18. <https://www.studocu.com/pe/>

document/universidad-tecnologica-del-peru/investigacion-academica/deroncele-competencia-epistemica-rutas-para-investigar-2022/43403956.

62. Galarza C. Editorial: Diseños de investigación experimental. *CienciAmérica Rev Divulg Científica Univ Tecnológica Indoamérica* [Internet]. 2021 [citado el 10 de octubre de 2022];10(1):1–7. Disponible en: <https://www.utn.edu.ec/publicaciones/index.php/ciencia/article/view/929>.
63. García J, Reding Bernal A, López Alvarenga J. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica [Internet]. *Investig En Educ Médica*. 2013 [citado el 10 de octubre de 2022]; 2:217–24. <https://www.redalyc.org/pdf/3497/349733226007.pdf>.
64. Missouri Botanical Garden [Internet]. [citado el 10 de octubre de 2022]. Tropicos - Home. Disponible en: <https://tropicos.org/home>.
65. Silva Adame MB. Extracción de polifenoles de plantas silvestres de zarzamora (*Rubus* spp.) para aplicaciones antimicrobianas [Internet] [Maestría]. [Michoacán]: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; 2014 [citado el 21 de diciembre de 2022]. Disponible en: http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/2052/FAPJ-M-2014-1516.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
66. Grabek-Lejko D, Wojtowicz K. Comparison of Antibacterial and Antioxidant Properties of Fruits and Leaves of Blackberry (*Rubus Plicatus*) and Raspberry (*Rubus Idaeus*). 2014;514–8. Disponible en: <https://www.proquest.com/docview/1648082499?source-type=Scholarly%20Journals>.

ANEXOS

Anexo 1: Disposición de la batería experimental.

Tratamientos	Réplicas	Especificaciones
T ₁	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>R. fruticosus</i> (zarzamora) al 100%.
T ₂	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>R. fruticosus</i> (zarzamora) al 75%.
T ₃	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>R. fruticosus</i> (zarzamora) al 50%.
T ₄	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>R. fruticosus</i> (zarzamora) al 25%.
T ₅	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>M. rhopaloides</i> (lanche) al 100%.
T ₆	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>M. rhopaloides</i> (lanche) al 75%.
T ₇	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>M. rhopaloides</i> (lanche) al 50%.
T ₈	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en extracto acuoso de <i>M. rhopaloides</i> (lanche) al 25%.
Control	R ₁ , R ₂ , ..., R ₂₀	Cultivo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 con discos embebidos en gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Anexo 2: Evidencia de permiso de laboratorio.

Solicito laboratorio y docente para supervisión de ejecución de tesis Recibidos: x   



MIRTO ALAIN VILLAVICENCIO MORALES <vmoralesalain@crece.uss.edu.pe>
para direccion@uss.edu.pe

18 oct 2022, 22:12   

Dr. **Orlando** Pérez Delgado.
Director de Investigación

Permitame saludarle y presentarnos; somos los alumnos Alain Villavicencio Morales con código 2201801583 y Tatiana Choquehuanca Flores con código 2161801846, estudiantes del IX ciclo del programa de Estomatología. Actualmente nuestro proyecto de investigación que lleva por título "Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio in vitro", ha sido aprobado y en esta segunda etapa nos corresponde ejecutarlo por lo que solicitamos un laboratorio y un docente que nos supervise en el proceso experimental, el mismo que estaría durando aproximadamente 2 semanas, y si fuera posible en caso hubiera cepa de la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175 también. Como fechas tentativas de inicio del experimento sería el martes 1 de noviembre de preferencia por la tarde, pero si no es posible puede ser por la mañana.
Sin otro particular y esperando sea posible acceder a nuestra solicitud, nos despedimos deseándole éxitos en todas sus actividades.



Dirección de Investigación <direccion@uss.edu.pe>
para mí

25 oct 2022, 16:30   

Estimado Mirto Alain

Visto su plan de trabajo se ha procedido a la coordinación y me complace informarte que ya pueden hacer uso del laboratorio de investigación. Para ello es necesario que cumplan con las normas de bioseguridad y completen los materiales que el laboratorio no puede proporcionar.

Cordialmente,

Dr. Orlando Pérez-Delgado | Director
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Km5 carretera a Pimentel (Chiclayo)
T. 074-481610 - Anexo 6273
direccion@uss.edu.pe



Transforma tu mundo

Anexo 3: Validación de la ficha de recolección de datos.

Ficha de recolección de datos del PI: "Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*".

		Repeticiones (mm)							Promedio
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
<i>Rubus fruticosus</i> (Zarzamora)	100%								
	50%								
	25%								
	12.5%								
<i>Myrcianthes rhopaloides</i> (Lanche)	100%								
	50%								
	25%								
	12.5%								
Clorhexidina (0.12%)									

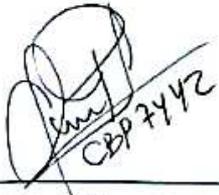
- R₁, R₂, R₃...: son repeticiones

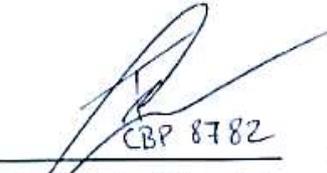
Tesistas:

- Alain Villavicencio Morales.
- Taliana Choquehuanca Flores.

Asesor:

- Julio Romero Gamboa.


 CBP 7442
 Dr. Orlando Pérez Delgado


 CBP 8782
 Dr. Fernández Miñope Carlos


 Clara Luisa Henckell Sime
 C.B.P. 3599
 R.N.B.E. 0077
 Dra. Henckell Sime Clara

Anexo 4: Guía taxonómica virtual Trópicos v3.3.2 del Jardín Botánico de Misuri.

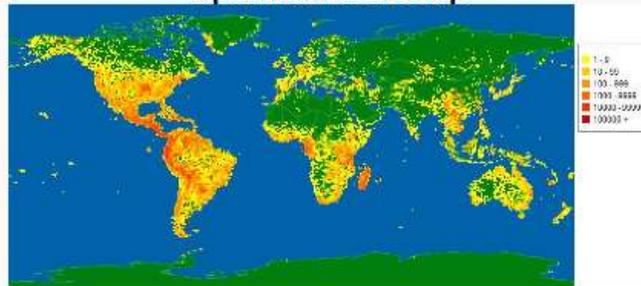
The Tropicos database links over 1.33M scientific names with over 4.87M specimens and over 685K digital images. The data include over 150K references from over 52.6K publications offered as a free service to the world's scientific community.

Search Type Scientific Name ▾

Quick Name Search

Please enter a scientific name to search.

Specimen Heat Map



Specimen Country Map



Valenzuela
Gamarra - 9233

Paeonia L.

Ehretia
acuminata R. Br.

Mercer - FM267

Arrabidaea
florida DC.

Viola stipularis
Sw.

Anexo 5: Constancia de calibración.

CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN

Yo, Dr. Orlando Pérez Delgado, con número de colegiatura CBP 7442, doy fe y certeza de haber realizado la capacitación a los alumnos Mirto Alain Villavicencio Morales y Tatiana Whitney Choquehuanca Flores, calibrándonos con un índice de confiabilidad muy bueno, lo cual servirá para la recolección de datos mediante el uso de la escala de Duraffourd y Lapraz, empleado para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio *in vitro* de una sustancia frente a un agente bacteriano, esto midiendo el diámetro de inhibición formado alrededor del disco de sensibilidad. Esta calibración fue realizada para que los alumnos en mención ejecuten su investigación que lleva como título "Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Rubus fruticosus* y *Myrcianthes rhopaloides* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio *in vitro*".

Chiclayo, 10 de noviembre del 2022



Dr. Orlando Pérez Delgado

CBP 7442

Anexo 6: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($n \leq 50$) para las muestras obtenidas.

	Estadístico	gl	Sig.
Zarzamora 100%	.	35	.
Zarzamora 75%	.	35	.
Zarzamora 50%	.	35	.
Zarzamora 25%	.	35	.
Lanche 100%	.	35	.
Lanche 75%	.	35	.
Lanche 50%	.	35	.
Lanche 25%	.	35	.
Control Positivo - Gluconato de Clorhexidina 0.12%	0,854	35	0,000

Anexo 7: Pruebas no paramétricas U de Mann Whitney, Wilcoxon y Kruskal-Wallis.

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Zarzamora 100% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.	No se puede calcular.
2	La distribución de Zarzamora 100% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.	No se puede calcular.
3	La distribución de Zarzamora 75% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.	No se puede calcular.
4	La distribución de Zarzamora 75% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.	No se puede calcular.
5	La distribución de Zarzamora 50% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.	No se puede calcular.
6	La distribución de Zarzamora 50% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.	No se puede calcular.
7	La distribución de Zarzamora 25% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.	No se puede calcular.
8	La distribución de Zarzamora 25% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.	No se puede calcular.
9	La distribución de Lanche 100% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.	No se puede calcular.

10	La distribución de Lanche 100% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	No se puede calcular.
11	La distribución de Lanche 75% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	No se puede calcular.
12	La distribución de Lanche 75% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	No se puede calcular.
13	La distribución de Lanche 50% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	No se puede calcular.
14	La distribución de Lanche 50% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	No se puede calcular.
15	La distribución de Lanche 25% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	No se puede calcular.
16	La distribución de Lanche 25% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	No se puede calcular.
17	La distribución de Control Positivo - Gluconato de Clorhexidina 0.12% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	No se puede calcular.
18	La distribución de Control Positivo - Gluconato de Clorhexidina 0.12% es la misma entre las categorías de Sensibilidad en milímetros.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	No se puede calcular.

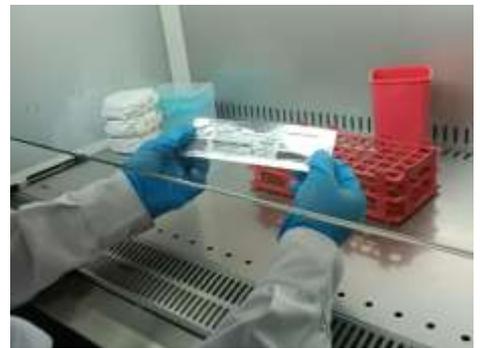
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Anexo 8: Registros fotográficos.

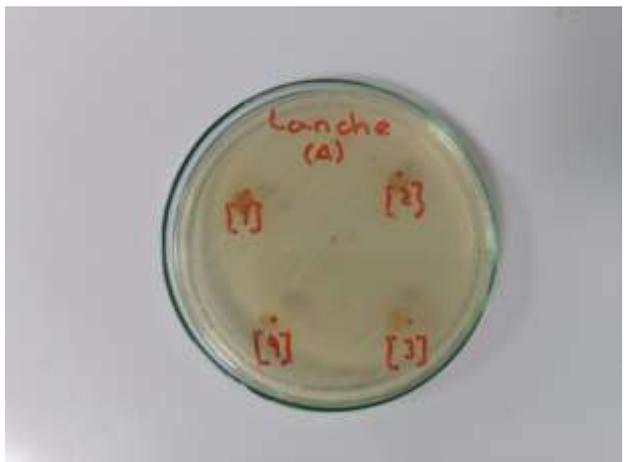












Anexo 9: Recursos materiales empleados.

Equipos	Cepa, Biomateriales y Reactivos	Materiales de Laboratorio	Otros Materiales
Espectrofotómetro	Bacteria <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Guantes de nitrilo	Campo de trabajo descartable
Incubadora	Medio de cultivo mitis salivarius o agar sacarosa + rojo fenol	Mascarilla N95 o KN95	Espátula Zhermack
Refrigeradora	Hipoclorito de sodio de uso doméstico	Algodón	EPP completo
Balanza electrónica	Jabón líquido	Placas Petri de 100x15mm	Pinza recta N°48
Autoclave	Agua destilada	Hisopos de algodón estériles	Toallas para manos descartable
Jarra de anaerobiosis	Peróxido de hidrógeno	Mechero	Cámara fotográfica semi-profesional
Agitador vortex	Alcohol etílico de 70°	Encendedor	Licuada portátil
Centrífuga	Clorhexidina al 0.12%	Asa bacteriológica	Regla milimetrada
		Discos de sensibilidad	Cinta adhesiva Masking Tape
		Cinta testigo sin plomo para Vapor 3M™	Folder manilo
		Micropipetas de: 10µl, 100µl, 1000µl	Borrador
		Matraces de Erlenmeyer de: 100ml, 250ml, 500ml	Corrector
		Pipetas graduadas de: 10ml, 15ml, 20ml	Bolígrafo
		Fascos de vidrio de 250ml, 500ml	Lápiz portaminas
		Fascos color ámbar de: 50ml, 100ml	Minas para lápiz
		Vasos de precipitado de: 250ml, 400ml, 600ml	Plumón indeleble
		Probeta de 100ml	Papel bond
		Tubos de ensayo de 10ml sin tapa	Papel crepado
		Tubos de ensayo de 20ml con tapa	Fástener
		Soporte universal	Laptop
		Pinza de madera	Papel aluminio triple B
		Papel filtro Whatman N°4	Calculadora
		Tips para micropipeta de:1000µl, 2000µl	
		Mortero y pilón	