



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
ESTOMATOLOGÍA**

**TESIS**

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
HIDROETANOLICO DE LA HOJA DE *Sambucus  
peruviana* (SAUCO) SOBRE *Streptococcus mutans atcc  
25175***

**PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO  
DENTISTA**

**Autora:**

**Bach. Herrera Saavedra, Shiary Lisbeth**

**<https://orcid.org/0000-0002-6688-0720>**

**Asesor:**

**Dra. C.D. La Serna Solari Paola Beatriz**

**<https://orcid.org/0000-0002-4073-7387>**

**Línea de investigación**

**Ciencias De La Vida Y Cuidado De La Salud Humana**

**Pimentel – Perú**

**Año 2019**

## **APROBACION DEL JURADO**

**PRESIDENTA:**

---

DRA.CD.MARISEL ROXANA VALENZUELA RAMOS

**SECRETARIO:**

---

Dr. Blgo ELMER LOPEZ LOPEZ

**VOCAL:**

---

MG.CD.RAFAEL DOUGLAS SCIPION CASTRO

## **DEDICATORIA**

A la Universidad Señor de Sipán ya que en sus aulas logre mi formación profesional y humana

A la Escuela de Estomatología y a su personal docente por su calidad educativa y profesional que guiaron mi aprendizaje

A mis padres por su apoyo y confianza durante mis estudios

Gracias

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por permitirme seguir con vida para poder realizar cada esfuerzo que he necesitado.

A mi madre por apoyarme en todo momento y ser mi gran motivo para seguir adelante.

A la Dra. La Serna Solari Paola Beatriz por su asesoría en la realización de este trabajo, dándole el respectivo peso científico que necesita.

A los Dres. Miembros del Jurado Evaluador del Proyecto de Tesis y de la Tesis por sus acertadas correcciones y oportunos consejos

A la Universidad Señor de Sipán por brindarme dichos conocimientos para este trabajo.

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de tara frente a *S. mutans* ATCC 35668. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se extrajo el extracto hidroetanólico por maceración. Para obtener el efecto antibacteriano se empleó dos métodos: método de Kirby Bauer (empleando discos de papel) y concentración mínima inhibitoria – CMI (serie de tubos con medio líquido). Utilizando 25, 50, 75 y 100% para el primer método y la concentración al 100% para el segundo método. **RESULTADOS:** se obtuvieron halos de inhibición en todas las concentraciones, sin embargo, la concentración que tuvo más efecto fue al 100%. Y la CMI del extracto de sauco fue de 0.32ug/ml. **CONCLUSION:** Al comparar las 4 concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100%, existe actividad antibacteriana in vitro del extracto Hidroetanólico de *Sambucus peruviana* “sauco”, obteniendo el mejor resultado a la concentración del 100% diferenciándose de las demás concentraciones

**Palabras claves:** Extracto hidroetanólico, CMI, *Streptococcus mutans*, Kirby Bauer.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** The objective was to determine the in vitro antibacterial effect of different concentrations of tatan ethanol extract against *S. mutans* ATCC 35668. **MATERIALS AND METHODS:** The hydroetanolic extract was extracted by maceration. Two methods were used to obtain the antibacterial effect: Kirby Bauer method (using paper discs) and minimum inhibitory concentration - MIC (series of tubes with liquid medium). Using 25, 50, 75 and 100% for the first method and 100% concentration for the second method. **RESULTS:** Inhibition halos were obtained at all concentrations, however, the concentration that had the most effect was 100%. And the MIC of elder extract was 0.32ug / ml . **CONCLUSION:** When comparing the 4 concentrations: 25%, 50%, 75% and 100%, there is in vitro antibacterial activity of the *Sambucus Peruviana* “sauco” Hydroethanol extract, obtaining the best result at the concentration of 100% differentiating from the other concentrations

**Keywords:** Hydroetanolic extract, WCC, *Streptococcus mutans*, Kirby Bauer.

## ÍNDICE:

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1 Realidad Problemática.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2 Trabajos Previos.....</b>	<b>10</b>
<b>1.3 Teorías Relacionas al Tema .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4 Formulación del Problema.....</b>	<b>26</b>
<b>1.5 Justificación e importación del estudio .....</b>	<b>26</b>
<b>1.6 Hipótesis.....</b>	<b>27</b>
<b>1.7 Objetivos.....</b>	<b>27</b>
<b>1.7.1 Objetivos General.....</b>	<b>27</b>
<b>1.7.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>27</b>
<b>II. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>27</b>
<b>2.1 Tipo y Diseño de Investigación .....</b>	<b>27</b>
<b>2.2 Población y Muestra .....</b>	<b>28</b>
<b>2.3 Variables, operalización.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....</b>	<b>30</b>
<b>2.5 Procedimientos de análisis de datos.....</b>	<b>33</b>
<b>2.6 Criterios éticos.....</b>	<b>33</b>
<b>2.7 Criterios de Rigor Científicos.....</b>	<b>33</b>
<b>III. RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Tablas y figuras .....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Discusión de resultados .....</b>	<b>38</b>
<b>IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>48</b>

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. Realidad problemática

Actualmente, la caries dental es un conjunto de fases que se da de forma como infeccioso, localizado y transmisible que se caracteriza por la destrucción del tejido duro del diente. Se considera una enfermedad crónicas y prevalentes a nivel mundial, afectando a cerca de cinco mil millones de individuos, y es expuesta durante toda su vida. *S. mutans*, microorganismo normal de la cavidad oral, es el principal agente etiológico asociado con el inicio de esta enfermedad. Diferentes estudios han reportado una relación entre el recuento de *S. mutans* en saliva, la incidencia y prevalencia de la caries, lo cual existen tratamientos odontológicos y han demostrado disminuir los niveles de este microorganismo en saliva, sin embargo, son escasas las intervenciones educativas con el mismo resultado.<sup>1</sup>

Asimismo, es importante considerar a la salud bucodental, ya que se obtiene cerca de 300 bacterias originadas por malos métodos de lavado bucal, incluso por comer alimentos que hacen de la boca un lugar para muchas enfermedades, lo cual se recomienda reducir azúcares y llevar una alimentación equilibrada, no fumar al igual que evitar consumir alcohol, cepillar los dientes al menos 3 veces al día se podrá evitar un estado fatal en la salud bucal. Existen ciertas enfermedades que son comunes a nivel mundial que son dadas por no tener cuidado adecuado, como; periodontales (las encías), llogas bucales, pérdida de dientes, caries, entre otras, que restringen a las personas en poder morder, sonreír, masticar y hablar. La organización Mundial de la Salud (OMS), establece que entre los 60 % y el 90% de los niños en edad escolar, y un 100% de los adultos tienen caries dental, lo que causa dolor y molestia. Mientras que las enfermedades periodontales graves, que pueden desembocar en la pérdida de dientes, afectan a un 15% o 20%, de los adultos de edad media entre 35 y 44 años.<sup>2</sup>

Por ello, para una determinación susceptible de *S. mutans* junto al extracto etanólico de hojas de sauco, se sumergieron los discos de papel de filtro estériles en cada una de las concentraciones de 25%, 50% y 75%, luego de haber ajustado la turbidez de la anulación del inóculo, se sumergió un hisopo de algodón estéril en la preparación, donde el hisopo rotó y se presiona firmemente por las paredes internas del tubo por encima del nivel del líquido. Esto se realizó varias veces sobre una superficie seca de una placa estéril con agar de Mueller



Hinton – Sangre se estrió toda la superficie de la placa con el inóculo. Este procedimiento se repitió dos veces más, rotando la placa aproximadamente 60° cada vez, para asegurar una distribución homogénea del inóculo, al cabo se estrió el hisopo por el borde del agar.<sup>3</sup>

Se establece que la ecología estudia las contribuciones de los organismos y su ambiente en la naturaleza y en ciclos ecológicos y biológicos que mantienen equilibrado en ambientes que pueda ocurrir. Para poder determinar procesos involucrados para las enfermedades infecciosas orales, es necesario entender que la ecología de la cavidad bucal e identificar los factores responsables del paso de una relación comensal a una patogénica en el huésped, lo cual, la consolidación y colonización de la comunidad de microorganismos bucales lleva consigo una sucesión de poblaciones, proceso que comienza con la conquista del hábitat por grupos de microorganismos pioneros y que continúa hacia la diversidad y complejidad de la comunidad microbiana. Ecológicamente, la caries dental es producto de un desequilibrio en el ecosistema oral que lleva al predominio de una flora antes considerada normal en la cavidad oral y ahora convertida en patógena. Como es conocido, la caries dental es un proceso multifactorial, post eruptivo, patológico infeccioso, localizado y transmisible que destruye los tejidos duros dentales (3). Los principales microorganismos asociados a la producción de caries son, en orden de frecuencia: a) *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (principalmente el serotipo, c) y en menor proporción *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) y *Streptococcus gordonii* y b) especies de *Lactobacillus* y *Actinomyces*.<sup>4</sup>

Por ultimo desde los estudios de Clark en 1924 hasta la actualidad diversas investigaciones han incluido al *S. mutans* con la formación de caries dental, de tal manera que hasta la fecha dichos microorganismo se considera uno de los principales factores que causan la enfermedad en el humano, donde los altos grados de infección por *S. mutans* elevan el riesgo de padecer caries, de ahí que existan innumerables estudios epidemiológicos que tienen como finalidad averiguar la distribución del grado de infección por el *S. mutans* en diferentes poblaciones. Varios medios de cultivo y técnicas se han empleado en la determinación del grado de infección por *S. mutans*.<sup>5</sup>

## 1.2. Trabajos previos

En Perú, León, J. En el año 2018 en su investigación “Efecto antibacteriano In Vitro del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* “Sauco” sobre *Streptococcus mutans* 25175”. Tuvo como objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano In vitro del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC. Concluyó que, el extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* (Sauco) presenta efecto antibacteriano “In vitro” sobre *S. mutans* ATC, así mismo, la concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC fue de 25%.<sup>3</sup>

En Perú, Saldarriaga, E. En el año 2017 en su investigación “Efecto antibacteriano In vitro del extracto Etanólico de *Myrciaria dubia* (Camu Camu) sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)”. Tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* (Camu Camu) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Concluyó que, las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* (Camucamu) si presentan efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) del *Myrciaria dubia* (camucamu) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue 25 %. Se determinó que hubo inhibición bacteriana in vitro de las cuatro concentraciones de 25%, 50% y 100% del extracto etanólico de *Myrciaria dubia* (camucamu) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), además esta inhibición es proporcional a las concentraciones utilizadas.<sup>6</sup>

En Perú, Huertas, M. En el año 2015 en su investigación “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto Metanólico de *Physalis peruviana* (capulí) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)”.

Tuvo como objetivo evaluar in vitro el efecto antibacteriano del extracto Metanólico de *Physalis peruviana* sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). Concluyó que, el extracto Metanólico de *Physalis peruviana* tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus Sanguinis* (ATCC 10556) con una media de 19.15mm y 18.56mm respectivamente. La

concentración mínima inhibitoria del extracto Metanólico de *Physalis peruviana* sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) fue de 500 µg/ml para ambos casos.<sup>7</sup>

En Perú, Medina, D. En el año 2015 en su investigación “Evaluación In vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto Metanólico de *Bixa orellana* l. (achiote) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)”. Tuvo como objetivo evaluar in vitro el efecto antibacteriano y citotóxico del extracto Metanólico de la *Bixa orellana* L. (achiote) contra las cepas de la bacteria *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). Concluyó que, el extracto Metanólico de *Bixa orellana* L. (achiote) de la semilla y hoja frente a la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) posee actividad antibacteriana, con halos de inhibición de 15.11 mm y 19.97 mm, respectivamente. Al comparar el efecto bacteriano del extracto Metanólico de *Bixa orellana* L. (achiote) de semilla y hoja, se halló que el extracto de hojas presenta mayor efecto frente a las cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto Metanólico de *Bixa orellana* L. frente a la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue de 31.25 µg/ml y de 62.5 µg/ml para semillas y hojas, respectivamente.<sup>8</sup>

En Perú, Centurión, K. En el año 2015 en su investigación “Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668” Tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Concluyó que el extracto etanólico de las vainas de C. Spinosa a las concentraciones de 5%, 10%, 20% y 30% tienen efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668; además que la concentración Mínima Inhibitoria de C. Spinosa fue del 30% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668 y; se demostró en este estudio que la C. Spinosa podría ser una opción de tratamiento natural para prevenir la caries dental.<sup>9</sup>

En el Perú, Pineda, A. & Ortiz, W. En el año 2015 en su investigación “Evaluación del efecto insecticida de los extractos vegetales de *Sambucus nigra* (Caprifoliácea) en el control de *Collaria scenica* (Hemiptera: Miridae) en condiciones de laboratorio. Tuvo como objetivo

Evaluar el efecto insecticida de los extractos vegetales de *Sambucus nigra* en el control del cuarto instar ninfal de *Collaria scenica*, en condiciones de laboratorio. Concluyó que, a partir de los resultados obtenidos con el extracto etanólico de hojas de *Sambucus nigra* a concentración de  $5 \times 10^4$  mg/L presentó un nivel moderadamente alto, ocasionando la muerte de ninfas del V estadio en *Collaria scenica* en un porcentaje promedio del 85%, lo que se pudo evidenciar el efecto insecticida sobre la chinche de los pastos; asimismo, con relación a los resultados obtenidos con el extracto acuoso de planta total de *Sambucus nigra* a concentración de  $5 \times 10^4$  mg/L presentó un nivel moderadamente alto, ocasionando la muerte de ninfas del V estadio en *Collaria scenica* en un porcentaje promedio del 71%, lo que evidencia el efecto insecticida sobre ninfas de la chinche de los pastos; en cuanto el rango de efectividad dosis respuesta, muestra la relación existente entre la concentración y la mortalidad de individuos que responden en unidades probit de este modelo estadístico con un efecto significativo y esto confirma una buena susceptibilidad de las concentraciones sobre mortalidad en las ninfas de *Collaria scenica* del extracto etanólico de hojas y acuoso de la planta total de *Sambucus nigra* y; los extractos de *Sambucus nigra* presentan una actividad insecticida interrumpiendo el ciclo de vida de *Collaria scenica*, en los estados ninfales dada las importantes reducciones en las poblaciones promedio de individuos evaluados.<sup>10</sup>

En el Perú, Jiménez, J. En el año 2013 en su investigación “Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (sauco) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Tuvo como objetivo Cuantificar los flavonoides totales del extracto fluido de hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (sauco) proveniente de la provincia de Otuzco – Departamento de La Libertad y determinar la capacidad antioxidante in vitro de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K. (sauco) proveniente de la provincia de Otuzco – Departamento de La Libertad. Concluyó que, la concentración de flavonoides totales expresados en quercetina de las hojas de *Sambucus peruviana* HB.K el cual fue de 0.27% y; se determinó la capacidad antioxidante de los flavonoides totales del extracto fluido de *Sambucus peruviana* H.B.K el cual arrojó un IC50 de 7 $\mu$ g.<sup>11</sup>

### **1.3. Teorías relacionadas al tema**

#### **1.3.1. Caries dental**

##### **1.3.1.1. Poder patógeno y virulencia de *S. mutans***

###### **a. Caries dental: patología.**

Define que es una enfermedad muy común y a la vez raramente peligrosa, pero se da de formar muy frecuente que está presente en casi todas las bocas y que representa un considerable costo socioeconómico. Se considera como una enfermedad infecciosa que causa la destrucción localizada de los tejidos dentales duros debido a los ácidos producidos por las bacterias que existen adheridas a los dientes. Este efecto puede afectar al esmalte, la dentina e incluso la pulpa. Clínicamente se caracteriza por un cambio de color, pérdida de translucidez y descalcificación de los tejidos afectados. A medida que avanza el proceso, se forman cavidad y destruyen los tejidos.<sup>12</sup>

Se establece que es una enfermedad multifactorial, ya que existen varios factores que intervienen en las caries dentales. Algunos de estos factores son: afecciones hereditarias, dieta, la salud general del individuo y defectos de calcificación de los dientes, dieta. Este último es uno de los factores que más influencia tienen sobre la aparición de la caries, pues ejerce una acción decisiva tanto en el proceso de calcificación del diente, como en la posible desmineralización del mismo.<sup>12</sup>

La caries dental es el problema de salud bucodental en la mayoría de los países. Es un proceso o enfermedad dinámica crónica que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos y por el desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, lo que ocasiona una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de los tejidos duros. Se considera una enfermedad infecciosa de causas múltiples, tanto biológicas, sociales, económicas, culturales y ambientales. Su formación y desarrollo están condicionados por el modo y estilo de vida de las personas.

Esta enfermedad afecta tanto la corona como la raíz del diente y la ausencia de atención causan la pérdida del órgano dentario. Constituye, además, un foco de infección para el organismo y para las personas que se vinculen con aquellas que están infectadas.

Por otra parte, entre los factores de riesgo de la caries dental se encuentran la mala higiene bucal, el apiñamiento dentario, los factores sociales (bajos niveles de instrucción y de conocimientos en educación para la salud) y la experiencia anterior de caries.

En investigaciones realizadas en España, México y Argentina, se informa que la caries dental afecta a más de 95 % de la población, con una prevalencia de hasta 98,0 % en la población general. Según datos de la Organización Mundial de la salud (OMS), unas 5 000 personas padecen caries dental, lo que equivale aproximadamente a 80 % de la población mundial, de manera que si se tiene en cuenta la cantidad de personas con estos padecimientos, se pudiera hablar de la existencia de una pandemia de enfermedades dentales en el mundo y en América Latina.<sup>6</sup> Al respecto se plantea que a pesar de los conocimientos sobre las causas de este trastorno tan común, continúa teniendo elevada prevalencia en la mayoría de los países europeos y asiáticos.

Investigaciones realizadas en escolares españoles y chilenos de 6 a 12 años revelaron que entre 75- 84 %, respectivamente padecían de caries dental, lo cual afecta tanto la dentición temporal como la permanente; asimismo se observó que al incrementar la edad también aumentó la prevalencia de esta enfermedad, principalmente entre 11 y 12 años, con una pérdida prematura de las piezas dentarias a los 7 años de edad.<sup>13</sup>

### **Frecuencia del cepillado**

Cerca del 93,5% de los españoles y entre el 93,4- 95,9% de los extranjeros afirman cepillarse los dientes al menos 1 vez al día. Existe una mayor tendencia de cepillado en extranjeros de 12 años comparativamente con sus homónimos españoles ( $p$  es mayor a 0,05), pero estas diferencias se diluyen en el grupo de 15 años. En definitiva, no parece que los patrones de cepillado sean claramente distintos en ambas poblaciones.<sup>14</sup>

### **b. Papel de *S. mutans* en la caries dental**

Actualmente existen considerables evidencias que implican a *S. mutans* como un agente infeccioso más importante en la iniciación de la caries dental, lo cual para llegar a esta afirmación que parece en sí muy sencilla, son demasiados las investigaciones que se han tenido que realizar para este trabajo. Nos basamos en amplios estudios efectuados en animales experimentales, mientras que en el hombre solo se han podido realizar, como estudios epidemiológicos.<sup>12</sup>

La primera experiencia trascendental fue la de Orlando y col. en 1954, donde demostró que las ratas libres de bacterias no desarrollan caries siendo alimentadas con dietas que producían lesiones, se han realizado muchos trabajos realizados con diferentes animales que provocan caries dental utilizando distintas cepas de *S. mutans*, Pudiendo observar que ciertos niveles de *S. mutans* están correlacionados con caries se pudo demostrar que este microorganismo generaba casi todos los casos de caries en superficies lisas y en fisuras del diente del animal tratado. Otro factor importante que fue aclarado ha sido la influencia de la dieta en las lesiones de caries, ya que ésta afecta al potencial patógeno de los microorganismos, demostrándose que la sacarosa era la azúcar más cariogénica.<sup>12</sup>

Por ello la relación de *S. mutans* con la caries en el hombre tiene únicamente una base epidemiológica. En 1974, Gibbons y col analizan la colonización de las superficies proximales en los molares de niños entre 9 y 13 años de edad, observando que el número de superficies infectadas con *S. mutans* tienen relación con la experiencia de caries de esa población.<sup>12</sup>

### **c. Factores de virulencia.**

La conexión de *S. mutans* a la superficie del diente tiene dos fases: la superficie del diente y una interacción inicial reversible entre el microorganismo, que es normalmente precedida de la formación de una película de origen salivar, debiendo ser dicha interacción suficientemente firme como para resistir las fuerzas de flujo salivar

y los movimientos musculares que se producen en el hábitat oral; y otra fase irreversible que depende fundamentalmente del glucógeno insoluble, que se sintetiza a partir de la sacarosa gracias a la acción enzimática de la glicosiltransferasa.<sup>12</sup>

Asimismo, según Fredman y Tanzer recluyeron mutantes de *S. mutans* que perdían la capacidad de adherirse a las superficies de alambre, aunque producían cantidades mayores de glucanos extracelulares solubles; estas cepas sintetizaban menores cantidades de G Tasa extracelular y su adherencia a superficies lisas de los dientes, así como la capacidad de producir caries en estas superficies, estaba reduciendo cuando se inocularon en ratas gnotobióticas. Sin embargo, estos mutantes si producían caries en los surcos, aunque con menor intensidad. Estos resultados indicaron que la adherencia producida por la síntesis de glucanos insolubles a partir de la sacarosa entre la célula bacteriana y una superficie era un factor importante en la patogénesis de la caries dental.<sup>12</sup>

#### **d. Streptococcus mutans y prevención de la caries.**

Las caries son una infección, sin embargo, el enfoque que se le ha dado ha variado a lo largo del tiempo. Para Miller, autor de la teoría quimio parasitaria, la placa dental es definida como una estructura patógena no diferenciándose de un individuo a otro, lo cual nos lleva a pensar que el único control probable de la enfermedad estaría en la eliminación mecánica.<sup>12</sup>

Asimismo, la mayoría de las lesiones son debidas a especies bacterianas específicas y recibe más apoyo y credibilidad la hipótesis sobre la placa específica. De acuerdo con dicha hipótesis. Esto sugiere la implantación y desarrollo de técnicas preventivas, que en el caso de las lesiones de caries apuntan a *S. mutans* por ser el microorganismo con mayor poder patógeno.<sup>12</sup>

Por ello en el amplio campo de la prevención, *S. mutans* está implicado en dos sentidos: uno de ellos consiste en los métodos utilizados en la actualidad para prevenir la colonización de las superficies dentales por *S. mutans* y el otro consiste en la utilidad de dicho microorganismo en los test de control de la actividad de caries. Se refiere a agentes antimicrobianos tales como los antibióticos, antisépticos, enzimas y al estado actual de una posible vacuna contra la caries.<sup>9</sup>



Finalmente existe una serie de agentes antimicrobianos que son utilizados actualmente para la prevención de la colonización de las superficies dentarias por *S. mutans*. Dentro de estos agentes citamos la clorhexidina, antibióticos, yodo, enzimas y agentes inespecíficos como los fluoruros.<sup>12</sup>

### **1.3.1.2. Producción de ácido**

La vía que utiliza *S. mutans* para el metabolismo de los azúcares es la glucolítica, que se considera como fermentadores homolácticos por que se convierten más del 90% del carbohidrato en ácido láctico; esto ocurre principalmente en presencia de un exceso de glucosa, mientras que cuando la fuente de glucosa es limitada produce cantidades significativas de ácido acético y fórmico.<sup>12</sup>

La primordial fuente de energía durante el crecimiento de *S. mutans* es la sacarosa, y sólo una pequeña cantidad de ella es desviada hacia la síntesis de polisacáridos extracelulares, y en menor grado intracelulares. Lo cual, bajas concentraciones de sacarosa este microorganismo se puede utilizar dichos polisacáridos metabolizándolos hasta elaborar ácido láctico siendo éste un mecanismo que sostiene la producción de ácido aún en períodos de escasez de azúcares, lo que incrementa el potencial cariogénico de dicha bacteria. Si se compara la disminución de producida por distintas bacterias cuando crecen en un determinado medio, las colonias con el pH terminal más bajo son las de *S. mutans*.

El microorganismo que se utiliza para la sacarosa a velocidad significativamente mayor que otras bacterias tales como *S. sanguis*, *S. mitis*, o *A. viscosus* y esto parece ser debido a que tiene dos mecanismos de transporte, operando uno de ellos en requisitos normales y otro en casos de cantidades elevadas de sacarosa y pH más bajo.<sup>1</sup>

### **1.3.1.3. Subespecies de *Streptococcus mutans***

Según las investigaciones realizadas por algunos autores, las cinco subespecies de *S. mutans* son.<sup>12</sup>

1. Subespecie *mutans*, se corresponde al grupo genético 1, reacciona con los antisueros de los serotipos “c”, “e”, y “f”, siendo la composición de la base DNA guanina + citosina 36%-38%.<sup>12</sup>

2. Subespecie *rattus*, grupo genético II, reacciona con antisuero del serotipo “b”; composición del DNA (G+C) 42%-44%.<sup>12</sup>
3. Subespecie *sobrinus*, grupo genético III, reacciona con antisueros de los serotipos “d”, “g”, y “h”; composición DNA (G+C) 44 %-46%.<sup>12</sup>
4. Subespecie *cricetus*, grupo genético IV, reacciona con antisuero del serotipo “a”; composición DNA (G+C) 42%-44%.<sup>12</sup>
5. Subespecie *ferus*, grupo genético y, reacciona con antisuero del serotipo “a”; composición DNA (G+C) 43%-45%. Es el único que no se ha podido aislar en el hombre.<sup>12</sup>

### **1.3.2. *Sambucus peruviana* (Sauco)**

#### **1.3.2.1. Información de la Planta:**

Para conocer de *Sambucus peruviana* (Sauco), lo estudiaremos con los siguientes detalles:<sup>15</sup>

Nombre común: saúco

Nombre científico: *Sambucus nigra*

Familia: Caprifoliáceas

Sinonimia: sambucus

Nombres populares: IxilB’ajmam. Inglés Eldelberry. Gallego sabugueiro.

En otros idiomas desconocidos: Bajman, Sacatsun, Tzoloj, Tzolokquen.

Partes que se usan: hojas, flores corteza y fruto.

#### **1.3.2.2. Origen del saúco**

Se observa el saúco en las orillas de calles en cualquier parte del país de Guatemala especialmente en climas templado o frío, pero no se sabe cuál es su origen según Restrepo, Mérida, Quintero, Arias, citados por: (Mejía) menciona el origen de esta planta que es de “Europa, Asia Menor, Siberia, norte de África” por la probación que tuvo se menciona; (Mejía) que los españoles lo trajeron a América después la colonización aproximadamente

en el siglo XVI y se explica que a partir de ahí se propagó su cultivo a toda Centro América. Nativo de México y Centro América, ampliamente cultivado en varias partes de Sur de América, y Caribe, hasta 3,000 metros sobre el nivel del mar. En el país de Guatemala, se cultiva como cerco vivo en los linderos en todas las altitudes.<sup>15</sup>

### **1.3.2.3. Derivación del Nombre:**

Existen dos definiciones sobre el origen del nombre de la planta. Por lo que se selecciona la primera, se cree que de ella se deriva el nombre de la planta que expresa. El saúco procede del griego "Sambuké", que significa flauta, la razón es que antiguamente se vaciaba el interior de las ramas para que quedase un tubo hueco con el que se hacían las flautas. Existe otro punto de vista sobre el nombre del saúco el cual se respeta pero que no se comparte la que manifiesta. Se deriva del nombre del departamento de Sololá ubicada al suroccidente de Guatemala; en tiempos antiguos se le conoce como Tzlojja que significa agua de saúco. Este punto de vista no se le da mucha fe, a razón de que difiere con la primera definición que se cree de esta se deriva el nombre del saúco. En el idioma Ixil, del país de Guatemala saúco se traduce como Bajmam, y en otros idiomas desconocidos se define como sabuco, Bajman, Sacatsun.<sup>15</sup>

### **1.3.2.4. Descripción Botánica**

Esta planta es un recurso de la naturaleza de ella podemos beneficiarnos y aprovecharla como medicina o como alimento usando las flores, hojas, frutos, tallo, raíz. Es un arbusto de altura aproximadamente 3 a 5 metros. El tallo es de color gris y puede ser bastante grueso. Las hojas son de color verde claro no muy grande y se encuentran una frente la otra. Las flores son pequeñas de color crema, tienen un olor suave y agradable, se encuentran agrupadas formando racimos en las puntas de las ramas. Los frutos son de color negro o morado redondo. Cuando se muere la planta se va pudriendo poco a poco, su medula es blanca y suave. Ya que es resistente a enfermedades, está libre de plagas su fruto es bastante rústico. Comestibles solamente a cocción. Un dato muy importante sobre la edad de la vida de la planta es que puede vivir desde los 80 años. Los saúcos suelen vivir entre 80 a 100 años.<sup>15</sup>

#### **1.3.2.5. Hábitat**

El ambiente donde habita esta planta es variado, En diferentes partes del mundo en Europa; Asia, América y Caribe, hasta una latitud de 3,000 metros sobre el nivel del mar. En nuestro país de Guatemala se produce en el suroccidente especialmente en los departamentos de: Sololá, Quiche, Huehuetenango, Quetzaltenango, San Marcos porque el clima es templado y frío.<sup>15</sup>

#### **1.3.2.6. Formas de cultivo**

La forma de propagarlo es por medio de estacas que sean semi leñosas y es en cualquier época del año, su crecimiento es rápido en invierno aproximadamente en los meses de mayo a diciembre, cuando el suelo está fresco lista para la siembra. Aunque abunda en los linderos de las 14 propiedades particulares no se ha observado una montaña de saúcos ni en medio de los terrenos cultivables los dejan crecer y se siembra en otoño o primavera, también se puede reproducir por esquejes.<sup>15</sup>

#### **1.3.2.7. Uso Medicinal**

Al cocer sus cogollos se prepara con ellos una ensalada comestible entonces sus efectos es un purgante que provoca vómitos también provoca evacuación a la persona y cuando lo hace, lo hace de manera moderada, es una planta alimenticia y no solamente medicinal. Las hojas verdes hervidas son galactagogas hace bajar la leche a la madre cuando no la produce; se le frota en la espalda y en los pechos en forma de maceración en el temascal para producir la leche materna.<sup>15</sup>

#### **1.3.2.8. Propiedades medicinales**

##### **a. Las flores del saúco:**

Las flores de saúco se usan para bajar la fiebre, disminuir la inflamación y aliviar la irritación y también por sus efectos diuréticos. Se prepara en infusiones y beberlas como té, hacen sudar sirven para eliminar las toxinas del cuerpo, diuréticas porque

hacen orinar en gran cantidad, astringentes porque hacen encoger los tejidos orgánicos, antiinflamatorias porque desinflan heridas del cuerpo, expectorantes porque sirven como jarabes.<sup>15</sup>

**b. Los frutos del saúco:**

Los frutos y las flores de saúco son comestibles. Los primeros se pueden preparar en zumos, mermeladas, salsas, sopas, jarabes, vinos, licores, etc. (uso interno). Es diurético (que hace orinar gran cantidad de agua en el cuerpo), diaforético, a dosis medias es laxante y, en dosis mayores, purgantes. Tópicamente se usa de forma popular para el tratamiento de neuralgias y dolores reumáticos.<sup>15</sup>

**c. La corteza del saúco:**

Tanto la corteza del tronco del saúco como las propias bayas poseen compuestos que tienen propiedades laxantes significa que evacúa, que son útiles para combatir el estreñimiento. Sus propiedades antiinflamatorias también son muy útiles para el tratamiento de enfermedades de las encías como la gingivitis y hasta las inflamaciones de garganta puede disminuirse haciendo gárgaras o enjuagues. La corteza. Posee efectos diuréticos para ayudar en las oligurias, además de servir para prevenir edemas (acumulación de líquidos). Se recomienda su consumo en casos de gota, retención de líquidos, inflamación en vías urinarias, acumulación de líquidos edematosos.<sup>15</sup>

**d. Las hojas del saúco**

A las hojas, se le atribuye propiedades de galactagoga (que hace bajar la leche de las madres), laxante (como purgante que evacua) hay quien recomienda los 16 cigarrillos hechos con hojas secas de saúco para dejar de fumar.<sup>15</sup>

**1.3.2.9. Enfermedades que alivia el saúco:**

La flor del saúco está indicada para aliviar las afecciones respiratorias: resfrío, gripe, tos, catarro, destapa la nariz, baja la fiebre. Gota. Reumatismo. Ácido úrico. Obesidad.<sup>15</sup>

**a. Resfriado:**

Enfermedad que afecta principalmente al aparato respiratorio causado por el virus llamado rinovirus.

**b. Gripe:**

La gripe es un trastorno ocasionado por virus. Se localiza en los conductos respiratorios. Síntoma que provoca irritación e inflamación en la mucosa, calambres musculares que se adapta en los conductos respiratorios, goteo de agua la nariz. Hervir 3-5 minutos una cucharada de flores en una taza de agua, enfriar, colar y tomar una taza endulzando con miel después de cada comida.

**c. Catarro, Tos:**

El catarro es la principal causa de la inflamación de las mucosas nasales y del excesivo desprendimiento de la mucosidad. Síntomas del catarro, es provoca que los ojos sean llorosos, acompañado con mucho moco nasal, mucho estornudo y congestionamiento nasal.

**d. Gota:**

Es una enfermedad que causa dolor en las articulaciones por presencia de cristales de ácido úrico afectando principalmente (95%) en los hombres” se presenta más en los dedos de los pies manos y la columna vertebral.

**e. Reumatismo:**

Se refiere al reumatismo como: Distintos procesos inflamatorios de las articulaciones y de los elementos constituyentes de éstas, así como de los músculos y de los huesos, que se presentan con dolor, limitación del funcionamiento normal e incluso deformación de las estructuras de una o varias partes del sistema musculo esquelético. Existen dos tipos de reumatismo: el articular y el no articular. El reumatismo articular se localiza dentro de la propia articulación, afectando el cartílago o la membrana

sinovial. Si el reumatismo es del tipo no articular, está causado por la inflamación de las estructuras peri articulares, como tendones y músculos. Para este tipo de enfermedad se recomienda usar las hojas del saúco porque puede aliviar las dolencias del cuerpo aplicarlas en forma de cataplasma primero hervirlas y aplicarlas en la parte afectada del organismo de preferencia en la noche en el temascal con fuego y abrigarse mucho después del tratamiento y no tocar mucha agua fría.

**f. Ácido úrico:**

Elimina por la orina el ácido úrico de la sangre; si este se está acumulando, se deposita en las articulaciones produciendo inflamación y dolor, enfermedad conocida como artritis gotosa. Hervir 15-20 minutos 2-3 cucharadas de la segunda corteza en 3 tazas de agua. Dejar enfriar, colar y tomar una taza en ayunas y otra después de cada comida

**g. Obesidad:**

Esta es una enfermedad que afecta a muchas personas por su condición física por el volumen que tiene el cuerpo por comer comidas grasosas. Es la acumulación de grasa, mal funcionamiento glandular, retención de líquidos o comer mucho. Hervir 15 minutos una cucharada de raíz y una de hojas en dos tazas de agua. Dejar enfriar colar y tomar una taza en ayunas y otra antes de acostarse durante 15 días. Se recomienda esta planta medicinal “no debe administrarse por más de dos semanas, se recomienda la supervisión médica.

**1.3.2.10. Formas de preparar el saúco**

El agua Es otro recurso que se debe utilizar para preparar un remedio con la planta del saúco especialmente en infusión o jarabe estos son de uso interno, por lo que se recomienda que el líquido (agua) debe estar lo más limpio posible, puede ser hervido o clorado. Si se usara cloro la medida o cantidad para clorar un litro de agua es: una gota de cloro por un 1 litro de agua y se esperan 30 minutos antes de usarla.<sup>15</sup>

**a. El Apagado o Infusión**

Consiste en dejar en contacto por algunos minutos la parte de la planta con agua hirviendo en un recipiente limpio se enfría para luego consumirlo. Esta forma se usa con fin el de que sus partes no sufran deterioro y surten más el efecto deseado en el tratamiento de enfermedades. Para el apagado se usan las flores, hojas, corteza secas o verdes.

**b. El cocimiento**

Para la preparación de plantas medicinales en forma de jarabe “se prepara hirviendo durante algunos minutos la planta y luego se filtra. Las partes que se utilizan como: tronco, corteza, fruto, hojas y semillas”, utilizando utensilios y agua limpia.

**c. Maceración**

Es la forma en que se prepara una planta que consiste en machacar alguna parte de la planta normalmente las hojas, frutos, flores ya sea crudo (maceración fría) o cocido (maceración caliente), al final se deja reposar en un utensilio después de unas horas para que suelte su principio activo (como clara de huevo) se debe usar.

**d. Cataplasma**

Se hace hirviendo la planta o sometiendo a la acción del agua. La planta hervida se envuelve en un paño delgado que se sitúan sobre la zona a tratar, es de “uso tópico en afecciones dermatomucosas y dolores musculares.”

**e. Compresa**

Es una preparación similar a la cataplasma, pero en este caso en lugar de aplicar la planta directamente a la piel, se utiliza una extracción acuosa, aplicada a un paño o toalla. Pueden ser calientes, o bien 21 frías, generalmente aplicadas en el caso de inflamaciones y abscesos; para tratar casos de cefalea, o conjuntivitis.

**f. Jarabe**

Son disoluciones de azúcar en agua a las que después se le añade la planta medicinal y es de consumo interno (bebible).



#### g. Vahos

Se preparan con plantas aromáticas las cuales se hierven en agua. El vapor que se desprende del recipiente una vez retirado este del fuego, es el que debe ser inhalado, se debe cubrir la cabeza con una manta o toalla para que el vapor se quede cerca de la cara posteriormente abrigarse.

#### 1.3.2.11. Grupos de especies:

Se lista algunas especies del saúco según su país de cultivo son especies similares a la única especie el *Sambucus nigra* saúco común o saúco negro.<sup>15</sup>

*Sambucus australis* saúco del este de Sudamérica.

*Sambucus Canadensis* saúco de Canadá.

*Sambucus cerulea* saúco del oeste de Norteamérica.

*Sambucus javanica* saúco del sureste de Asia.

*Sambucus nigra* saúco común o negro Europa y Asia occidental.

*Sambucus lanceolata* saúco de la isla de Madeira.

*Sambucus pelmensis* saúco de Islas Canarias.

*Sambucus nigra* L. Saúco de Colombia Sudamérica.

*Sambucus simpsonii* saúco de sureste de Estados Unidos.

*Sambucus velutina* saúco de suroeste de Estados Unidos.

*Sambucus mexicana* saúco de México.

*Sambucus melanocarpa* (proviene o es subespecie de *Sambucus racemosa*) saúco del Oeste de Norteamérica.

*Sambucus callicarpa* saúco costa oeste de los EE.UU.

*Sambucus chinensis* saúco chino. Este de Asia.

*Sambucus latipinna* saúco de Corea sureste de Siberia.

*Sambucus racemosa* saúco rojo de Europa septentrional noroeste de Asia.

*Sambucus sieboldiana* saúco de Japón y Corea.

*Sambucus tigranii* saúco de Asia.

*Sambucus william sii* saúco de Noreste de Asia Saúcos australianos que tienen dos especies provenientes Australasia.

*Sambucus australasica* saúco de Australia, Nueva Guinea, este Australia.

*Sambucus aaudichaudiana* saúco de sureste de Australia Saúcos enanos.

*Sambucus adnata* saúco de Himalaya y Asia oriental, con bayas rojas

*Sambucus ebulus* centro y sur de Europa, noreste de África y sureste de Asia bayas negras.

#### **1.3.2.12. Principios tóxicos**

No comer los frutos crudos puede provocar vómitos, diarreas, mareos cuando son verdes, aunque estén maduros, sino solamente en cocción. Menos cuando no están maduros (verdes). Si se abusa de la dosis elevada puede producir dolores de cabeza, mareos, vómitos, etc. Por lo que se recomienda usarla moderadamente. No administrar la dosis en mujeres embarazadas ni en niños o niñas.<sup>13</sup>

#### **1.4. Formulación del problema**

¿Cuál es la diferencia *In vitro* entre el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

#### **1.5. Justificación e importancia del estudio**

La investigación es relevante porque no existe mucha investigación sobre el tema y las técnicas a usar para la comparación son novedosas en nuestra ciudad. Es necesaria para coadyuvar desde un enfoque personal y académico científico con el cuidado de las personas a ser protegidas y tratadas contra las bacterias, sin ocasionarles algún daño.

Así mismo metodológicamente tiene el propósito de obtener los efectos de la comparación con el proceso de la técnica respectiva en el contexto de alguna característica bacteriana que muchas veces al no ser evidente tiende a esconderse, conllevando a un escenario negativo.

Apremia también determinar el beneficiar a los médicos odontólogos donde son llamadas como su deber, proteger y seleccionar de manera correcta las técnicas, adoptando medidas predictivas, preventivas y correctivas, siendo estas reales y concretas, como el “sauco” en composición químicas y sustancias activas, que ofrece las condiciones para ser aprovechadas con fines medicinales

## **1.6. Hipótesis**

El extracto hidroetanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) al 100% presenta mayor efecto antibacteriano que el 25%, 50% y 75% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175

## **1.7. Objetivos**

### **1.7.1 Objetivo general**

Determinar *In vitro* el efecto antibacteriano entre el extracto hidroetanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

### **1.7.2 Objetivos específicos**

- a. Evaluar *In vitro* el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) al 25 % sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- b. Evaluar *In vitro* el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) al 50 % sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- c. Evaluar *In vitro* el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (Sauco) al 75 % sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- d. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de la hoja al 100% de *Sambucus peruviana* (Sauco) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## **II. MATERIAL Y MÉTODO**

### **2.1. Tipo y diseño de investigación**

El tipo de investigación será Cuantitativo

El diseño a utilizar será Experimental, prospectivo, analítico y longitudinal por que se emplea magnitudes midiendo los halos de inhibición en milímetros con el instrumento Calibrador vernier

## 2.2. Población y muestra

### Población

La población estará conformada por una cepa estándar de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

### Muestra

Esta dada por el número de ensayos o repeticiones por grupo experimental por la siguiente formula

$$n = \frac{\left(\frac{Z\alpha}{2} + Z\beta\right)^2 2S^2}{(X1 - X2)^2}$$

$$n = \frac{(gl + 3)}{(gl + 1)}$$

#### Donde:

n: Tamaño de muestra preliminar

nf: Tamaño de muestra reajutable

Z $\alpha$ /2: 1.96, para una confianza de 95% o un  $\alpha = 0,05$

Z $\beta$ : 0.84, para una potencia de prueba de 80% o un  $\beta = 0,20$

S: 0.8 (X1 – X2); valor asignado por no haber muchos estudios similares

gl: Grado de libertad = 2 (n-1)

Reemplazando en las fórmulas, se tiene que n = 10 repeticiones y nf = 11 repeticiones; por lo que se procederá a 11 repeticiones para cada tratamiento.

## 2.3. Variables, Operacionalización

### 2.3.1. Variables

#### Variable Independiente

Extracto Hidroetanólico de hoja de *Sambucus peruviana* (sauco)

#### Variable Dependiente

*Streptococcus mutans* ATCC 25175

### 2.3.2. Operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	VALOR FINAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
Extracto de la hoja de <i>Sambucus peruviana</i> (sauco)	Compuesto formado por los principios activos de las hojas de <i>Sambucus peruviana</i> , cuyo solvente es el etanol.	Extracto cuyo solvente es el etanol, el cual contiene los principios activos de la hoja de <i>Sambucus peruviana</i> , el cual se realizará a partir de hojas desecadas en concentraciones de 25%, 50% y 75%.	Rótulo del envase	25% 50% 75% 100%	Cuantitativa	De Razón
Efecto antibacteriano sobre el <i>Streptococcus</i>	Se denomina efecto antibacteriano al efecto que produce un agente capaz de eliminar o inhibir el crecimiento y proliferación de microorganismo, sin dañar el huésped u organismo que los porta (3).	Es la interpretación por las concentraciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Sambucus</i> en su valoración respectiva.	Halos de inhibición	Mm (milímetros)	Cuantitativa	De Razón

Autoría propia

## **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

### **2.4.1. Técnicas**

Observación Microbiológica aplicando método de Kirby Bauer (empleando discos de papel) y concentración mínima inhibitoria (serie de tubos con medio líquido). Para el primer método se midieron los halos de inhibición y para el segundo se cuantificó la concentración mínima inhibitoria evidenciándose nada de turbidez en los tubos; serán registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio.

### **2.4.2. Instrumento**

Calibrador Vernier: Instrumento que es validado porque es diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001<sup>17</sup>. (anexo 1)

Marca: Shahe

Numero de Modelo : 5100-300

### **2.4.3. Procedimiento (Protocolos de experimentación)**

La taxonomía fue realizada en el herbario de la Universidad Pedro Ruiz Gallo (Anexo 4).

Se solicitó una carta de presentación al Decano de la facultad de ciencias de la salud, a la Universidad Señor De Sipán para el proyecto de investigación y autorización para donación de cepa de la bacteria *Streptococcus mutans* (ANEXO 1). Esta carta de presentación (Anexo 2) se presentó a la empresa LIGEN, quien tiene ambientes adecuados para realizar este tipo de investigación, ubicado en Tarata 118, ubicado en un categoría de SUSALUD para dichos laboratorios, para obtener los resultados (Anexo 5).

#### **2.4.3.1. De la recolección de hojas de sauco**

Se recolectarán 4 kilos de hojas de Sauco del distrito de Pampas Grande, provincia de Pallasca, región Ancash. Se recolectarán con la técnica de herborización.<sup>2</sup>

#### **2.4.3.2. De la selección, lavado y secado de hojas**

Se llevarán las hojas al laboratorio donde se procederá a separar las hojas sanas y descartar las oxidadas y con hongos; posteriormente lavarlas con agua destilada y colocados en papel kraft para ser secadas a 40°C.<sup>3</sup>

#### **2.4.3.3. Del proceso de tamizado y almacenamiento**

Con un mortero se convierte en polvo las hojas para pasarlo a un tamiz para coger un solo tamaño de partículas y guardarlo en un frasco de vidrio.<sup>3</sup>

#### **2.4.3.4. De la preparación del extracto etanólico de hojas de Sauco**

Se añadirá etanol de 70° al frasco de vidrio, hasta cubrir el polvo de sauco de aproximadamente 100 gramos, debidamente llevar una proporción. Se dejará macerar por siete días.<sup>3</sup>

#### **2.4.3.5. De la reactivación de la cepa estándar**

Se preparará el inóculo mediante el método de suspensión directa de colonias, sobre Agar Muller Hinton-Sangre, usando medio Tioglicolato de las colonias aisladas en los tubos de ensayo que contenían Agar Soja Tripticasa, después de 18 a 24 horas de incubación.<sup>3</sup>

#### **2.4.3.6. De la inoculación cultivo de la cepa estándar**

Se utilizará un foco que es un elemento óptico que proyecta un tono de luz que sirve para comparar el tubo del inóculo sembrado con el estándar  $9 \times 10^8$  células de la escala de Mc Farland frente a una tarjeta de fondo blanco y líneas negras.

#### **2.4.3.7. Preparación de las concentraciones al 25%, 75% y 100%**

Se realizará dichas concentraciones con agua destilada y la fórmula de las concentraciones para poder hallar la concentración deseada. Para la concentración al 25%, se medirá un volumen total de 5mL en viales estériles sacando con la fórmula de volúmenes 1,25mL del extracto puro con 3,75mL de agua destilada.

Para la concentración al 50% se tomará el mismo volumen que a la anterior, cambiando la dosis a 2,5mL de extracto etanólico de sauco con 2,5mL de agua destilada. Asimismo, para la concentración al 75%, se empleará 3,75mL de extracto etanólico con 1,25mL de agua destilada.

#### **2.4.3.8. Del enfrentamiento microbiológico**

Para la determinación de la sensibilidad de *S. mutans* frente al extracto hidroetanólico de hojas de sauco, se sumergirán los discos de papel de filtro estériles (autoclave) en cada una de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% (anexo8).

La razón fundamental de una prueba de sensibilidad es la de enfrentar al microorganismo con las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de las hojas del sauco. Determinando los metabolitos primarios y secundarios de las hojas de sauco detectando la inhibición del crecimiento del microorganismo con la presencia de los halos de inhibición. Por tal razón, para poder llegar a una mejor exactitud en el cálculo de la concentración mínima inhibitoria, se empleó dos métodos. El primero es cualitativo, con presencia de halos de inhibición en agar sólido y el segundo método es cuantitativo, ya que se utilizó una serie de 12 tubos con concentraciones mínimas en medio líquido (Anexo 8).

La técnica de siembra en superficie es cualitativa y sus resultados se pueden interpretar únicamente como sensible (>9mm), intermedio (7 – 8mm) o resistente (<6mm), frente a las concentraciones del extracto hidroetanólico. Y está diseñada específicamente para bacterias que tienen una importancia clínica en odontología, como es el *Streptococcus mutans* causante de pacientes con caries.<sup>30</sup>

#### **2.4.3.9. Primer método: lectura de los Halos de inhibición**

La lectura de los halos de inhibición será producida por las concentraciones del extracto de hojas de *Sambucus peruviana* que, con un calibrador Vernier se medirán aquellos halos de inhibición de cada una de la concentración, en caso salga mayor de 8 mm se considerará como susceptible, presentando efecto antibacteriano.<sup>3</sup>



#### **2.4.3.10. Segundo método: serie de tubos sin turbidez**

La lectura de la serie de 12 tubos, después de incubarlos. Se evaluará turbidez en los tubos, y solo el último tubo de la serie que no presente turbidez, se tomará la concentración mínima inhibitoria (anexo 7).

### **2.5. Procedimientos de análisis de datos**

Para determinar la relación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de sauco en la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans*, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de  $p < 0.05$  y el método D de cohen. Se utilizó el sistema SPSS versión 23 (Anexo 9)

### **2.6. Criterios éticos**

Las consideraciones éticas del ministerio de salud de la República del Perú, y en su título II artículo 11 del capítulo I, indica que la investigación no se trabaja directamente con humanos ni estructuras anatómicas relacionadas, solo se trabajara con el extracto de la hoja de *Sambucus peruviana* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 26786 de forma *in vitro*. Presenta consideraciones de bioseguridad con la manipulación y desechos de los materiales de laboratorio dirigidos por un profesional de bacteriología y laboratorio clínico

### **2.7. Criterios de Rigor Científicos**

Este método plantea un método de investigación coherente con el problema a solucionar, posee un marco teórico basado en fuentes documentales y de información; redactado con un lenguaje cuidadoso que refleja el proceso de la investigación y cultiva valores científicos en su estilo y estructura; y la información citada responde a fuentes reales y fidedignas haciendo el parafraseo sin plagio, citada según Vancouver. La selección de los sujetos del estudio responde con la finalidad de la investigación, indica a quien incluye y excluye.

### III. RESULTADOS

El presente trabajo de investigación “*in vitro*” se ejecutó en el área de biotecnología de LIGEN. Este estudio tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de hojas de *Sambucus peruviana* “sauco” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, empleando 4 concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100%, cuya última concentración es empleada como control positivo para comparar el efecto del mismo (Tabla 1). Asimismo, se buscó determinar la concentración mínima inhibitoria, método más tedioso y laborioso pero muy exacto; ya que, emplea diluciones del extracto hidroetanólico en medio líquido junto a la bacteria, dándole más exactitud a este trabajo.

#### 3.1. Tablas y figuras

En la tabla 1: Para poder observar y comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 251775. Obteniendo el mejor resultado al 100%, donde se obtuvo mayor medición de halos de inhibición con el método de discos de difusión en placa, obteniendo medidas milimétricas. Por eso se procede a comparar todas las concentraciones que no alcanzaron la mayor medición de halos de inhibición. Detallando en el siguiente cuadro todas las concentraciones, la medición de halos de inhibición y el promedio de repeticiones. Y podemos decir que, a mayor concentración, mejor resultado.

En referencia al 25 % de concentración de extracto etanólico de sauco no se observó halos de inhibición, obteniéndose un promedio de 6,13mm. En referencia al 50% de concentración de extracto etanólico de sauco se observaron halos de inhibición parcial, obteniéndose un promedio de 6,50mm. En referencia al 75% de concentración de extracto etanólico de sauco se observaron halos de inhibición intermedios, obteniéndose un promedio de 7,25mm. En referencia al 100% de concentración de extracto etanólico de sauco se le consideró como control positivo, obteniéndose un promedio de 9,00mm. Demostrando según Cedamanos y Mejía, 2014; efectos encontrados en la concentración más alta.

Con respecto, al diámetro promedio del halo de inhibición la susceptibilidad del extracto hidroetanólico frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizó con 8 repeticiones

por cada concentración empleada. Empleando 25%, 50%, 75% y 100% con promedio de halos de inhibición de 6,13mm, 6,50mm, 7,25mm y 9mm, respectivamente. Con un error estándar bastante aceptable para estos promedios de tratamientos obtenidos. La concentración al 100% de sauco, se observó que superó el promedio de todas las demás concentraciones, evidenciándose mayores halos de inhibición, como fue reportado en *Sambucus nigra* según Pineda & Ortiz (2015).

**Tabla 1.**

**Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de hojas de *Sambucus peruviana* (sauco) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Crecimiento de <i>S. mutans</i>	Concentración del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Sambucus peruviana</i> / (mm)			
	25%	50%	75%	100%
<b>Promedio de diámetro de halos de inhibición (mm)</b>	6,13	6,50	7,25	9,00

**Fuente: Datos obtenidos por el investigador, año 2018.**

Tabla 1. Muestra la concentración mínima inhibitoria de extracto etanólico de sauco frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, donde los resultados de las tres repeticiones de las diluciones siguientes son de 0,32ug/mL. Donde si existe diferencia significativa entre las diluciones empleadas del dicho cuadro. En cambio no existe diferencia significativa entre la dilución y la concentración obtenida principalmente.

**Tabla 2.**

**Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Sambucus peruviana* (sauco) al 100% frente a *S. mutans* ATCC**

Tratamientos	Número de tubo con su respectiva concentración del extracto hidroetanólico de <i>Sambucus peruviana</i> en ug/mL											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1.28	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	CI	CE
R1	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--
R2	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--
R3	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--

-- = No se observa crecimiento del inóculo bacteriano

+ = Se observa crecimiento (Turbidez)

R1, 2 y 3 = Repeticiones con la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 26786

CI = Control de inóculo (*Streptococcus mutans* ATCC 26786)

CE = Control de esterilidad

**Tabla 3.**

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>			
halos			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,392	3	28	,266

**Tabla 4 .**

<b>ANOVA</b>					
halos					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	39,094	3	13,031	43,567	,000
Dentro de grupos	8,375	28	,299		
Total	47,469	31			

**Tabla 5.**

<b>halos</b>				
HSD Tukey <sup>a</sup>				
tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	8	6,13		
50%	8	6,50		
75%	8		7,25	
100%	8			9,00
Sig.		,527	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de muestra de la medida armónica = 8,000

## **Interpretación:**

El efecto del extracto hidroetanólico de sauco tiene una significancia de 0.266 para la homogeneidad de varianza, eso nos quiere decir que los datos están distribuidos en relación a la hipótesis, ya que si la significancia es mayor a 0.05, es válida.

Y según la prueba de Anava, se rechaza la hipótesis nula, y se acepta la hipótesis 1, que es la hipótesis planteada de esta tesis. Resultando con una significancia menor a 0.05, demostrando que los tratamientos si tuvieron efecto a comparación del extracto al 100%.

Según la prueba múltiple de Tukey, los mayores valores alcanzados fueron con la concentración al 100% del extracto hidroetanólico de sauco, diferenciándose entre sí y de los demás tratamientos.

### **3.2. Discusión de resultados**

El presente estudio de tipo experimental demostró el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *S. peruviana* sobre *S. mutans* ATCC 25175, utilizando concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Se comprobó que a mayor concentración del extracto etanólico de hojas de *S. peruviana* hay un mayor efecto antibacteriano, tanto para el método de susceptibilidad bacteriana como para el método de unidades formadoras de colonias (CMI), en comparación con la investigación de Jiménez<sup>20</sup>, probando en dos concentraciones de 50% y 75%, con halos de 7,35 y 8,96 mm respectivamente, concluyendo que varía mucho las diferentes metodologías de extracción de metabolitos primarios y secundarios, para poder obtener mejor efecto.

*S. peruviana* es una subespecie de *S. nigra*, la cual ha sido estudiada y cuyas propiedades medicinales se encuentran registrados en trabajos de investigación. Las hojas de *S. peruviana* se usan para tratar afecciones de la boca y de la garganta; los extractos de flores y hojas presentan actividad antimicrobiana.<sup>21</sup>

No existen estudios relacionados al sauco en el campo de la odontología, sin embargo, hay trabajos de investigación en los que se ha reportado que el sauco si presenta efecto

antibacteriano. También Krawitz C. y cols.<sup>22</sup> concluyeron en su estudio realizado en el año 2010 que el extracto líquido estandarizado de sauco presenta efecto antibacteriano contra *Streptococcus* spp. de los grupos C y G; así como *B. catarrhalis*.

Hearst y cols.<sup>23</sup> también demostraron que el extracto etanólico de flores de *S. nigra* presentó efecto antibacteriano sobre *S. aureus* y otros patógenos hospitalarios como *B. cereus*, *Salmonella poona* y *Pseudomona aeruginosa*. Asimismo, Salehzadeh y cols.<sup>24</sup> realizaron un trabajo de investigación en el que también concluyen que *Sambucus ebulus* presenta efecto antibacteriano frente a *S. aureus* resistente a meticilina, por ende se busca nuevas alternativas naturales para combatir dicha resistencia bacteriana.

Ramirez –Rueda y cols.<sup>26</sup> utilizaron un extracto en base a hojas de *Sambucus nigra* con el que demostraron que este extracto presenta efecto antibacteriano sobre *S. aureus* resistente a meticilina, evidenciando que los extractos naturales puede reemplazar o trabajar en conjunto con los antibióticos, repotenciando su efecto bactericida. Asimismo, Rodríguez y cols.<sup>26</sup> determinó en su estudio que el extracto etanólico de hojas, flores y bayas de *Sambucus nigra* presentaba efecto antibacteriano frente a patógenos nosocomiales como *S. aureus*, *E. faecium* resistente a la vancomicina, *C. albicans* y *P. rettgeri*.

Por lo tanto, en base a los estudios de la presente investigación y a los estudios antes mencionados queda confirmado que el sauco presenta efecto antibacteriano. Así como lo mencionan en su estudio Rodríguez y cols.<sup>27</sup>, mediante un análisis fitoquímico obtuvo que las hojas de sauco presentaron como principios activos unos metabolitos secundarios llamados terpenoides, flavonoides, saponinas, alcaloides y quinonas, siendo los que se encontraban en mayor cantidad los flavonoides, terpenoides y quinonas.

Los flavonoides son hidroxilados de sustancias fenólicas que suelen ser sintetizados por las plantas en respuesta a las infecciones microbianas, cuya actividad antimicrobiana puede deberse a su habilidad para formar interacciones proteicas con proteínas intracelulares y por la interacción para la formación de complejos con las paredes celulares bacterianas que involucra la lisis celular. Los terpenoides también han sido informados como antimicrobianos debido a la capacidad que poseen de causar una desestabilización en la integridad y permeabilidad de la membrana de la bacteria<sup>25</sup>. Por lo

tanto, la presencia de terpenoides y compuestos fenólicos podrían explicar la actividad antimicrobiana del sauco.

Sin embargo, no se puede establecer una clara relación entre los numerosos principios activos y las propiedades medicinales que se le asignan al sauco.<sup>26</sup> Tal como lo menciona Aricapa en su trabajo de investigación en el que evalúa la actividad antimicrobiana de diversas plantas sobre microorganismos cariogénicos, se desconoce por el momento el modo de acción de estos principios activos. Asimismo, presenta 2 teorías: Estos compuestos pueden tener diferentes funciones y que de forma accidental aportan un efecto antimicrobiano; o realmente tienen una actividad antimicrobiana como primer fin.<sup>27</sup>

Según los resultados obtenidos, se observa que a medida que aumenta la concentración de extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* hay un mayor diámetro promedio del halo de inhibición de crecimiento de *S. mutans*; lo que demuestra el efecto antibacteriano del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La CMI del extracto etanólico de sauco frente a *S. mutans* cepa ATCC 25175 fue de 0,32ug/mL, por tanto la CMI del extracto presenta metabolitos activos que atacan a la bacteria con una dilución elevada, significando que cumple con el efecto bacteriano en concentraciones altas mencionado por Saldarriaga<sup>29</sup>, reportando 0,38ug/mL del aceite esencial de *Citrus sinensis* “naranja” frente a *S. aureus*.

Finalmente, por los resultados obtenidos y todo lo expuesto anteriormente, podemos afirmar que el extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175, el cual es el principal microorganismo causante de la caries dental.



## IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 CONCLUSIONES

- Al comparar las 4 concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100%, existe actividad antibacteriana *in vitro* del extracto Hidroetanólico de *Sambucus peruviana* “sauco”, obteniendo el mayor resultado con la concentración al 100% diferenciándose de las demás concentraciones, demostrando que a mayor concentración mayor efecto antibacterino del extracto etanólico de sauco.
- La concentración de 25 % de extracto etanólico de sauco se evidenció halos de inhibición en ninguna repetición con un promedio de 6,13mm de longitud de disco, pero esto no indica que tiene efecto inhibitorio
- La concentración de 50% de extracto etanólico de sauco se midió halos de inhibición con efecto parcial con un promedio de 6,50mm de longitud.
- La concentración de 75% de extracto etanólico de sauco se observaron halos de inhibición con efecto intermedio con un promedio de 7,25mm de longitud.
- La concentración de 100% de extracto etanólico de sauco tuvo un promedio de 9,00mm, evidenciándose efecto en la concentración más alta a comparación de los promedios de 6,13mm, 6,50mm y 7,25mm.
- La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de sauco al 100% frente a *Streptococcus mutans* fue de 0,32ug/mL, evidenciándose que a mayor concentración de extracto etanólico, mejor es el efecto inhibitorio.

## 4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con las investigaciones con mayor cantidad de ensayos, así como con otras bacterias patógenas orales.
- Realizar estudios posteriores para identificar el principio activo que ejerce efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (SAUCO) sobre *Streptococcus mutans atcc 25175*
- Se recomienda realizar trabajos comparativos entre las distintas especies de *Sambucus* spp.
- Evaluar susceptibilidad bacteriana del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* mediante el método de pozos en agar.
- Realizar estudios en el que se identifique el mecanismo de acción de los principios activos que producen efecto antibacteriano de extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* a diferentes concentraciones.
- Ejecutar estudios experimentales in vitro en el que se evalué efecto antibacteriano de *Sambucus peruviana* frente a otros patógenos de la cavidad oral, para ampliar el espectro antimicrobiano.

## REFERENCIAS

1. Plazas, L.A. (2015). Recuento e identificación de Streptococcus mutans de saliva en niños con caries dental: seguimiento a 3 y 6 meses después de un proceso educativo. Obtenido de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16672/PlazasCristianchoLeandroAugusto2015.pdf?sequence=1>
2. AM de Querétaro. Destacan innovaciones tecnológicas para cuidado de la salud bucal. [Internet]. México. 2018. [cited 2018 May 24]. Obtenido de <http://amqueretaro.com/vivir-mas/2018/03/17/destacan-innovaciones-tecnologicas-cuidado-la-salud-bucal>
3. León, J. P. M. (2018) “Efecto antibacteriano In Vitro del extracto etanólico de hojas de Sambucus Peruviana “Sauco” sobre Streptococcus mutans 25175”. Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10005/TESIS-JEAN%20PIERRE%20MART%C3%8DN%20LE%C3%93N%20SILVA%20P.ROTEJIDO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
4. Gamboa Jaimes, Fredy Omar. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: experiencias de investigación. [Internet]. Barranquilla. Colombia. 2014. [cited 2018 May 24]. Obtenido de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-IdentificacionYCaracterizacionMicrobiologicaFenoti-5236033.pdf>
5. Gispert Abreu, Estela, Rivero López, Aracelys, Cantillo Estrada, Elena. Relación entre el grado de infección por Streptococcus mutans y la posterior actividad cariogénica [Internet]. La Habana: Scielo Cuba; 2007. [Cited 2018 May 24]. Available from: ProQuest Ebook Central Created from bibliotecafmhsp on 2018-05-24 16:52:35.
6. Saldarriaga, E. (2017). “Efecto antibacteriano In vitro del extracto Etanólico de Myrciariadubia (Camu Camu) sobre Streptococcus mutans (ATCC 25175)”.

Obtenido de <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7996/PROTEJIDO%20SALDARRIAGA%20MOSTACERO%20EDGARD%20GERSON.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

7. Huertas, M. C. (2015). “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto Metanólico de *Physalis peruviana* (capulí) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC25175), *Streptococcus Sanguinis* (ATCC10556)”. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/54246942.pdf>
8. Medina, D. (2015). “Evaluación In vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto Metanólico de *Bixa Orellana* l. (achiote) sobre cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC25175) y *Streptococcus Sanguinis* (ATCC 10556)”. Obtenido de <https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/584214/original.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Centurión, K. En el año 2015 en su investigación “Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinias pinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668” Recuperado de [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/972/1/CENTURI%C3%93N\\_KARINA\\_ANTIBACTERIANO\\_INVITRO\\_ETAN%C3%93LICO.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/972/1/CENTURI%C3%93N_KARINA_ANTIBACTERIANO_INVITRO_ETAN%C3%93LICO.pdf)
10. Pineda, A. & Ortiz, W. (2015) “Evaluación del efecto insecticida de los extractos vegetales de *Sambucus nigra* (Caprifoliácea) en el control de *Collaria scenica* (Hemiptera: Miridae) en condiciones de laboratorio. Recuperado de [http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17898/13081094\\_2015.pdf?sequence=1](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17898/13081094_2015.pdf?sequence=1)
11. Jiménez, J. (2013) “Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Sambucus peruviana* (sauco) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Recuperado de <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9527/Tesis%20Maestr%C>

3%ADaX%20%20Jenny%20M.%20Jim%C3%A9nez%20Garay.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Cabronero, F. M. J. (2005). Estudio de *Streptococcus mutans* en un modelo experimental: aportaciones etiopatogénicas. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com> Created from biblioteca fmhsp on 2018-05-24 19:08:05.
13. Jimenez, R., Castañeda, M., Corona, H, Estrada, G. y Quinzán, M. (2016). Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5 a 11 años
14. Encuesta de salud oral (2012). Influencia del origen de nacimiento (España versus extranjero) en la Salud Oral de la población infanto-juvenil en España 2010. Vol. 17. N<sup>o</sup> 1
15. Velasco, F. (2015). Uso tradicional del saúco como planta medicinal en la comunidad Salquilito, municipio de Nebaj, departamento de Quiché. Obtenido de [http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07\\_5680.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07_5680.pdf)
16. Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, M. (2010). Metodología de la investigación. Obtenido de [https://www.esup.edu.pe/descargas/dep\\_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf](https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf)
17. Habith, G. & Vitta, J. (2016). Utilización del calibrador vernier. Recuperado de <https://es.aliexpress.com/item/IP67-300mm-LCD-12-inch-Electronic-Digital-Caliper-with-box-Vernier-Gauge-Micrometer-Stainless-Steel/2038561526.html>
18. Del Aguila, C. (2016). *Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de la hojate Manihor esculenta Crantz (yuca), mediante los métodos de macrodilución y difusión en disco frente a Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Perú. Recuperado de:

[http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3892/Christian\\_Tesis\\_Titulo\\_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3892/Christian_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

19. Cruz, A., Rodríguez, N & Rodríguez, C. (2016). Evaluación in vitro de, efecto del antimicrobiano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianun*. *Extractos vegetales versus bacterias*, 13 (2), pg. 117 – 140. Recuperado por: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
20. Roman A, Iannacone J., Alvariño L. Efecto tóxico del saúco, *Sambucus peruviana* (caprifoliaceae), en *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais* y *Copidosoma koehleri* en Perú. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, [Revista On-line] Chillán; 2017 [Consultado 21 junio 2017]; 33(1). Disponible en URL:[http://www.scielo.cl/scielo.php?Script=sci\\_arttext&pid=S0719-38902017000100101&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S0719-38902017000100101&lng=es&nrm=iso). ISSN 0719-3882
21. Krawitz C. Inhibitory activity of a standardized elderberry liquid extract against clinically-relevant human respiratory bacterial pathogens and influenza A and B viruses. *BIoMedCentral Complement Altern Med* [Revista On-line] 2011 [Consultado 08 julio 2017]; 11(1). Disponible en URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3056848/>
22. Hearst C. Antibacterial activity of elder (*Sambucus nigra* L.) flower or berry against hospital pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research* [Revista On-line] 2010. [Consultado 09 julio 2017] 4(17): 1805-1809. Disponible en URL: [http://www.academicjournals.org/article/article1380715471\\_Hearst%20et%20al.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1380715471_Hearst%20et%20al.pdf)
23. Salehzadeh A, Asaudpor R, Naaemi S. Antimicrobial activity of Methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant staphylococcus aureus. *Afr J Tradit Complement Altern Med* [Revista On-line] 2014 [Consultado 11 julio 2017] 11(5):38-40. Disponible en URL: <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v11i5.6>
24. Ramírez R, Mojica D, Espitia M. Actividad antibacteriana de extractos de plantas provenientes del área rural de Soracá contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). *Revista Ciencia y Salud* [Revista On-line] 2015. [Consultado 08 julio 2017] 7(1); 4-12. Disponible en URL: <http://revistas.curnvirtual.edu.co/index.php/cienciaysalud/article/view/469/414>

25. Rodríguez, Cristian; Zarate, Andrés. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. Revista Scielo [Revista On-line], NOVA. 2017; 15 (27): 119-129. [Consultado 04 Diciembre 2017]. Disponible en URL:  
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00119.pdf>
26. Propiedades de plantas medicinales. Información y propiedades del sauco. Mayo 2008. [Consultado 05 Diciembre 2017] Disponible en URL:  
<http://propiedadesplantas.com/informacion-y-propiedades-del-saucu-2.html>
27. Aricapa D. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos [Tesis]. Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias básicas: Bacteriología; 2009.
28. Bach. Oliva Requejo Jeniffer Johana, Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de la fruta morinda citerifolia "noni" frente Streptococcus mutans atcc 35668 [Tesis]. Chiclayo,Peru :Universidada Señor de Sipan. Facultad de Cincias de la Salud 2019  
Disponible:  
<http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/uss/5735/Oliva%20Requejo%20Jeniffer%20Johana.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
29. Saldarriaga, Angie E, Determinación de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) variedad Tangelo en el crecimiento de *Staphylococcus mutans* y de *Escherichia coli*. [Tesis]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Biológicas: Microbiología y Parasitología; 2016.
30. Brown A., Smith H. (2014) Benson's microbiological applications, Laboratory manual in general microbiology, Short version, 13th edition, McGraw-Hill Education, New York.

## **ANEXOS**



# Anexo 1

## Solicitud de carta de presentación de proyectos de investigación y autorización para donación de capa de la bacteriástreptococosmutans

**UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN**

Especie valorada  
S/ 20.00

**FORMATO DE SOLICITUD**

Solicita: Solicito carta de presentación de proyecto de investigación y autorización para donación de cepa de la bacteria Streptococcus mutans.

Señor (a), Srta.:  
Paulo Anticho Vera  
Shirley Herrera Saavedra, con DNI N° 46179804

(Nombres y Apellidos del solicitante)

Email Enma-monta@ustp.edu.pe Teléfono: 943669384 Dirección Talwantiuyo #1099

Ante Ud. Con el debido respeto expongo lo siguiente:  
Que en mi condición de: Alumno  
(Padre - Docente - Alumno) - (Especialidad - Ciclo)

Recurso a su honorable despacho para solicitarle lo siguiente:  
Solicito la Carta de presentación  
por que estoy realizando un proyecto de investigación  
comparar In Vitro del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico  
de la hoga de Sambucus peruviana (Ramo) sobre streptococcus mutans ATCC  
25145 los días que realice la práctica  
- Boletín Lic. Bettina Silva - Vicabana - Corporación Ugen.  
- Autorización para la donación de la cepa de la bacteria streptococcus mutans.  
Por lo expuesto, agradeceré ordenar a quien corresponda se atienda mi petición por ser de justicia.

Chiclayo, 11 de junio 2018

Firma del Solicitante: [Firma]

Anexos:  
a. \_\_\_\_\_  
b. \_\_\_\_\_  
c. \_\_\_\_\_

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN S.A.C.  
Mg. CQ. Esp. Pablo Edmundo HERNÁNDEZ VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DECANO

RECIBIDO  
11 JUN. 2018

Exp. N° \_\_\_\_\_  
Firma: [Firma] Hora: 6:20pm

... para ser parte del proyecto de investigación

## Anexo 2

### Carta de presentación para la autorización de la ejecución de trabajo de investigación

**USS | UNIVERSIDAD  
SEÑOR DE SIPÁN**

**"AÑO DEL DIALOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"**

**CARTA N°68-2018/FACSA-USS**  
**BACH.LIZ BETTINA SILVA VICABANA**  
**GERENTE COPORACIÓN LINGAN.**  
Presente.-

**ASUNTO: AUTORIZACIÓN PARA EJECUCIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Mediante la presente le expreso nuestro cordial saludo institucional, a la vez presentarle a **HERRERA SAAVEDRA SHIARY LISBETH** estudiante de la Escuela de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán, que está realizando el proyecto de investigación denominado: **"COMPARAR IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE LA HOJA DE SAMBRUCES PERUVIANA (SAUCO) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTARIS** "este proyecto es requisito fundamental en la asignatura de Investigación .

Motivo por el cual, acudo a su despacho para solicitarle tenga a bien conceder el permiso a la estudiante para ejecutar el proyecto de investigación en la Institución que usted tan dignamente dirige.

Agradecido por la atención.  
Sin otro particular, me despido de usted  
Atentamente,

  
**UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN S.A.C.**  
**Mg. CD. Edy Paola Estrada Urtecho Vera**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**DECANO**

**ADMISIÓN E INFORMES**

074 481610 - 074 481632

**CAMPUS USS**

Km. 5, carretera a Pimentel  
Chiclayo, Perú

[www.uss.edu.pe](http://www.uss.edu.pe)

## ANEXO 3

### Especificaciones del Calibrador vernier



#### Especificaciones del artículo

Rango de medición: 0-300mm

Nombre de la marca: Shahe

suministros de bricolaje: Trabajo del metal

Precisión: 0.04mm

Product name: IP67 Waterproof Digital LCD Vernier Caliper

Measurement: Four way measurement (OD, ID, Step ,Depth)

Is\_customized: YES

Package: Plastic Box

Tipo de pinza: Calibradores digitales

Número de modelo: 5100-300

Material: Cepillo de alambre de acero

Resolution: 0.01 mm /0.0005 inch

Capacitive grid transducer: Glass fixed grid

Certificate: CE, RoHS, ISO 9001

Battery: 3V CR1632 environmental lithium battery, batte...

Delivery: 1-2 business days after order confirmation

#### Descripción del producto

## Anexo 4

### Taxonomía en la Universidad Pedro Ruiz Gallo



Familia... *Adoxaceae* .....

Nombre científico... *Sambucus peruviana* .....

Localidad... Inka wasi .....

UTM... 714942... Altitud... 3078 msnm .....

Observaciones ecológicas de la estación...  
La temperatura oscila entre el muestreo entre  
3 a 6°C .....

Fecha de recolección... 03/07/19 .....

Recolector... Shiany Isbeth Herrera Saavedra .....

Identificador... Luis Ojeda .....

Nº de registro de herbario... E-123-00123 .....

## ANEXO 5

### PROCEDIMIENTO

#### MATERIALES

- Hojas secas del sauco



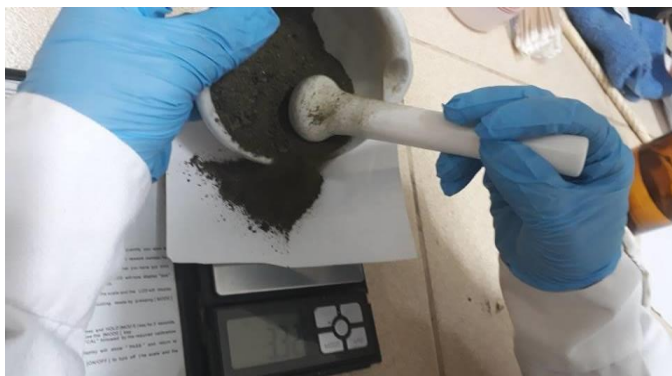
- Reactivación del *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175b: Se sembró en caldo tripticasa soya en condiciones de anaerobiosis por 24 horas y se sembró en placa para obtener colonias aisladas, y se escogió una colonia para sembrar en un vial con agar mitis salivarius.



- Molienda de las hojas de sauco: Se molieron con un mortero de vidrio, hasta que se hicieran polvo las hojas de sauco.

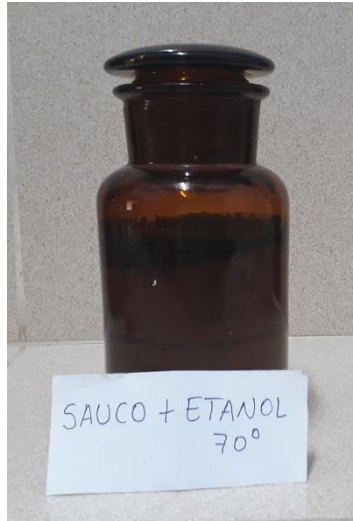


- Pesaje de polvo de sauco: Se pesó las hojas molidas en una balanza analítica.



- Se vertió el contenido en un frasco ámbar junto al etanol al 70° y dejándolo macerar unas semanas.





- Al cabo de una semana de macerado se filtró con papel Whatman N°3 y luego se sometió a concentración en el Sistema hidrodestilacion.



- Obtención del extracto puro: Se observó un extracto muy concentrado con aroma característico del sauco.



- Preparación de las concentraciones del extracto etanólico: Para poder obtener las concentraciones se realizó una regla de tres simple y la fórmula de los volúmenes.



### Prueba de sensibilidad

Método de los discos:

- Se preparó los discos de papel filtro, se autoclavó de un vial estéril y luego se secó en estufa.

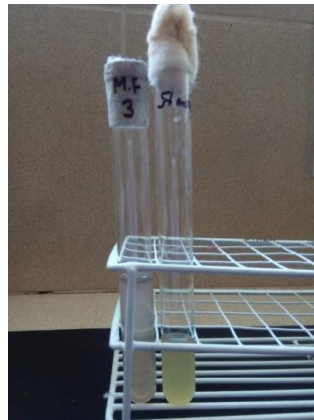


- Impregnó con las tres concentraciones del extracto hidroetanolico.





- Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* cepa ATCC 27876 con el tubo N°3 de la escala de Mc Farland.



- Se sembró con hisopo la suspensión de *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25275 en placas con MullerHinton. Se hizo tres siembras en diferentes direcciones para esparcir el inóculo bacteriano por toda la placa.

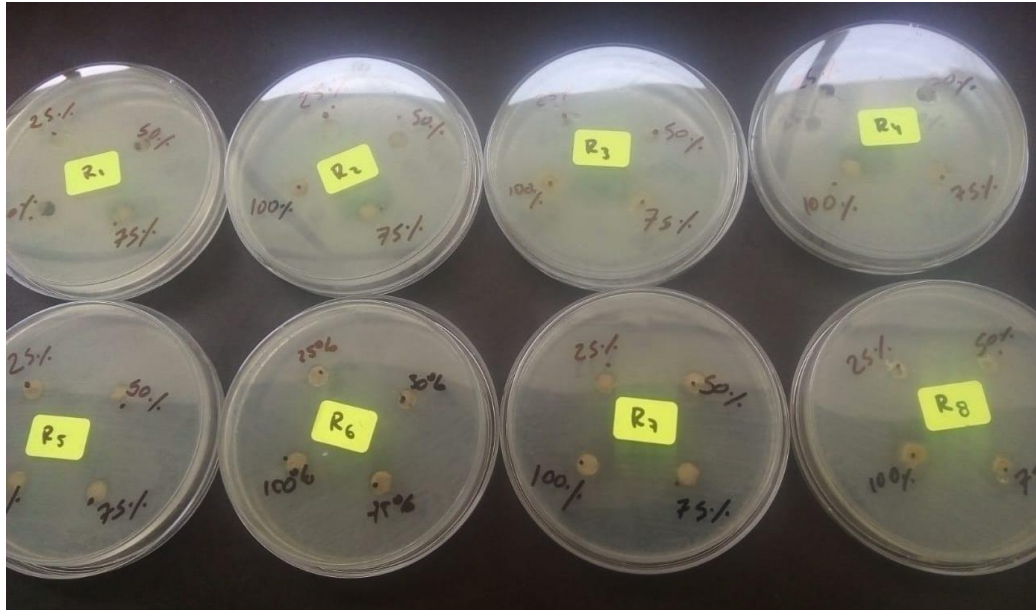


- Con ayuda de una pinza estéril se colocó los discos embebidos con cada concentración en la placa ya sembrada con el inóculo bacteriano.



✦ Se incubaron las placas a 37°C durante 24 horas en anaerobiosis. Al día siguiente se realizaron las lecturas de los halos respectivamente.

✦ Se realizará



Método de los tubos en medio líquido:

La cuantificación de la actividad *in vitro*, se basa en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes de extractos naturales, que se encuentra q está diluido en el medio de cultivo (Mueller Hinton). Se pueden realizar determinadas empleando baterías de tubos en caldo de cultivo con un rango determinado (macrodilución), mencionado por Shiva (2007).

El procedimiento es el siguiente:

- Primero se acondicionó una bacteria de 12 tubos.
- Se colocó 2 mL de caldo Mueller Hinton desde el tubo N°2 al 12.



- Luego colocar 2 mL de la solución de la solución del extracto natural de una concentración del 100% al tubo N°1 y al N°2.

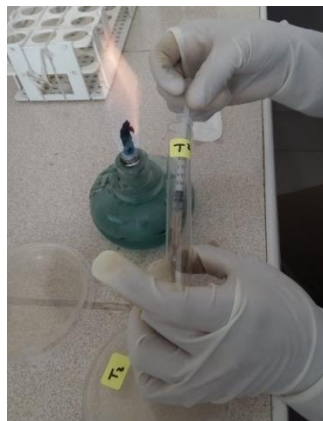


- Se transfiere 2 mL del tubo N°2 al N°3, continuar el mismo procedimiento hasta el tubo N°10, descartar 2 mL de la solución del tubo N°10. Durante estos pases sucesivos el extracto etanólico se va diluyendo.



- Se colocó 2 mL del inóculo bacteriano (*Streptococcus mutans* ATCC) desde el tubo N°1 al N°11.

- El tubo N°11 es el control de inóculo y el N°12 el control de esterilidad.
- Se incubó a 37°C, en un tiempo de 16 – 20 horas.
- Se efectuó la interpretación de los resultados. El punto final se determinó con el recuento de colonias en los tubos N°1 al tubo que no enturbió para descartar crecimiento bacteriano, ya que el extracto etanólico enturbió el medio antes de incubar, ya que contiene metabolitos primarios y secundarios, muy diferente de soluciones antibióticas que comúnmente se utilizan.
- Se tomaron 0.1mL del contenido de los tubos que no enturbiaron para verificar si hay inhibición de crecimiento (Tubo N°1, 2 y 3).

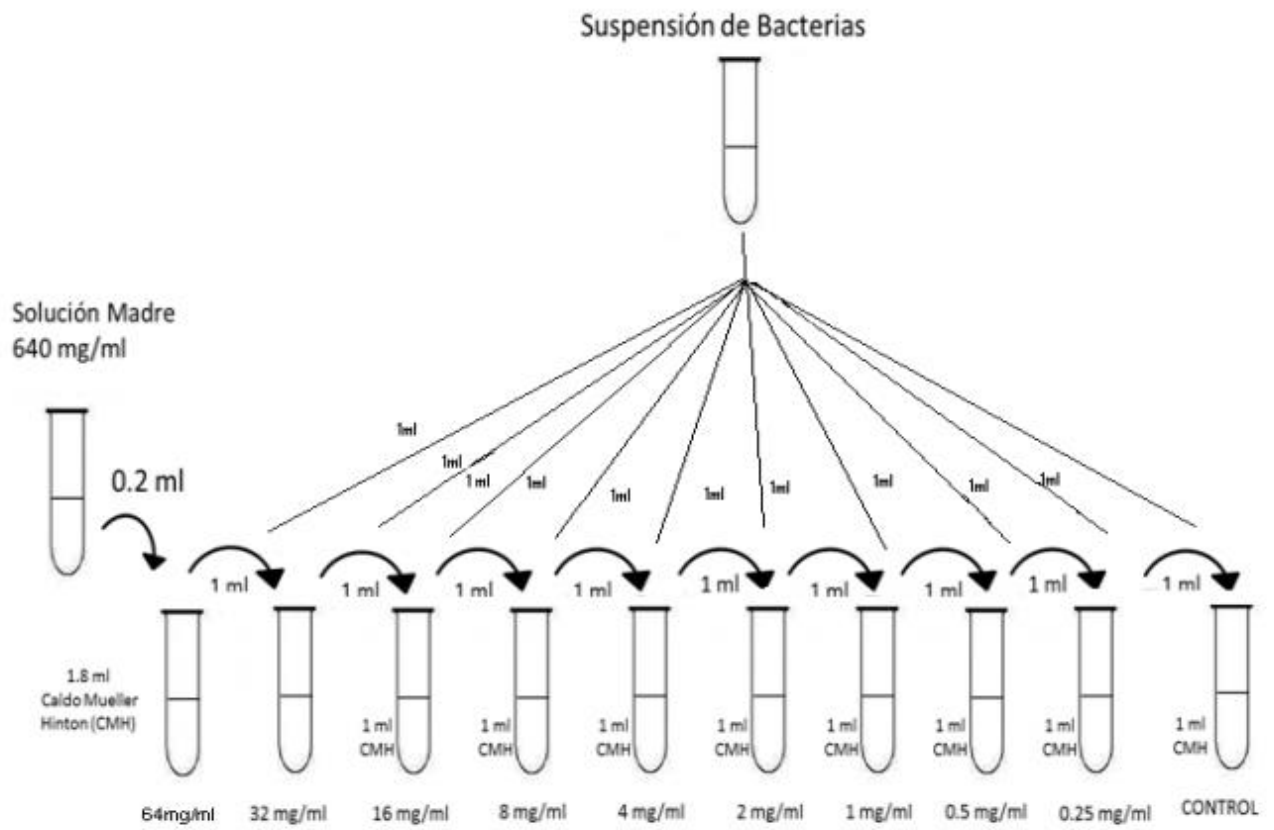


- Con la espátula de digralsky, expandimos por toda la placa los 0.1mL e incubamos a 37°C en un tiempo de 16 – 20 horas.



## Anexo 6

### Procedimiento del Método de Macrodilución en Caldo



## ANEXO 7

**Tabla 3. CMI del extracto hidroetanólico de *Sambucus peruviana* (sauco) frente a *S. mutans* ATCC N B**

Tratamientos	Número de tubo con su respectiva concentración del extracto hidroetanólico de <i>Sambucus peruviana</i> en ug/mL											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1.28	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	CI	CE
R1	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--
R2	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--
R3	--	--	--	+	+	+	+	+	+	+	+	--

-- = No se observa crecimiento del inóculo bacteriano

+ = Se observa crecimiento (Turbidez)

R1, 2 y 3 = Repeticiones con la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 26786

CI = Control de inóculo (*Streptococcus mutans* ATCC 26786)

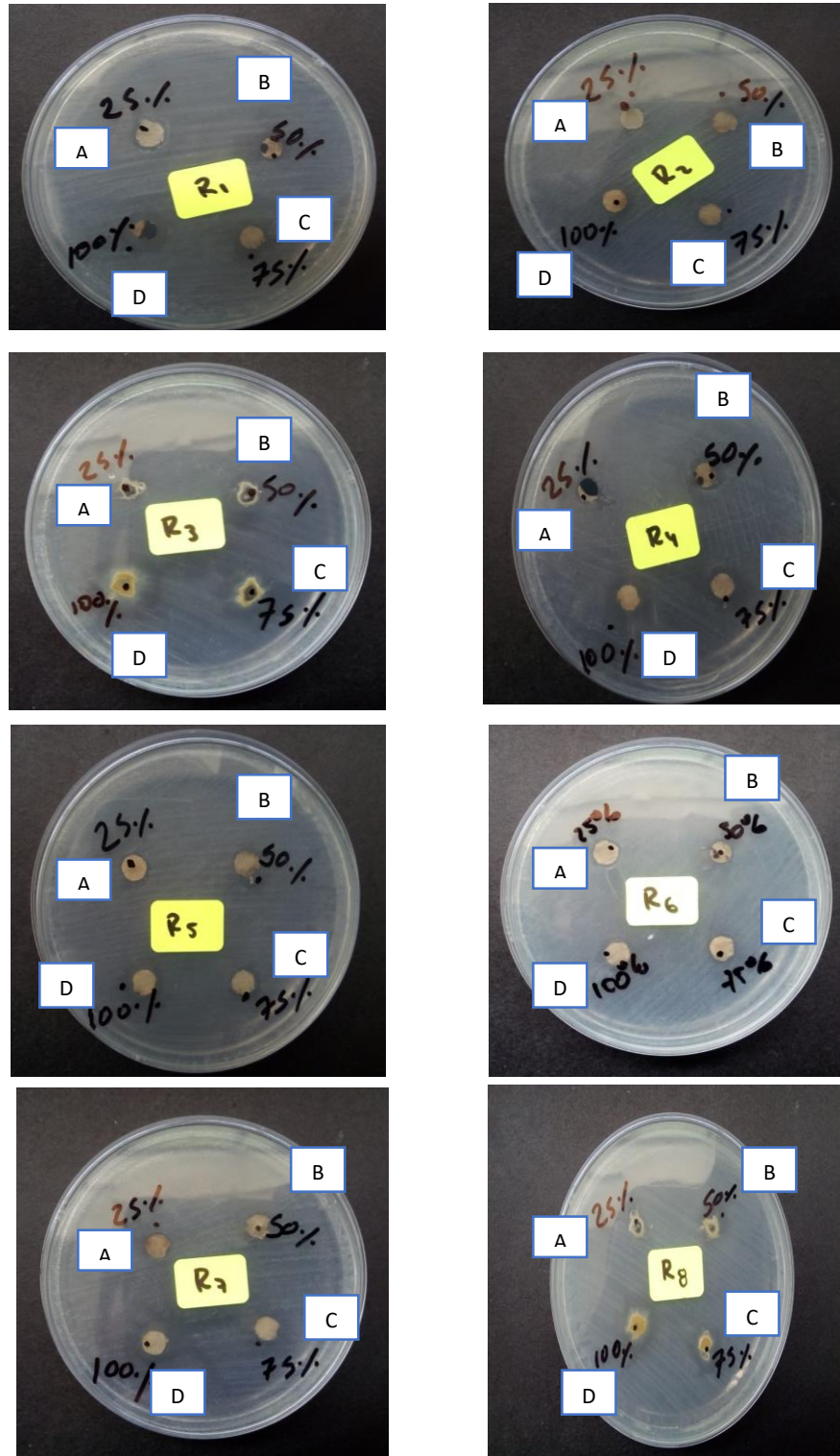
CE = Control de esterilidad

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 1: Se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC, con el método de discos de difusión en placa, obteniendo medidas en milímetro de halos de inhibición. En referencia al 25 % Se evaluaron los tubos que no presentaron turbidez después de la incubación a 37°C, observando que del tubo 1 al 3, tienen esas características, mientras los demás tubos si presentaron turbidez. La concentración mínima inhibitoria (CMI) alcanzada por *Sambucus peruviana* es de 0.32ug/ml (Tubo N°3).

## ANEXOS 8

### TRATAMIENTO PARA EL MÉTODO DE DISCOS DISUELTOS EN LAS CONCENTRACIONES EMPLEADAS



**Figura 2.**

Repeticiones de las concentraciones de extracto hidroetanólico de sauco empleando el método de discos donde A es la concentración 25%, B es 50%, C es 75% y D es 100%, junto a sus 8 repeticiones.

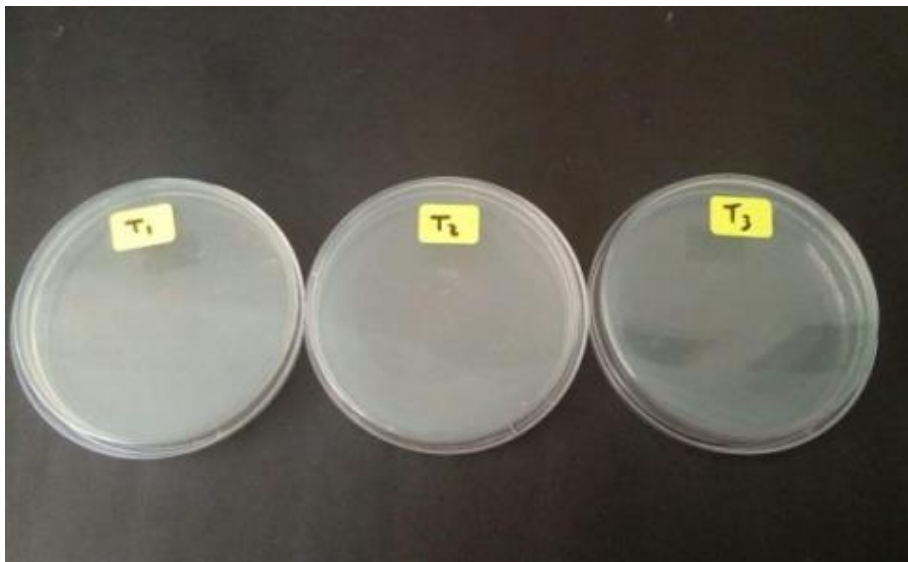
**Figura 3.**

**Serie de tubos con la concentración mínima inhibitoria.**



**Figura 4.**

**Placas de Petri sembradas de los tubos sin turbidez de la serie.**





**ANEXOS 9**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE “D DE COHEN”**

*Prueba “d de Cruhen” del efecto inhibitorio in vitro del extracto hidroetanólico de hojas de Sambucus peruviana (sauco) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans ATCC 25175.*

Datos								Media	Desviación estándar	f	p	D de Cohen
6	6	6	6	6	7	6	6	6,13	8,375	43,567	0,000	1,299
7	6	6	7	6	6	7	7	6,50				
7	7	7	8	7	7	8	7	7,25				
9	10	9	9	8	8	10	9	9,00				

**INTERPRETACIÓN:**

Se evaluó cuantitativamente el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con el método de serie de tubos en medio líquido, obteniendo transparencia en los tubos positivos para el efecto antibacteriano, mientras los tubos con turbidez se les considera negativos para esta prueba. Observando que del tubo 1 al 3, tienen esas características, mientras los demás tubos si presentaron turbidez. La concentración mínima inhibitoria (CMI) alcanzada por *Sambucus peruviana* es de 0.32ug/ml (Tubo N°3).

El análisis de la d de Cohen para el extracto hidroetanólico de sauco frente a *Streptococcus mutans*, se obtuvo halos de d 1,299, por lo tanto, se concluye que el sauco tiene efecto antibacteriano dependiendo de sus concentraciones. <sup>28</sup>