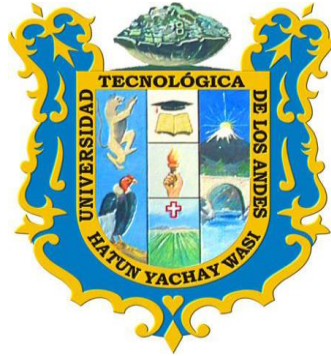


UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Profesional de Estomatología



TESIS

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALLIUM SATIVUM (AJO) AL 25%, 50%, 75%, SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN EL HOSPITAL TAMBOBAMBA. COTABAMBAS- 2020”.

Presentado por:

DANNY DENNIS SALDIVAR GONZALES

STEFANY MEDRANO KARI

Para optar el título profesional de:

CIRUJANO DENTISTA

Abancay – Apurímac - Perú

2022

Tesis

“Efecto Antibacteriano In Vitro del Extracto de Allium Sativum (ajo) al 25%, 50%, 75%, sobre cepas de Streptococcus Mutans en el Laboratorio del Hospital Tambobamba.Cotabambas – 2020”.

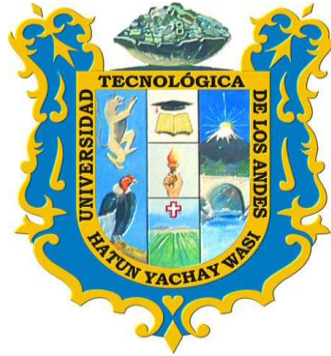
Línea de investigación:

Salud Publica Estomatologica

Asesor

Mg.CD. Mirella Pamela Tineo Tueros

PAGINA DE JURADOS



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALLIUMSATIVUM (AJO) AL 25%, 50%, 75%, SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN EL HOSPITAL TAMBOBAMBA.COTABAMBAS- 2020”.

Presentado por: **DANNY DENNIS SALDIVAR GONZALES y STEFANYMEDRANO KARI**, Para optar el título profesional de Cirujano Dentista:
CIRUJANO DENTISTA

Sustentado y aprobado el 27 de Octubre del 2021, ante el jurado.

Presidente: MG.CD. Kelly Malpartida Valderrama

Primer Miembro: MG.CD. Yorki Yino Vera Hurtado

Segundo Miembro: MG.CD. Sonia Margot Soria Serrano

Asesor: MG.CD. Mirella Pamela Tineo Tueros

DEDICATORIA

A Dios por brindarnos salud y fortaleza, a nuestras madres, familiares, amigos, que en todo momento nos dieron su apoyo, en los momentos más difíciles de este transcurso de investigación para alcanzar nuestros objetivos y convertirnos en grandes personas y profesionales.

A todos los Investigadores y docentes que ante esta nueva investigación creyeron en nosotros y fueron nuestra mano derecha, para restaurar, contribuir en el tratamiento de la caries.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio del Hospital Tambobamba, Cotabambas y aportar todas las facilidades para el desarrollo de la tesis.

Mag.Mirella Pamela Tineo Tueros, Maestrando Shirley Palomino Valverde, por haber difundido sus conocimientos, brindarnos la orientación y colaboración para culminar satisfactoriamente la realización de nuestra tesis.

Nuestro agradecimiento al Biologo Alex Manuel Chafloque Millones, por haber compartido su sabiduria, amistad, entrega, dedicación y comprensión.

A nuestros jurados por dedicarnos su espacio de tiempo para corregir nuestra investigación.

A las personas que coadyuvaron de una u otra manera para la culminación del trabajo de tesis, nuestros mas profundo agradecimiernto.

INDICE DE CONTENIDOS

PORTADA.....	i
POSPORTADA	ii
PAGINA DE JURADOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
INDICE DE CONTENIDOS	vi
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
ACRÓNIMOS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	xiii
CAPITULO I	1
PLAN DE INVESTIGACION	1
1.1.Descripcion de la realidad problematica	1
1.2.Identificación y Formulación del problema	3
1.2.1.Problema General.....	4
1.2.2.Problema Especifico	4
1.3.Justificacion de la Investigación	5
1.4.Objetivos de la Investigación	6
1.4.1.Objetivos Generales	6
1.4.2. Objetivo Especifico	6
1.5.Delimitación de la Investigación	7
1.5.1.Espacial	7
1.5.2.Temporal.....	7
1.5.3.Social	7
1.5.4.Conceptual.....	7
1.6.Viabilidad de la Investigación	8
1.7.Limitación de la Investigación	8
CAPITULO II. MARCO TEORICO.....	9
2.1.Antecedentes de la Investigación.....	9
2.1.1.A nivel Internacional	9
2.1.2. A nivel Nacional	13
2.1.3.A nivel regional y local	17
2.2.Bases teoricas.....	17
2.3.Marco conceptual.....	36
CAPITULO III.METODOLOGIA DE INVESTIGACION	40
3.1.Hipotesis	40
3.1.1.Hipotesis General	40
3.1.2.Hipotesis Especifico.....	41
3.2.Metodo	41

3.3. Tipos de Investigación	41
3.4. Nivel o alcance de Investigación	41
3.5. Diseño de Investigación	41
3.6. Operacionalización de variables	42
3.7. Población, muestra y muestreo.....	44
3.8. Técnica e instrumento.....	44
3.9. Consideraciones éticas	55
3.10. Procedimientos estadísticos.....	55
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	56
4.1. Resultados	56
4.2. Discusión de Resultados	56
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	81
Recursos	81
Cronograma de actividades	82
Presupuesto y Financiamiento	83
Presupuesto	83
Financiamiento.....	83
BIBLIOGRAFIA	
WEB-GRAFIA	
ANEXOS	
Matriz de consistencia	
Instrumento de recolección de dato	
Base de datos	
Juicios de expertos	
Evidencias	
Consentimiento y asentimiento informado	

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Extracto allium sativum(ajo) al 25 % en cepas de Streptococcus Mutans	57
TABLA 2.Extracto allium sativum(ajo) al 50 % en cepas de Streptococcus Mutans	60
TABLA 3.Extracto allium sativum(ajo) al 75 % en cepas de Streptococcus Mutans	63
TABLA 4.Efecto del extracto allium sativum(ajo) al 25 % en cepas de Streptococcus Mutans	66
TABLA 5.Efecto del extracto allium sativum(ajo) al 50 % en cepas de Streptococcus Mutans	69
TABLA 6.Efecto del extracto allium sativum(ajo) al 75 % en cepas de Streptococcus Mutans	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Allium sativum</i> (ajo).....	20
Figura 2. Metodo de extracción.....	23
Figura 3. Regla de Vernier.....	35
Figura 4. Obtención y purificación de extracto acuoso y etanolico	46
Figura 5. Dilucion de los diferentes extractos	47
Figura 6. Preparación de agar sangre	49
Figura 7. Cultivos de cepas de <i>Streptococcus mutans</i>	51
Figura 8. Preparación de agar Trypticase	52
Figura 9. Preparación de agar Mueller-Hinton	53
Figura 10. Siembra de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i>	54

ACRONIMOS

-**EtOH**: Etanol

-**H₂O**: Agua

-**CO₂**: Dioxido de Carbono

-**SM**: Streptococcus Mutans

-**mm**: Milímetro

-**H_a**: Hipótesis alternativa

-**H_o**: Hipótesis Nula

-**OMS**: La Organización Mundial de Salud

RESUMEN

En los últimos años la caries dental, daña a las poblaciones más vulnerables, causando daños irreversibles en el diente. **Objetivo:** determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de *Streptococcus Mutans* en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.**Material y método:** Los diversos extractos de *Allium sativum*(ajo) se experimentaron en concentraciones de 25%, 50%, 75%. Se realizó el método de Kirby Bauer y Mc Farlad, aplicando el antibiograma de *Allium sativum* (ajo) en 36 cepas. El diseño de investigación es de tipo experimental, enfoque cuantitativo, corte transversal. **Resultados:** Se sometieron a la prueba ANOVA y prueba de TUKEY. Para el análisis de varianza la concentración al 25% del extracto no tienen diferencias significativas a las 24, 36 y 48 horas en las muestras realizadas. Demostrando que el extracto de *Allium sativum* de concentración 50% y 75%, se evidenció actividad antibacteriana diferencia significativa a las 24, 36 y 48 horas. **Conclusiones:** La concentración de *Allium sativum* (ajo) al 25%, no presentan acción antibacteriana frente las cepas de *Streptococcus Mutans*, mientras que a 50% y 75% si se evidenció actividad antibacteriano significativa en las 24h, 36h y 48h.

Palabras clave: *Allium sativum* (ajo); Efecto antibacteriano, *Streptococcus Mutans*.

ABSTRACT

In recent years, dental caries harms the most vulnerable populations, causing irreversible damage to the tooth. **Objective:** to determine the antibacterial effect in vitro of the extract of *Allium sativum* (garlic) at 25%, 50%, 75% on strains of *Streptococcus Mutans* in 24h, 36h, 48h, in the Hospital Tambobamba, Cotabambas-2020. **Material and method:** The various extracts of *Allium sativum* (garlic) were tested in concentrations of 25%, 50%, 75%. The Kirby Bauer and Mc Farlad method was carried out, applying the antibiogram of *Allium sativum* (garlic) in 36 strains. The research design is experimental, quantitative approach, cross-sectional. **Results:** They were subjected to the ANOVA test and the TUKEY test. For the analysis of variance, the 25% concentration of the extract did not have significant differences at 24, 36 and 48 hours in the samples taken. Demonstrating that the 50% and 75% concentration of *Allium sativum* extract showed a significant difference antibacterial activity at 24, 36 and 48 hours. **Conclusions:** The concentration of *Allium sativum* (garlic) at 25% did not show antibacterial action against *Streptococcus Mutans* strains, while at 50% and 75% significant antibacterial activity was evidenced at 24h, 36h and 48h.

Keywords: *Allium sativum* (garlic); Antibacterial effect, *Streptococcus Mutans*.

INTRODUCCION

En la actualidad es mayor los procesos infecciosos microbianos que se encuentran en la cavidad bucal, se debe a los microorganismos usuales de la microbiota oral, se llegaron a aislar diferentes especies de los cuales resaltan, los cocos grampositivos, los cocos gramnegativos, los bacilos grampositivos, los bacilos gramnegativos y los hongos.¹

La ecología microbiana oral tiene una gran variedad de bacterias (streptococcus mutans), estas bacterias cumple un papel fundamental en la progresión de la caries dental.¹

La caries dental es una enfermedad de alto índice a nivel mundial, causado por una mezcla de patógenos como huésped, dieta y bacterias, principalmente como el streptococcus mutans que se adhiere al esmalte, y genera desintegración gradual de la dentina, cemento y pulpa dental, causando la destrucción total.²

La medicina moderna surge a través de nuestros antepasados con uso de plantas medicinales que experimenta un auge cada vez más creciente, debido a sus propiedades terapéuticas que buscaban aliviar sus dolencias o enfermedades mediante la medicina natural ya que eran efectivos, naturales y saludables.³

El *Allium sativum* “ajo” es el alimento con potencial antimicrobiano más usado en el mundo, teniendo beneficiosos de la planta, con cualidades medicinales, han sido investigadas desde los años cuarenta por Cavallito y Bailey en 1944, fueron los primeros en aislar el componente antibacteriano del ajo, identificando al compuesto como alicina o ácido diasulfónico, que tienen grandes características terapéuticas para diversas enfermedades.

CAPITULO I

PLAN DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad Problemática

La caries es un proceso infeccioso, multifactorial, producido por microorganismos como (*streptococcus mutans*) ocasionando la desmineralización y remineralización, caracterizado por la destrucción localizada y pérdida posterior del diente. Entre las bacterias que actúan en la patogénesis de la caries dental, se encuentran los Streptococcus del grupo Mutans (agente importante en la caries dental) Lactobacillus spp y Actinomyces spp.²

La Organización Mundial de Salud (OMS) en el 2004 comprobó un 60 a 90% en escolares y casi el 100% en adultos que tienen prevalencia de caries dental. La caries dental es un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, que causa el reblandecimiento del tejido duro del diente y que desarrolla la formación de una cavidad.⁴

La Federación Internacional Dental (FDI) en el 2010, halló un 44% de su población afectada a nivel mundial, que conlleva a casi la mitad de la población. Se determinó que la caries dental es más usual en la infancia y a partir de los 12 años de edad, los países con moderada prevalencia aproximadamente las 2/3 partes de las caries es mayor y no son atendidas. Según el Ministerio de Salud (MINSA) en el año 2017, en el Perú de cada 100 personas el 85% de niños y niñas menores de 11 años es afectado por caries dental, la falta de alimentación en niños, el mal uso del correcto cepillado y enjuague bucal.⁵

El porcentaje de caries en Apurímac en el año 2017 sigue siendo la región de mayor incidencia de caries dental en niños de 3 a 5 años con cifras que exceden el 98%,

la ausencia de visita del odontólogo y el poco interés de los padres de familia hacia el cuidado de los niños, desde la aparición del primer diente de leche.⁶

El desarrollo de microorganismos resistentes a sustancias antibacterianas es uno de los problemas a los que se enfrenta la odontología para el tratamiento y prevención de las enfermedades bucodentales.⁷

Ante esta realidad esta investigación busca afirmar la importancia del *Allium Sativum* (ajo), para demostrar que la alicina expone un extenso espectro de eficacia antibacteriana contra bacterias gramnegativas y gram-positivas como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Clostridium* y *Mycobacterium tuberculosis*. Para la cual debemos enfatizar la importancia de la medicina alternativa en diversas patologías bucodentales, sobre microorganismos cariogénicos de cepas de *Streptococcus Mutans*.⁸

El *Allium sativum* (ajo) corresponde a la familia de Liliáceas, la misma que cuenta con cuantiosas propiedades anticariógenas, ya que tiene una gran cantidad de alicina que es un principio activo muy importante para la eliminación de bacterias: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, entre otros. El ajo tiene diferentes compuestos, por consiguiente encontramos el agua, los carbohidratos, fibra hidrosoluble, compuestos azufrados, vitamina C y A, aminoácidos y minerales como potasio, fósforo, magnesio, sodio, hierro y calcio.⁹

Siendo el Ministerio de Agricultura y Riego quien reconoce la importancia del *Allium sativum* (ajo) y demás plantas medicinales en los sistemas de salud, exhortando a los estados y miembros a realizar estudios con plantas medicinales que se utilizan rutinariamente en la población para determinar aquello que tengan mayor efecto y que puedan ser utilizadas con fines de uso terapéutico.¹⁰

El propósito de este estudio es determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24, 36 y 48 horas. Existen mucha diversidad de estudios relacionados con los atributos de los productos extraídos de *Allium sativum* (ajo) y plantas medicinales, lo que hace que su búsqueda sea más relevante en odontología por su evidencia bactericida y bacteriostático frente a cepas de streptococcus mutans con distintos extractos de *Allium sativum* (ajo) con diversos compuestos, primordialmente la alicina y ajoeno.

1.2. Identificación y Formulación del problema

El enorme crecimiento de las enfermedades dentales es especialmente alto entre los países pobres y desfavorecidos, tanto en los países en desarrollo como en los modernos. Las enfermedades orales como la caries dentaria, la pérdida de dientes, la enfermedad periodontal, el daño de la mucosa oral, el cáncer de orofaringe son importantes problemas de salud pública en todo el mundo, el mal manejo de higiene bucal puede conducir a una mala calidad de vida teniendo un gran impacto.¹¹

Antiguamente personas de limitados recursos económicos usaban el ajo como un remedio para su dolencia dental, enfermedades y heridas. El ajo tiene propiedades antibacterianas, analgésicas, antifúngico potente, que ayuda a la acción bactericida ya que es una planta capaz de reducir o eliminar las colonias de streptococcus mutans del proceso infeccioso de la caries dentaria.¹²

La atención odontológica representa una potencial carga económica para diversos países con ingresos altos, donde el 5%-10% del gasto sanitario público guarda relación con la salud bucodental. La presente investigación busca encontrar la eficacia de la medicina herbolaria, en lo preventivo de la salud bucodental,

empleando el extracto de *Allium sativum* (ajo) como una alternativa terapéutica y a su vez preventiva, en particular beneficiando a la población de bajos recursos económicos.¹³

Su trascendencia clínica radica en el hecho de que actualmente se encuentra en alerta la resistencia microbiana a diversos fármacos utilizados para tratar infecciones y enfermedades bucales, que es un nuevo compuesto y tratamiento (medicina complementaria y fármacos nuevos) que pueden suprimir el crecimiento de los mecanismos de resistencia microbiana, especialmente los que tratan la caries y los problemas dentales.¹³

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h ,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020?
2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 50%, sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020?
3. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 75%, sobre cepas de streptococcus mutans 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020?

1.3. Justificación de la Investigación

El presente estudio buscó comprobar la eficacia de la medicina tradicional, alternativa en la prevención de la salud oral, aplicando el extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre la inhibición de cepas de streptococcus mutans y aportar información para una odontología de alternativa terapéutica y a la vez preventiva que beneficie a la población en especial a la de bajos recursos económicos.

A nivel teórico: El ajo tuvo un efecto antibacteriano, antiinflamatorio, analgésicas, lo cual ninguno de estas plantas medicinales ha demostrado potencial de riesgo para desarrollar caries dental. Lo cual resulta un amplio beneficio anticariógeno que es capaz de reducir el dolor dental o el mal aliento, en la prevención y la promoción de la salud oral.

A nivel metodológico: Tuvó que cumplir dos requisitos de viabilidad y credibilidad, que son medidos usando formulas estadísticas adecuadas que compruebe la eficacia del extracto de allium sativum. Así mismo se pondrá comprobar dicho efecto mediante pruebas de laboratorio estandarizados más precisa con el instrumento de vernier digital.

A nivel institucional: Favoreció en fomentar investigaciones más exhaustivas en los alumnos y docentes promoviendo así la práctica de investigación en el desarrollo de metodología de investigaciones especializadas.

A nivel personal: El presente trabajo permitió más investigaciones sobre el tema, tanto en lo práctica en el fortalecimiento de habilidades investigativas y uso de modelos estadísticos en salud bucodental.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Identificar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.
2. Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto *Allium sativum* (ajo) al 50%, sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.
3. Verificar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.

1.5. Delimitación de la investigación

1.5.1. Espacial

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio del Hospital Tabobamba del distrito de Tambobamba, Region de Apurimac del 2020.

1.5.2. Temporal

El desarrollo del presente proyecto de investigación se llevó acabo durante los meses comprendidos de setiembre y noviembre del año 2020.

1.5.3. Social

Se seleccionó las cepas de las bacterias del streptococcus mutans en el laboratorio del Hospital Tambobamba, sin hacer ninguna diferenciación de los distintas géneros de bacteria.

1.5.4. Conceptual

El presente estudio del extracto de allium sativum(ajo) se realizó en porcentajes de 25%,50%, 75% que fuerón estudiadas en efecto antibacteriano frente al streptococcus mutans en las 24, 36 y 48 horas en el Hospital Tambobamba.

1.6. Viabilidad de la Investigación

La presente investigación tuvo valor científico respectivo, cumpliendo los criterios necesarios como la viabilidad y credibilidad. Ya que contribuye en futuras investigaciones para el tratamiento de la caries dental, la investigación planteada contribuirá a reducir la caries dental con novedosos tratamientos basadas estudios con fundamentos odontológicos ya comprobados anteriormente.

A nivel social: Favoreció la reducción de caries dental en la población peruana, teniendo una gran población afectada por problemas de la caries dental y enfermedades periodontales.

A nivel económico: Benefició a la población reduciendo los costos de tratamientos comerciales que ofrecen y así favorecer a una buena calidad de vida.

A nivel técnico: El extracto de *Allium sativum* (ajo) demostró ser un producto de acción efectiva antimicrobiana a nivel de la caries dental sobre todo a nivel *Streptococcus mutans*.

1.7. Limitaciones

Existe la posibilidad que el efecto del *Allium sativum* (ajo) disminuya por el tiempo de transporte y modalidad de transporte de equipos, también al aplicar el tratamiento los resultados finales de la post-prueba, fueron afectados de alguna manera por 37 grados reproducción de *Streptococcus mutans*.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de Investigación

2.1.1 A nivel Internacional

Aranza, J; Zambrano, M. (2017), en su investigación que lleva como título “Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Universidad Central del Ecuador”, tuvo como objetivo: “determinar y comparar la efectividad antibacteriana del extracto de ajo blanco, ajo púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*”. Tuvo como diseño metodológico: diseño experimental, temporalidad prospectiva, in vitro comparativo, descriptivo. Resultados: No hubo diferencia significativa entre el ajo blanco y el ajo morado, el efecto antibacteriano máximo del ajo morado fue del 80%, en promedio 22,9 mm, y el efecto antibacteriano mínimo del 10%, en promedio 11,2 mm y llegando a la siguiente conclusión:

“Los extractos hidroalcohólicos del ajo blanco y el púrpura muestran efectividad antibacteriana similar, la clorhexidina al 0,12% presentó mayor efectividad sobre cepas de *Streptococcus mutans*”.¹⁴

Paternina, M; Villarreal, D; Herrera, A. (2016), en su investigación que lleva como título “efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* en *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*”, tuvo como objetivo: “evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de *Allium Sativum* sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*”. Tuvo como diseño metodológico: Experimental In vitro. Resultados: El *Allium sativum* mostró una MIC de 500ppm en ambas bacterias, demostrando acción bactericida y la siguiente conclusión:

“El extracto etanólico de *Allium sativum* mostró una actividad inhibitoria importante sobre *S. mutans* (ATCC25175) y *P. gingivalis* (ATCC33277) por consiguiente es recomendable seguir con investigaciones sobre estas plantas.”¹⁵

Tatiana, A. (2016), en su investigación que lleva como título “actividad antimicrobiana de extractos de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de cavidad oral”, tuvo como objetivo: “determinar la actividad antimicrobiana de extractos de *Allium sativum* y *Zingiber officinale*, sobre microorganismos de importancia en cavidad oral”. Tuvo como diseño metodológico: Experimental, prospectiva, in vitro comparativo. Resultados: Analizando los resultados conseguidos en la marcha fitoquímica que se produjo a los extractos de “*Allium sativum* y *Zingiber officinale*”, se demostraron pruebas positivas de Rosenhein para los extractos acuosos y etanólico del ajo, señalando la presencia de Flavonoides, que tiene acción antimicrobiana frente a los microorganismos por formar complejos con las proteínas solubles y extracelulares de la pared bacteriana, semejante a las quinonas, degradando la membrana citoplasmática y comprobando la siguiente conclusión:

“El extracto etanólico de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* tuvo acción antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* a una concentración de 280 mg/ml. El extracto acuoso de *Allium sativum* mostro actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*,

Enterococcus faecalis y Escherichia coli a una concentración de 150 mg/ml".¹⁶

Gegunde, A. (2016), en su investigación titulado "Evaluación de la capacidad antimicrobiana de dos productos naturales, el ajo y la miel", sostuvo como objetivo: "Efectos antimicrobianos de dos productos naturales, como son el ajo y la miel". Tuvo como diseño metodológico: Experimental in vitro, Observacional. Resultados: El añadir diferentes concentraciones de extracto de ajo inhibió significativamente ($p < 0.05$) el crecimiento de Escherichia coli con las concentraciones ensayadas tanto a las 24h como a las 48h de cultivo. El agregar distintas agrupaciones de extracto de ajo al medio de cultivo, inhibió significativamente ($p < 0.05$) el crecimiento de Streptococcus aureus con todas las concentraciones ensayadas a las 24h y 48h de cultivo. La adición de distintas concentraciones de extracto de ajo al medio de cultivo, inhibió significativamente ($p < 0.05$) el crecimiento de Salmonella sp con todas las concentraciones ensayadas tanto a las 24h y 48h de cultivo; el test ANOVA corrobora estas diferencias significativas ($p < 0.05$) en el crecimiento de los cultivos tratados con extracto con respecto a la muestra control, tanto a las 24 y 48 horas. El test de Tukey muestra que la concentración de extracto a la que producen disimilitud significativa en el control que es de 4 mg/ml en los dos tiempos de medida 24 y 48 horas, y llegando la siguiente conclusión:

"El extracto presentó eficacia antimicrobiana de amplio espectro, teniendo efecto inhibitorio en todos los tipos de microorganismos

estudiados: dos bacterias gram positivas, dos gram negativas, una micobacteria y un a levadura”.¹⁷

Yaguana, C. (2015), en su investigación titulada “evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (culantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar Bauer-Kirby, sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica serovar typhi y *Salmonella* entérica serovar choleraesuis; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina”, tuvo como objetivo: “comprobar si los extractos acuosos de *Allium sativum* y *Coriandrum sativum* presentan una actividad antibiótica significativa frente a cepas bacterianas, mediante el uso de pruebas de sensibilidad in vitro, para así proponer, con pruebas concretas, su uso como una posible alternativa a los antibióticos comerciales”. Sostuvo como diseño metodológico: Experimental in vitro. Resultados: El estudio muestra que para conseguir diámetros de halos de inhibición semejantes a los alcanzados con el antibiótico gentamicina, se utilizó concentraciones del extracto superiores 250 mg/mL, también demuestra que la mayor actividad antibiótica se produce cuando el extracto de ajo es sometido a una temperatura de 35°C durante 10 minutos, llegando a la siguiente conclusión:

“Las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* Meticilino, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* BLEE y

Escherichia coli ATCC 25922 surgen ser perseptible al extracto de ajo".¹⁸

2.1.2 A nivel Nacional

Calisaya, S; Coaquira, N. (2018), en su investigación titulado "Efecto inhibitorio del extracto de ajo (allium sativum) vs té verde (camelia sinensis) sobre streptococcus mutans a las 24 y 48 horas. Universidad Nacional del Altiplano", comprende como objetivo: "determinar la efectividad inhibitoria del extracto de Ajo (Allium Sativum) vs Te verde (Camelia Sinensis) sobre cepas de Streptococcus Mutans a las 24 y 48 Horas". Tuvo diseño metodológico: Cuasi experimental, explicativos, longitudinal, analítico. Resultados: El Allium Sativum "ajo" y Te verde "Camelia Sinensis" posee efecto inhibitorio in vitro. El mayor efecto fue registrado por el extracto de Allium Sativum "ajo" al 100% a las 24 horas con un promedio de 15.67mm de halo inhibición frente al Té verde "Camelia Sinensis" al 100% a las 24 horas tuvo un promedio de 14.18mm de halo de inhibición y demostro la siguiente conclusión:

"El extracto de Ajo (Allium Sativum) tiene mayor efecto inhibitorio frente al streptococcus mutans en relación al Té verde (Camelia Sinensis) a las 24 como 48 horas".¹⁹

Orbegoso, K. (2018), en su investigación titulado "efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de Allium sativum (Ajo) frente a Cándida albicans", tuvo como objetivo: "determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de Allium sativum frente a Cándida albicans". Tuvo como diseño metodológico: diseño

experimental, cuantitativo y de corte transversal. Resultados: Se analizó el extracto acuoso a concentraciones de 22 mg/ml y 44 mg/ml para los grupos experimentales, como control estándar al Fluconazol (25µg /disco). Al examinar la sensibilidad se realizó el método de disco difusión, Kirby – Bauer para medir los halos de inhibición, encontrados a las 24 horas en los distintos grupos, a una concentración de 22 mg/ml (32.40 mm), a 44 mg/ml (37.82 mm) y para el control estándar (25.31 mm), fueron expuestos a la prueba ANOVA, Prueba T- STUDENT y concluyendo lo siguiente:

“El extracto acuoso de 44 mg/ml de los bulbos de *Allium sativum* demostrando efecto antimicótico frente a *Cándida albicans*”.²⁰

Olivera, C; Principe P. (2018), en su investigación titulada “extracto etanólico de *Desmodium Molliculum* (kunth) dc, y su propiedad antibacteriana sobre cultivos de *escherichia coli*, estudios in vitro”, tuvo como objetivo: evaluar el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* “Manayupa” y su influencia en la acción antibacteriano en los cultivos de *Escherichia coli*, estudios in vitro. Tuvo como diseño metodológico: Experimental, observacional, transversal, de enfoque cuantitativo. Resultados: Las diferentes concentraciones del extracto de “*Desmodium molliculum*”, se realizaron al 25%,50%,75% y 100%. Comprobando que el extracto etanólico a concentraciones de 25% y 50%, no obtienen acción antibacteriana. A diferencia del 75% y 100% se comprobó actividad antibacteriana importante. Se comprobó mejores resultados en

la medición de los halos de inhibición a lo largo de todos el procedimiento comparado con el control positivo y llegando a la siguiente conclusión:

“En las condiciones experimentales ejecutadas se comprobó que el extracto etanólico en las concentraciones de 75% y 100% si posee efecto antibacteriano e intervienen en los cultivos de *Escherichia coli*”.²¹

Martínez, J; Chávez, O. (2017), en su investigación titulada “efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso del ajo (*Allium sativum* L.) y del extracto etanólico de las hojas de carqueja (*Baccharis trímpera* L.) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4”, tuvo como objetivo: “determinar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Allium sativum* L (ajo) y del extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trímpera* L.) en cepas de *Escherichia coli* 0104:H4 a diversas concentraciones”. Tuvo como diseño metodológico: Experimental, longitudinal. Resultados: En el estudio se comprobó que el extracto acuoso de Ajo (*Allium sativum* L.) al 20 % determinó 10.2mm de halo de inhibición, el extracto etanólico de las hojas de Carqueja “*Baccharis trímpera* L” al 20% determinó 2.2mm de halo de inhibición, el efecto Sinérgico antibacteriano de ambas plantas al 20% presentó 17.8mm de halo de inhibición frente a dicha bacteria mientras que el grupo control tuvo 19.20mm de halo de inhibición y demostrando la siguiente conclusión:

“Se dispone que el extracto acuoso del Ajo (*Allium sativum* L.) demuestra efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de *Escherichia*

coli O104:H4 en concentraciones de 15 y 20% y el extracto etanólico de las hojas de Carqueja (*Baccharis trimera* L.) en las concentraciones de 2, 5, 10, 15 y 20% no comprueban actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Escherichia coli*".²²

Salazar, L. (2014), en su investigación que lleva como título "efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L. "ajo" sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923", tuvo como objetivo: "determinar el efecto antimicrobiano de los diferentes extractos de *Allium sativum* "ajo"; extractos acuosos, etanólico y metanólico sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC 25922 y de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923". Tuvo como diseño metodológico: Experimental, in vitro, comparativo. Resultados: El efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de *Allium sativum* L "ajo", que se obtuvieron por maceración del extracto puro de ajo con los solventes etanol y metanol. Los diferentes extractos de *A sativum* obtenidos, se ensayaron en concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 % y llegando a la siguiente conclusión:

"Los extractos acuosos, etanólico y metanólico de "*Allium sativum*" en las concentraciones de 25 %, 50%,75 %, 100 %, demostraron efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923."²³

2.1.3. A nivel regional y local

En el ámbito regional y local, no se encontró investigaciones relacionadas con procesos in vitros del extracto de *Allium sativum* "ajo", sobre cepas de Streptococcus Mutans. Haciendo la presente investigación de gran importancia en las ramas de investigaciones experimental en la Carrera de Estomatología.

2.2. BASES TEÓRICAS

ALLIUM SATIVUM (AJO)

El ajo, procedente del centro y sur de Asia desde donde se propagó al área mediterránea y de ahí al resto del mundo, se cultiva desde hace miles de años. Unos 3.000 años A. C. ya se consumía en la India y en Egipto. A finales del siglo XV los españoles introdujeron el ajo en el continente americano.⁹

El ajo (*Allium sativum*) pertenece a la familia de Liliáceas, la misma que cuenta con múltiples propiedades como, por ejemplo: Efecto anticoagulante, disminuye la presión sanguínea, mantiene en buen estado el sistema circulatorio, su consumo previene las trombosis. Su principio activo más importante es la aliina, que posee efectos antibacterianos.²⁴

El ajo crudo demostrado su efectividad que cualquier pasta dental, ya que además de quitar el mayor sabor y amargo de boca, destruye las bacterias, microbios que en ella se alojan en la superficie dental. El ajo estimula la secreción salival, incrementa la acción fermentadora de la saliva y ayuda a la buena digestión de los alimentos. Cuando el bulbo del ajo es triturado o partido, la aliina se hidroliza por la allinasa produciendo allicina

(responsable del olor característico del ajo), que se transforma rápidamente en disulfuro de alilo.²⁵

El bulbo de ajo, 100gramos de ajo contiene una elevada proporción de agua (58%). El ajo tiene distintos componentes, entre ellos, se encuentran el agua y los carbohidratos como la fructosa, compuestos azufrados, fibra y aminoácidos, contiene altos niveles de vitamina C y A y bajos niveles de vitaminas del complejo B.²⁶

Así mismo, posee un alto contenido de compuestos fenólicos, polifenoles y fitoesteroles. En cuanto a los minerales, tiene niveles importantes de potasio, fósforo, magnesio, sodio, hierro y calcio. También, presenta contenido moderado de selenio y germanio, pero la concentración de estos minerales va a depender del suelo donde crecen los bulbos.²⁶

El *Allium sativum* (ajo) posee alrededor de 33 elementos azufrados, diversas enzimas, uno que otros minerales que favorecen a su capacidad antimicrobiana y 17 aminoácidos. De la totalidad de los grupos de Allium, este es el contiene la mayor cantidad de los componentes azufrados, lo cual le da una capacidad antimicrobiana bastante potente.²⁷

El extracto de *Allium sativum* (ajo) es una sustancia que se obtiene de triturar los bulbos de ajo, es uno de los aceites más puros, debido a que no sufre otro tratamiento para su obtención y del cual se pueden aprovechar todas sus propiedades, para tratar afecciones como la gripe, fiebre y resfriado.²⁴

Clasificación del ajo (*Allium sativum*)

DOMINIO	Eukarya
REINO	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Liliopsida
ORDEN	Asparagales

FAMILIA	Amaryllidaceae
SUBFAMILIA	Allioideae
GÉNERO	Allium
ESPECIE	Allium sativum

Fuente: Ñahuincopa.2017.

Morfología de Allium sativum (ajo)

- a) Sistema radicular: Compuesto de 6 a 12 bulbillos “dientes de ajo”, que se reúnen en la base una lámina delgada, formando la ya conocida “cabeza de ajo”. Cada bulbillito está envuelto por una túnica blanca, que son a veces algo rojizo, membranoso, transparente y muy delgado, similar a las que cubren todo el bulbo.⁹
- b) Tallos: El crecimiento es fuerte cuando se trata de tallos rastreros que dan a la planta un porte abierto o de crecimiento indeterminado cuando son erectos y erguidos, alcanzando hasta 84 centímetros de altura. Dependiendo del tipo de plantación, se suelen dejar de 2 a 4 tallos por planta.⁹
- c) Hoja: Largas, alternas, radicales, comprimidas y aparentemente sin nervios.⁹
- d) Tallo floral: Se distingue por el centro de las hojas. Crece desde 40 cm a más de 55cm.⁹
- e) Flores: Portadores de pediculos cortos de una espata membranosa que se abre longitudinalmente en el momento de la floración y cada flor presenta 6 pétalos blancos, 6 estambres y un pistilo.⁹

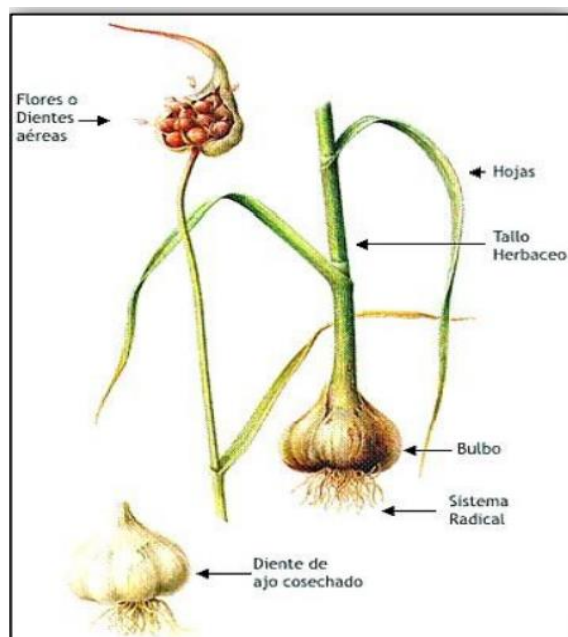


Figura 1: El ajo y sus partes

Fuente: Allium crop science, Fritsch & Friesen, 2002.

Composición

Se encuentra formada por los siguientes elementos:

1. Sulfóxido (2,3 %), procedente de la alilcisteína como aliinas (alilaliina, propenilaliina y metilaliina), aceites esenciales (0,2-0,3 %) como la garlicina o el sulfóxido de alilcisteína del bulbo intacto.
2. Polisacáridos homogéneos. Fructosanes (hasta un 75 %)
3. Saponinas triterpénicas (0,07 %), vitaminas (A, B1, B3, B6, C) y adenosina.
4. Sales minerales (2 %): hierro, sílice, azufre y yodo.²⁸

Propiedades terapéuticas del *Allium sativum*

a) Propiedades antibacterianas

Se ha demostrado que *Allium sativum* (ajo) es eficaz contra bacterias Gram positivas, Gram negativas y resistentes a los ácidos. También contiene *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Escherichia*

coli, que tiene un efecto inhibitor diferente entre enterobacteriaceae y enterobacteriaceae e inhibe los estreptococos.²⁹

b) Propiedades antifúngicas

Se ha demostrado que varios hongos son sensibles, incluidos Candida, Cryptococcus, Aspergillus, Torropsis, Trichophyton, Trichosporon y Rhodotorula. "Ajo" Allium savitum ayuda a nutrir el cuerpo, sintetiza lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, las muestras de alicina pura han demostrado tener propiedades antifúngicas.³⁰

c) Propiedades antiprotozoarias

Varios análisis han demostrado que el "ajo" Allium sativam es eficiente contra un gran número de protozoos como amebiasis, tripanosoma, leishmania, leptomonas y critidios.³¹

d) Propiedades antivirales

Muy pocos estudios han demostrado las propiedades antivirales de "Allium sativam (ajo)" y han mostrado actividad in vitro contra los virus de la influenza A y B, VIH, virus del herpes simple 1 y 2, rotavirus y neumonía viral. Varias enfermedades infecciosas.³⁰

Beneficios

1. Es bueno para resfriados y afecciones pulmonares
2. Es un potente antibiótico, disminuye el daño hepático que provoca el alcohol.
3. Evita la osteoarthritis de cadera

4. Mejora la circulación de la sangre del cuerpo
5. El ajo previene la hipertensión y colesterol alto .³⁰

Indicaciones

1. Edemas, oligurias; congestión de los órganos pelvianos en la mujer y próstata en el hombre.
2. Enfermedades infecciosas; convalecimiento y astenia.
3. Alteraciones cardiacas; hipertensión y arteriosclerosis.
4. Diabetes, reumatismo.
5. Nerviosismo, insomnio y depresión.
6. Obesidad y celulitis. ³⁰

Reacciones adversas

- a) Puede provocar dermatitis de contacto.
- b) Puede causar desagradable aliento o fetido olor corporal.
- c) Incomodidad gastrointestinal (pirosis, náuseas, vómitos o diarrea).
- d) Al inhalar el polvo de ajo puede provocar ataques asmáticos. ³¹

Extractos

El extracto son preparados concentrados de consistencia sólida, líquida, derivados generalmente de material vegetal desecado, se obtienen de sustancias biológicamente de los tejidos de las plantas o de origen animal, al evaporar parcial o totalmente el disolvente por un proceso de extracción adecuado .³²

Técnicas de extracción

Se obtienen extrayendo de aceites de las flores, frutas, raíces y plantas, mediante estas técnicas:

- a) Prensado; cuando el aceite es abundante y fácilmente disponible, como la ralladura de limón.
- b) Absorción; se da especialmente por infusión con alcohol.
- c) Maceración; contacto entre el líquido de la droga vegetal con el líquido extractor, por un periodo determinado.
- d) Destilación; técnica de separación de sustancia que permite separar los distintos componentes de una mezcla.³²

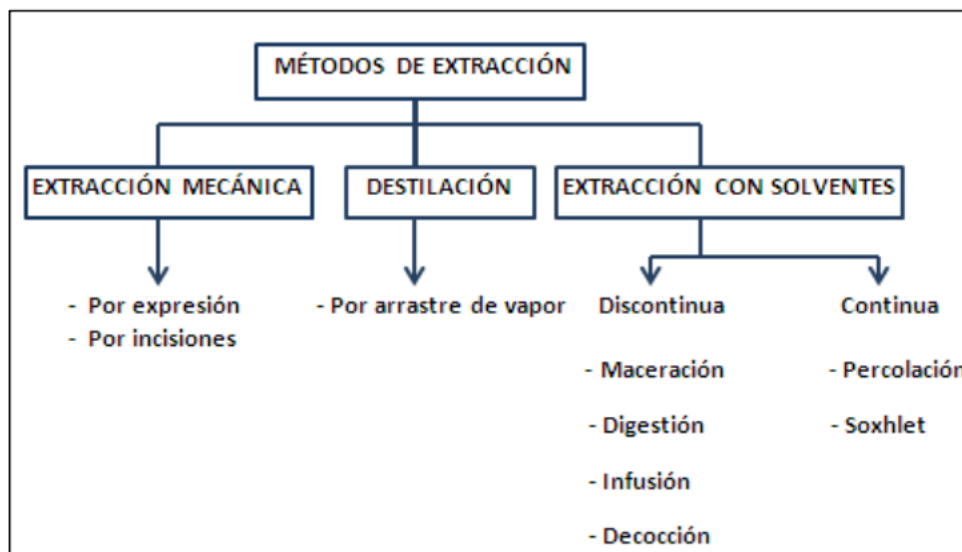


Figura2: Método de extracción

Fuente: Lamerque J. Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica,2008.

Características de los extractos

Las diferentes representaciones específicas de los extractos son:

- a) El extracto bien realizado es de color oscuros; cuando han sido preparados al vacío, levemente más claro.
- b) Algunos son de color café amarillento, rojizos; los extractos que provienen de hojas son verdosas debido a la clorofila.
- c) Su apariencia es liso, fino y homogéneo.

- d) Su olor y sabor son propiedades características de la materia prima que les ha dado su origen y adquieren olor a caramelo o confitura poco conocida.
- e) La solubilidad de los extractos de *allium sativum* (ajo) es voluble y tiene relación directa con el modelo de preparación sometidos y tipo de ajo con el cual se va trabajar.
- f) El extracto acuoso es enteramente soluble en agua y crean una solución transparente, a veces son ligeramente turbia, debido a que han sido preparados con anterioridad.
- g) Los extractos alcohólicos son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte tienen un excelente índice de disolución.³¹

Forma de Administración

1. **Aromaterapia:** Mediante un difusor se añade unas gotas en agua caliente para inhalar el vapor. Es una de las formas más seguras de hacer uso de los aceites de los extractos.
2. **Vía tópica:** Se aplica directamente sobre la piel lo cual ayuda a tratar lesiones, acné, revitaliza la piel, hidratante de labios, previene la caída del cabello.
3. **Ingeridos:** Determinados extractos no logran ser tóxicos y podrían utilizarlos como aditivo para los alimentos. Es importante tener la precaución antes de consumir un extracto, es preferible consultar con un médico.³²

Precauciones

- a) Cabe señalar que la mayoría de los extractos no pueden ser aplicados en su concentración pura directamente sobre la piel, ya que están altamente concentrados y pueden dañar la piel.
- b) No realizar la mezcla con medicamentos anticoagulantes.
- c) Evitar aplicar el extracto de ajo sobre el ojo, oídos y otras zonas sensibles del cuerpo.

STREPTOCOCCUS MUTANS

Es una bacteria anaerobia facultativa Gram-positiva, a-hemolítico o no hemolítico, dispuesta en cadena, no móvil y produce rápidamente ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en aproximadamente 24 horas y participa en la formación de la placa dental o biopelícula que se forma sobre el esmalte de los dientes.³⁵

Son cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos o largas, los cuales miden de 0,5 a 0,8 μm de diámetro, anaerobios facultativos, comprenden parte de la flora microbiana residente de la cavidad oral y vías respiratorias altas, son patógenos oportunistas en enfermedades sistémicas y la endocarditis infecciosa.³⁶

Estos microorganismos pueden producir ácidos y polisacáridos que parten de los carbohidratos que consume el individuo, lo que son importantes porque los polisacáridos les permiten adherirse a la placa bacteriana y el ácido es capaz de desmineralizar la capa de esmalte de la pieza dentaria, formando caries dental.³⁶

Streptococcus mutans es un microbio no móvil que más se concentran en las fosa y fisuras adaptándose bien a su ambiente, estas bacterias desarrollan en cadenas o pares, donde cada división celular ocurre al largo de un eje como una cadena.³⁷

Colonias de streptococcus mutans según el diámetro en niños de 6 a 12 años en comparación con adultos y adulto mayor, según estudios y pruebas de saliva no se encuentran disimilitud elocuente en las cantidades de streptococcus mutans en los niños, adultos, adulto mayor y así mismo no existieron comparación de sexo (masculino – femenino) por lo cual el resultado fue lo mismo.³⁸

Taxonomía:

Reino:	Bacteria
Clase:	Bacilli
Familia:	Streptococcaceae
Género:	Streptococcus
Especie:	Streptococcus Mutans

Fuente: Camere, R.2015.

FACTORES DE VIRULENCIA

Acidogenicidad	El Streptococo Mutans descompone los azúcares de la dieta para crear ácido láctico como efecto final del metabolismo. Por lo tanto baja el pH y se desmineraliza el esmalte dental.
----------------	---

Aciduricidad	Facultad de crear ácido en un medio con pH bajo.
Acidofilicidad	El Streptococo Mutans tiene la capacidad de soportar la acidez del medio bombeando protones (H +) fuera de la célula.
Síntesis de glucanos y fructanos	Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se crean los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa.
Síntesis de polisacáridos	Sirven como provición alimenticia y mantienen la producción de ácido en largos períodos aún en la falta de consumo de azúcar.
Producción de dextranaza	Mover las reservas de energía, regula la actividad de las glucosiltranferasas mezclando productos finales de glucano.

Fuente: Duque de Estrada, J; Perez Quiñones, A. 2006.³⁵

Efecto antibacteriano

Son propiedades de sustancias capaces de eliminar agentes bacterianos e inhibir su crecimiento y proliferación sin ocasionar daño del huésped. Estos incluyen medicamentos como antibióticos y otras sustancias químicas que tienen la capacidad de atacar estos órganos.³⁹

Tipos de efecto bacteriano

Existiendo tres tipos de acciones antibacterianos sobre las bacterias:

- a) Acción bacteriostática: Inhibe el crecimiento de microorganismos, pero las células bacterianas no mueren.

- b) Acción bactericida: los agentes destruyen la bacteria, pero no las descomponen ni las disuelven.
- c) Acción bacteriolítica: los agentes ocasionan la muerte microbiana y producen lisis a las células que componen el medio.³⁹

Asociación entre caries dental y Streptococcus Mutans

La cariogenicidad total de la biocomunidad de la placa dental (biopelícula dental), es importante entender el rol que juegan especies bacterianas específicas en la progresión de la caries dental.³⁸

En los humanos, durante los primeros años de vida, los microorganismos cariogénicos colonizan la biopelícula dental, estos microorganismos pueden proliferar induciendo el inicio de la enfermedad.⁴⁰

Cuando analizamos la progresión de una lesión de caries podemos identificar diferentes estadios o etapas de avance. La primera etapa clínicamente visible corresponde a la lesión inicial observada a nivel macroscópico como una mancha blanca y la etapa más avanzada es observada como una cavidad profunda, con dentina expuesta, que puede extenderse hasta la pulpa.⁴⁰

Por otra parte, la identificación bacteriana, señalaron la presencia de Streptococcus mutans en todas las lesiones de caries profundas examinadas, indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries.³⁸

La predisposición de algunas personas a sufrir más episodios de caries que otras tiene que ver con múltiples factores: la mala higiene bucal, la presencia

de microorganismos cariogénicos y el abuso de alimentos ricos en sacarosa. Estos factores influyen en el desequilibrio de la microbiota oral, donde se exagera la población de streptococcus mutans en la microbiota oral de los seres humanos y representa el 39% del total de la bacteria.⁴¹

Se estimó una pequeña parte de la flora cultivable Streptococcus Mutans en las áreas profundas de dentina cariada. La presencia de lesiones de caries profunda, pero en menos cantidades, así como diferentes géneros de Streptococcus salivarius, Streptococcus parasanguinis y Streptococcus constellatus, las cuales se encuentran asociadas con lesiones de caries profunda de caries.⁴¹

Las especies microbianas predominantes como la bacteria Streptococcus Mutans se proliferan en diferentes partes de la cavidad bucal de acuerdo al sitio de localización, según la cantidad de población bacteriana:

Localización de streptococcus mutans en la cavidad bucal

BACTERIA	PLACA	LENGUA	SALIVA	SURCO
Streptococcus Mutans	(0-50)	(0-1)	(0-1)	(0-30)

Fuente: Elaboración propia

Caries dental

La caries dental es una enfermedad multifactorial que afecta gravemente a los tejidos de los dientes, mediante un proceso que hacen los microorganismos produciendo un ácido que desgaste el esmalte y así ataque directamente al diente.²

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido la caries dental como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y que evoluciona hasta la formación de una cavidad. Si no se atiende oportunamente, afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos de todas las edades.⁴

Las bacterias fabrican ese ácido a partir de los restos de alimentos de la dieta que se les quedan expuestos, asociándose a errores en las técnicas de higiene, falta de cepillado dental, o no saber usar bien los movimientos del lavado bucal, ausencia de hilo dental.⁴²

La caries normalmente empieza de manera oculta a la vista en las fisuras del diente o en los espacios interdentes. En su estadio inicial puede ser detenida e incluso revertida, pero en su fase avanzada se forma una cavidad.⁴³

Fisiopatología de la caries

Los ácidos en la placa dañan el esmalte que cubre los dientes creando orificios dentales. Las lesiones que se generan progresan desde una simple pérdida mineral superficial, hasta una cavidad franca y evidente. Cuando el equilibrio se rompe, nos encontramos ante una lesión de superficie en el esmalte, que en este estadio puede ser revertido en lesión de caries inicial, lesión incipiente, lesión cariosa no cavitada.²

Cuando el proceso continúa con un desbalance entre la mineralización y la remineralización, se produce la cavidad que penetra en niveles más

profundos del esmalte y la dentina llegando así a la pulpa, ocasionando una necrosis pulpar de no ser tratado conlleva a una pérdida del diente.²

Principales microorganismos implicados

1. Streptococcus mutans
2. Streptococcus sobrinus
3. Streptococcus mitis
4. Streptococcus sanguinis
5. Streptococcus oralis
6. Actinomyces viscosus
7. Lactobacillus acidophilus⁴⁵

Causas de la caries dental:

- a) Higiene oral deficiente
- b) Dieta rica en azúcares.
- c) La destrucción continua, causas hereditarias y genéticas.⁴⁵

Signos y Síntomas de la caries:

A medida que la lesión cariosa aumenta provoca diferentes signos y síntomas, como los siguientes:

1. Suceptibilidad en los dientes
2. Aflicción leve o agudo cuando bebes o comes alimentos alto en azúcar, caliente o frío.
3. Cambio de coloración de la superficie del diente.⁴⁵

Manifestaciones clínicas

- a) Caries dental leve: Si el esmalte es afectado, en su inicio es un proceso lento, pero una vez el esmalte ha sido afectado todo se acelera y que llegue a la parte de la dentina es más rápido.
- b) Caries dental moderada: Si la caries ha llegado a la dentina y ha generado fisuras en la pieza dental, por lo tanto, será la causa de una sensibilidad dental.
- c) Caries dental severa: Si la caries afecta a la raíz o al nervio y es un proceso que puede conllevar mucho dolor dental. La pieza dental puede llegarse ver muy afectada y por tanto se precisa un tratamiento rápido para no perderla.⁴⁵

Consecuencias de la caries dental

1. Pulpitis
2. Sensibilidad
3. Absceso dental
4. Perdida de la dental
5. Mala higiene bucal⁴⁶

Mecanismos de Contagio

El contagio de la boca del niño, por bacterias cariogénicos provenientes de la saliva de los adultos, especialmente la madre, se produce principalmente al erupcionar las piezas dentarias entre los 6 y los 24 meses y entre los 6 y 11 años del niño, coincidiendo con los períodos de aparición de las piezas dentarias en la boca. ⁴⁵

El mecanismo de contagio entre madre e hijo, se produce cuando ésta comparte los cubiertos con su hijo, usa el mismo cepillo dental, lo besa en la boca o prueba la temperatura de la mamadera con su boca o simplemente, lava el chupete de su hijo con su saliva, transmitiendo las bacterias cariogénicas a su hijo.⁴⁵

Caries en el Perú.

Según el Ministerio de Salud, en el Perú de cada 100 personas el 85% de niños y niñas menores de 11 años es afectado por caries dental en el año 2017, debido a la falta de buenos hábitos de higiene y a la inadecuada alimentación en niños. Lo que muestra que el Perú no sólo tiene la prevalencia y tendencia más elevada de América, sino que la presencia de las caries dentales va incrementándose conforme aumenta la edad.⁶

En el documento también se informa que existe una prevalencia de caries dental del 76% en niños y niñas de 3 a 5 años. De esta manera, cuando este niño se convierte en adulto, será parcial o totalmente desdentado. El Perú ocupa el 3 puesto de caries dental después de Haití y Bolivia según el Colegio Odontológico del Perú.⁶

Caries en Apurímac

En Apurímac, Pasco y Puno se demuestra que son las regiones con mayor prevalencia de caries dental en niños de 3 a 15 años de edad, con cifras que superan el 98%, debido a la inadecuada higiene bucal y las casi nulas visitas al odontólogo.⁷

Es importante poner en práctica el cepillado dental en los niños para reducir la prevalencia e incidencia de caries desde la primera aparición del diente de leche hasta que el niño cumpla 3 años de edad empleando la cantidad de pasta dental similar al tamaño de un grano de arroz y desde los 3 años de edad, del tamaño de una arveja.⁷

CALIBRADOR VERNIER

La escala vernier lo invento Petrus nonius matemático portugués por lo que se le denomina nonius. El diseño actual de escala deslizante debe su nombre al francés Pierre Vernier quien lo perfecciono.

El calibrador vernier fue elaborado para satisfacer necesidades de un instrumento de lectura directa que pudiera brindar una medida fácilmente, en una solo operación el calibrador típico puede tomar tres tipos de medición exteriores, interiores y profundidades, pero algunos pueden tomar medición de peldaños.⁴⁶

Es un instrumento para medir longitudes que permite lecturas en milímetros y en fracciones de pulgada, a través de una escala llamada Nonio o Vernier. Está compuesto por una regla fija que es donde están graduadas las escalas de medición ya sea en milímetros, en pulgadas o mixtas. El vernier es una escala auxiliar que se desliza a lo largo de una escala principal para permitir en ella lecturas fraccionales exactas de la mínima división.⁴⁶

PARTES DEL CALIBRADOR VERNIER

Se pueden controlar por medidas de longitud interna, externa y de profundidad, como los siguientes partes:

1. Mordazas inferiores: medición de partes externas de un objeto
2. Mordazas u orejas superiores: medición de la parte interiores de la pieza.
3. Varilla: ubicado en la parte posterior sobresale como una pieza delgada, se utiliza para medir profundidades.
4. Pantalla: Indica la medida automáticamente y cuenta con interruptores de prendido, apagado y cambio de escala.
5. Tornillo de traba: se usa para fijar la posición de las mordazas una vez tenga el objeto que va a medir.⁴⁶

Calibrador Vernier Digital



Figura 3: Calibrados digital vernier.

Fuente: González González, Carlos (2002).

2.3. MARCO CONCEPTUAL

Caries Dental: Es una enfermedad multifactorial que afecta gravemente a los tejidos de los dientes, mediante un proceso que hacen los microorganismos produciendo un ácido que desgaste el esmalte y así ataque directamente al diente.

Medicina Natural: Incluye un conjunto de técnicas, formas o procedimientos para la prevención, diagnóstico, terapéuticos y rehabilitadores, validados científicamente por la tradición e investigación.

Allium Sativum (ajo): Pertenece al grupo Liliácea, es empleado con fines medicinales, en los tratamientos de las amigdalitis e infecciones respiratorias.

Biofilm: La biopelícula o biofilm, es una ecología microbiana organizada, formado por una o varias especies de microorganismos agrupado a una superficie viva o inmóvil, con características funcionales y estructuras complejas.

Microorganismos: Llamado “microbio”, un sistema biológico, que se observa con el microscopio. Su estructura es muy simple y alberga especies beneficiosas, patógenas y otra que varían según circunstancias.

Antimicrobiano: Es un elemento que elimina o impide el crecimiento de microorganismos como hongos, bacterias o parásitos.

Antibacteriano: Destruye o inhibe su crecimiento de las bacterias, por medio de sustancias químicas, ejerciendo su efecto bactericida o bacteriostático de la bacteria,

Bacteriostático: Aquel que no destruye o mata las bacterias, pero si detiene su crecimiento, que acaban muriéndose sin reproducirse.

Bactericida: Fármaco que tiene la capacidad de matar bacterias, microorganismos unicelulares u otros organismos.

Cepas: Son población de células de una sola especie descendientes de una única célula, para el control de la calidad en los laboratorios.

Remineralización: El calcio y el fosfato en la saliva juegan un papel importante en la remineralización y equilibran la pérdida de minerales de los dientes.

Streptococcus Mutans: Es un microbio oral la primera causa de la caries dental y placa dental, lo que se refleja en la adaptación de la sistematización de glucanos, inmovilización de compuestos y adaptación de la acidez.

Calibrador: Los calibradores son instrumentos de precisión que se utilizan para medir longitudes cortas, diámetros exteriores e interiores, así como para medir la profundidad.

Extractos: Los extractos son generalmente preparaciones concentradas sólidas, líquidas o intermedias derivadas de materiales vegetales secos y se obtienen evaporando parte o todo el solvente de extractos derivados de plantas y animales

Tubo de ensayo: Es un cilíndrico de vidrio con un extremo abierto y el otro cerrado, redondeado, que tiene el propósito de manipular y observar muestras de laboratorio sin contaminarlos con agentes externos.

Placa petri: Es un recipiente que permite la separación de material biológico, para cultivar y probar la actividad de células, bacterias, mohos y otros microorganismos.

Maceración: Es un proceso de extracción entre materiales de diferentes estados físicos de sólido-líquido, ya que estos poseen solubilidad y se usa el líquido de su extracción.

Disco de Sensibilidad: Se utiliza un disco impregnado para determinar la susceptibilidad antimicrobiana mediante un disco de difusión.

Concentración inhibitorio minima (CIM): Esto corresponde a la concentración más baja de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento visible de la cepa bacteriana después de 18-24 horas de incubación.

Cultivo: Es un método de cultivo de microorganismos utilizado en microbiología como las bacterias, para preparar el medio óptimo para el proceso deseado.

Agar Sangre: El agar sangre es agar nutritivo (agar sangre) con un 5% de sangre de oveja añadida y también se puede utilizar sangre humana para el cultivo en agar.

Agar Mueller-Hinton: Medio para estudio de cultivo microbiano que se usa comúnmente para probar la susceptibilidad a los antibióticos.

Agar Tripticasa: Son medios no selectivos de uso general que proporcionan suficientes nutrientes para permitir el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos.

Incubación: Es un periodo de incubación de tiempo que transcurre entre la exposición, temperature y la humedad de un agente infeccioso.

Autoclavado: Este es un envase esterilizador a alta presión esterilizando a instrumentos quirúrgicos e instrumentos mediante reacciones industriales.

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1. HIPOTESIS

3.1.1. Hipótesis General

Ha: El extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75%, tienen un efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.

Ho: El extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75%, no tienen un efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.

3.1.2. Hipótesis específicos

1. El extracto de allium sativum (ajo) al 25 % que se aplicó en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans a las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.
2. El extracto de allium sativum (ajo) al 50 % que se aplicó en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans a las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.
3. El extracto de allium sativum (ajo) al 75 % que se aplicó en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans a las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas -2020.

3.2. METODO

El presente trabajo de investigación fué de enfoque cuantitativo, toma como proceso a las mediciones numéricas, utilizando las observaciones del proceso en forma de recolección de datos y los analiza para llegar a responder sus

preguntas de investigación. (Manuel, Cortés Cortés & Miriam Iglesias León. pag.10)

3.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio de investigación fué de tipo experimental, de forma específica in vitro en no humanos.

3.4. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El nivel de estudio fué explicativo, porque explica el comportamiento de causa – efecto requiriendo un control y debe cumplir otros criterios de causalidad. (Jorge Enrique Chávez, pag.33)

3.5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Experimental puro y longitudinal, en tiempo prospectivo.

Los estudios empíricos donde se manipulan intencionalmente una o más variables independientes, para analizar los efectos que tiene sobre una o más variables dependientes manipuladas. (Sampieri 2010, pag.212)

3.6. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable dependiente:

Streptococcus Mutans: Microorganismos cariogénicos se refleja en la biopelícula dental por su adaptación de sintetizar glucanos, fijar compuestos y adaptar su aciduricidad.²

Dímetro de las cepas del streptococcus mutans serán medidos en milímetros en las 24,36 y 48 horas, por el calibrados digital de Vernier.⁴⁶

Tipo de Variable: Cuantitativo, ordinal

Variable independiente:

Extracto de allium sativum (ajo): Sustancias con propiedades antiinflamatorias, bactericidas, antiséptico, se recomienda en el dolor de muelas y prevención de las infecciones externas e internas. La aplicación del ajo al 25 %,50%,75%, serán tomados en las 24,36 y 48 horas frente a las cepas de streptococcus mutans.²⁶

Extracto de allium sativum (ajo) al 25%

Tipo de Variable: Cuantitativo, ordinal

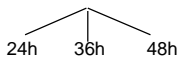
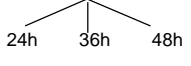
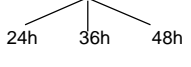
Extracto de allium sativum (ajo) al 50%

Tipo de Variable: Cuantitativo, ordinal

Extracto de allium sativum (ajo) al 75%

Tipo de Variable: Cuantitativo, ordinal

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	TIPO	ESCALA DE MEDICION	VALOR
EXTRACTO DE ALLIUM SATIVUM (AJO)	El extracto de allium sativum (ajo) tiene efecto antibacteriano, antiinflamatorio, analgésicas, lo cual resulta un amplio beneficio anticariógeno en la caries dental.	Extracto de ajo al 25% 	Se obtendrá el extracto acuoso de ajo en una concentración de 25 %	25%	Cualitativo	Ordinal	Escala de Duraffourd.
		Extracto de ajo al 50% 	Se obtendrá el extracto acuoso de ajo en una concentración de 50 %	50 %	Cualitativo	Ordinal	Escala de Duraffourd.
		Extracto de ajo al 75% 	Se obtendrá el extracto acuoso de ajo en una concentración de 75 %	75%	Cualitativo	Ordinal	Escala de Duraffourd.
ESTREPTOCOCCUS MUTANS	Microorganismos cariogenicos se refleja en la biopelícula dental por su adaptación de sintetizar glucanos, fijar compuestos y adaptar su aciduricidad.	Colonias	Se realizara mediante fichas de recolección de datos.	Vernier	Cualitativo	Ordinal	Mm

3.7. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

Población

La población microbiana fue representada por 72 Cepas de Streptococcus mutans.

Muestra

Muestra de colonias de cepas muéstrales

Colonias	Número de cepas muéstrales
Colonias de streptococcus mutans	36

Fuente: Elaboración propia

De la población microbiana se seleccionó al azar 36 cepas de streptococcus mutans se realizó en las colonias teniendo distintas igualdades para la aplicación del efecto antibacteriano in vitro.

Muestreo

El muestreo fué aleatorio simple.

Como lo mencionaron los autores de Cochran y Cox, la aleatorización es una precaución contra la interferencia que puede ocurrir o no y, si ocurre, puede o no ser significativa. Algo similar al seguro. (1992, pág.2).

3.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

TÉCNICAS

- Observación participante selectivo, el instrumento que se utilizó es una ficha de recolección de datos.

Preparación del Extracto de “Allium Sativum” (ajo)

Material Vegetal

- El ajo (*Allium sativum*), se obtuvo en el mercado las Américas de la ciudad de Abancay, fueron seleccionados bajo criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión

- Bulbos de *Allium sativum* de tamaño homogéneo
- Bulbos de *Allium sativum* sanos
- Bulbos de *Allium sativum* con ausencia de oxidación.

Criterios de exclusión

- Bulbos de *Allium sativum* de diferentes tamaños homogéneos.
- Bulbos de *Allium sativum* lacerados.
- Bulbos de *Allium sativum* con presencia de oxidación.

Obtención y purificación de extracto fluido y etanólico

Empleando 500 gr de ajo “*Allium sativum*”, se pela, se lava con agua destilada y luego se desinfecta con 200 ppm de hipoclorito de sodio durante 5 minutos. Enjuagamos con suficiente agua destilada estéril para eliminar el hipoclorito residual y pasar por extractor Oster regular de 100 rpm a velocidad 220 durante unos 2-3 minutos para obtener 80 ml de extracto de ajo puro. Para obtener el extracto, se agregaron 80 ml de extracto de ajo a un frasco de vidrio ámbar, se remojó en agua durante 6 días y se almacenó en el refrigerador a 5 ° C. Luego se obtuvo el extracto.⁴⁷



Figura 4.A) Bulbos de ajos pelado, B) Lavado, C) Triturado

Fuente: Elaboración propia

Dilución de los distintos extractos

En el primer barril, verter 80 ml de cada extracto etanólico considerado 100% concentrado, esta dilución se realiza con etanol para dar concentraciones de 25%, 50% y 75% respectivamente.

El extracto etanólico se obtuvo mediante la adición de 100ml de extracto puro y 20ml de etanol al 70% a una botella de vidrio ámbar, que se dejó en agua de maceración durante 6 días y se refrigeró a 5 °C.⁴⁷



Figura 5.D) Extracto fluido de ajo, E) Concentración de extractos.

Fuente: Elaboración propia

PREPARACION DEL MATERIAL BIOLÓGICO

CEPAS

Se cultivó las cepas de *Streptococcus mutans* lo cual se llevó en el laboratorio del Hospital Tambobamba. Se hará la respectiva reproducción de 36 cepas con agar Mueller –Hinton las cepas, por un tiempo 37 °C por 24 a 48 horas de incubación y se resembraron continuamente, fueron seleccionados bajo criterios de inclusión y exclusión.⁵⁰

Criterios de Inclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* no contaminadas
- Caldo de cultivo de agar sangre y agar Mueller-Hinton en placas Petri que fueron sometidos a esterilización.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* que fueron aplicados con previas de sustancias bacterianas.

- Caldo de Mueller-Hinton en placas Petri contaminados accidentalmente después del proceso de esterilización.

Cultivo de Cepas Bacterianas

Microorganismo (M.O)	Medio de cultivo	Temperatura (T°)	Tiempo T	Incubación
Streptococcus mutans	Agar Mueller-Hinton	37°C	24 horas	Microaerofilia (CO ₂)

Fuente: Elaboración propia

MATERIALES PARA LA PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVOS

- Matraz Erlenmeyer
- Agar Mueller –Hinton, Agar Tripticasa, Agar base
- Paquete de Sangre
- Mechero electrico
- Tubo de ensayo, caja de anaerobiosis
- Frasco de vidrio de 500ml
- Algodón, Jeringas de 10ml
- Incubadora, Autoclave
- Microscopio digital, Lamina de vidrio
- Agua destilada de 5ml, Placas Petri

MATERIALES DE EQUIPOS PARA LA SIEMBRA

- Placas Petri de 150x15ml
- Regla Vernier
- Hisopos esterilizados, pinzas estériles.

MATERIAL BIOLÓGICO

- Cepas de streptococcus mutans.

Medios de cultivo

Los elementos utilizados fueron agar sangre, agar Mueller-Hinton y medio Mueller-Hinton. Se agregó agar Mueller-Hinton a la placa de Petri para la prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos y el efecto se logró utilizando el medio Mueller-Hinton in vitro para la administración de antibióticos.⁴⁷

Preparación de Agar Sangre

- Se tomó muestras en la balanza analítica 20 gramos de agar base, se disuelve 20 gr de agar base en 500 ml de agua destilada en un matraz con el tapón de algodón puesto agito y luego lo caliento con mechero eléctrico hasta que el agar nutritivo sea su pH en el óptimo de 7.
- Se introdujo a la autoclave, esperando que suba a 120°C. Luego dejamos enfriar hasta alcanzar una temperatura a 50°- 45°C.
- Se agregó 5 -10% de sangre con una pipeta estéril, agitar por rotación en forma suave, con la finalidad de obtener una buena mezcla. Se repartió homogenizando en 16 placas Petri estériles y dejar solidificar y controlamos la esterilidad en incubadora a 36.5°C, por 24 horas.

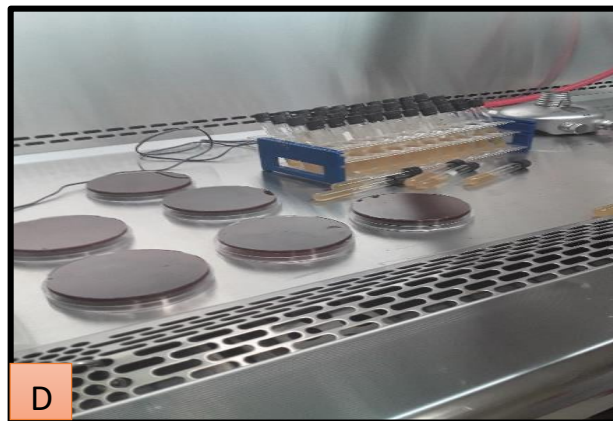
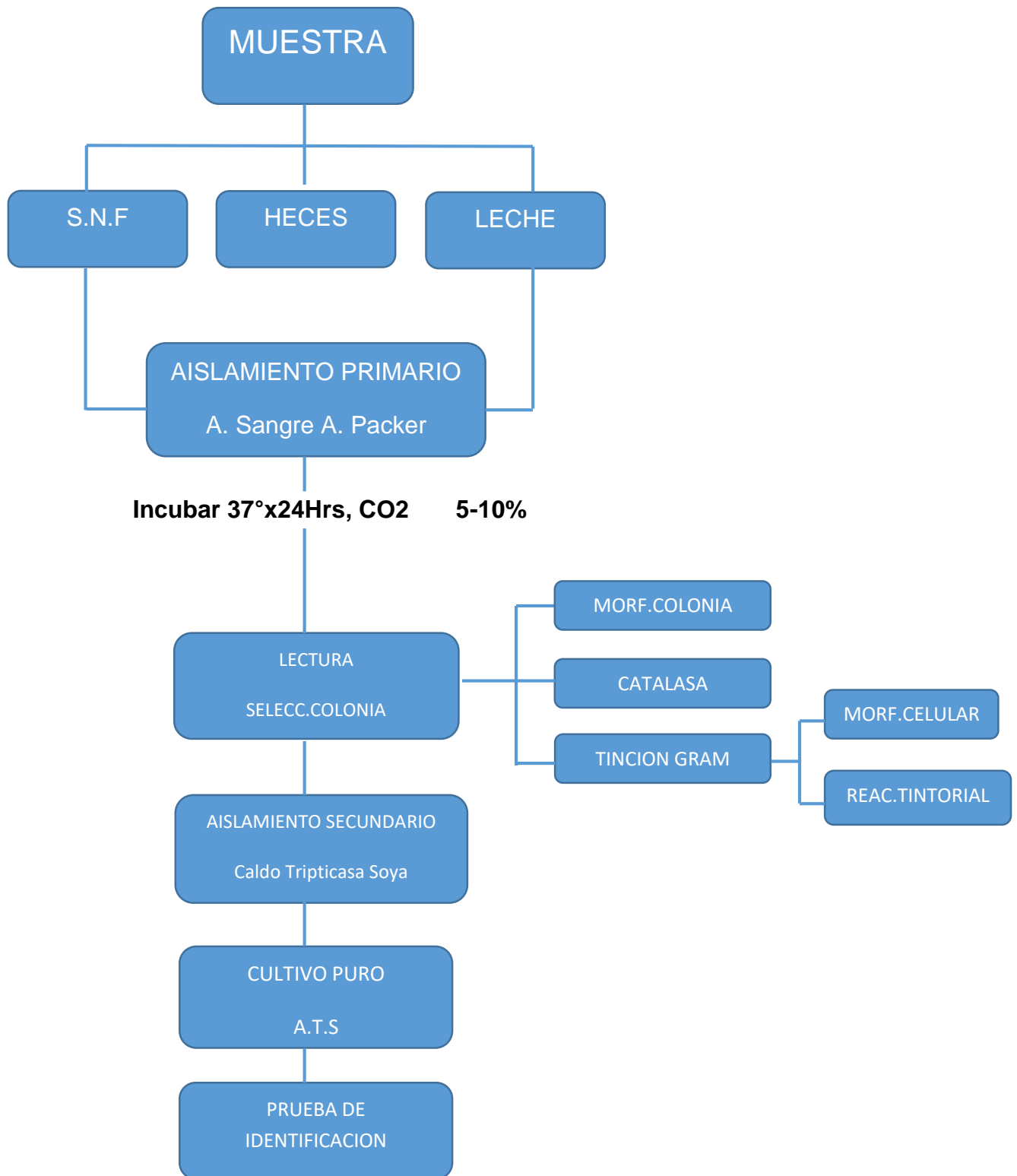


Figura6: D) Placas de agar sangre

Fuente: Elaboración propia

DIAGRAMA DEL EXPERIMENTO
Streptococcus, Enterococcus y lactobacilos



Cultivo de cepas streptococcus mutans

- Se hizo el hisopado de las 6 personas para el cultivo del streptococcus mutans, luego se cultivó 6 Placas Petri de agar nutritivo con el streptococcus mutans en las placas Petri. Se hizo con las latas una caja de anaerobiosis, luego se dejó la vela para q crea el CO₂ en su reproducción del streptococcus mutans, se incubo a 37°C por 24 horas.
- Después de incubar de las 24 horas se sacó el cultivo de los streptococcus mutans, se puso en el tubo de ensayo para el crecimiento y replicarse.
- Se sacó después de las 24 horas de cultivo de los 10 tubos de ensayo, se hicieron la aplicación del reactivo en el streptococcus mutans, se aplicó en la lámina de vidrio para reactivar con el agua destilada de 5ml, aplicando la coloración Gram, el lugol y la safranina. Se llevó al microscopio digital para ver la identificación y la morfología de streptococcus mutans, viendo el tamaño de corta cadena y larga cadena.
- Haciendo replicación en los tubos de ensayo (agar Tripticasa) con la bacteria del streptococcus mutans, dejando crecer en 24 horas en la incubadora.

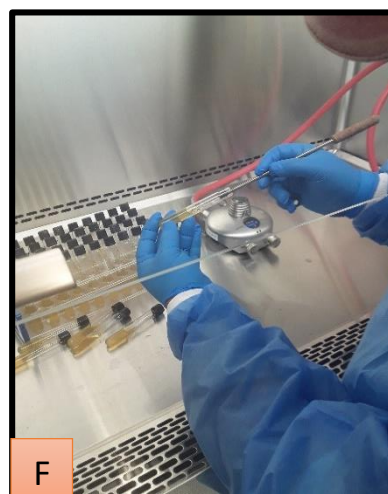
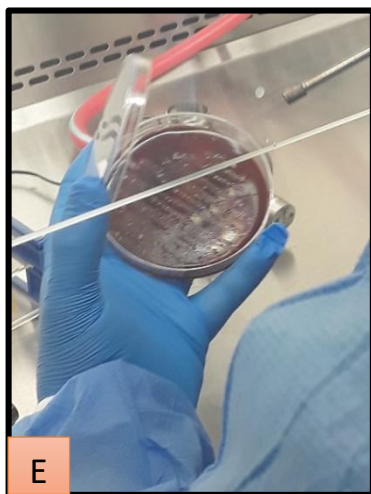


Figura 7. E) Streptococcus mutans. F) Cultivo de cepas

Fuente: Elaboración propia

PREPARACION DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Preparación de Agar Trypticasa

- Se sacó 34gr Agar Trypticasa por 400ml de agua destilada es igual a 13.6 gramos de Trypticasa.
- Se preparó 14 gramos de Agar Trypticasa se homogenizo con agua destilada al 200ml y se llevó al autoclado a 121°C.
- Se sirvió en 54 tubos de ensayo (agar de Trypticasa), luego se solidifico a 37°C en 24 horas en la incubadora.



Figura8.G) Homogenización de Agar Trypticasa

Fuente: Elaboración propia

Preparación de Agar Mueller- Hinton

- Se sacó 40gr Mueller -Hinton entre 800ml es igual a 16 gramos de Mueller Hinton en dos frascos de 400ml, se homogenizo.
- Se sacó 16 gramos de Mueller - Hinton en 2 frascos se homogenizo con agua destilada a 400ml
- Se dejó esterilizar a 45°C después de las 8 horas.
- Se pondrá en 12 placas Petri el agar de Mueller - Hinton, se incubo a 37 °C.



Figura 9.H) Preparación de agar Mueller- Hinton

Fuente: Elaboración propia

Preparación del Inoculo

Se preparó transfiriendo las colonias de streptococcus mutans a un tubo de ensayo y se diluyó en una solución salina estéril (6 ml), para obtener una suspensión semejantes a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de mc farland (nefelómetro), que permite a simple vista conocer la cantidad aproximada de levaduras presentes en la dilución, de tal manera que la solución corresponde a una concentración de $1,5 \times 10^6$ ufc/ml.

Siembra de la cepa de Streptococcus Mutans

La cepa pura de Streptococcus Mutans se colocaron las todas las Placas Petri con caldo de Mueller –Hinton a la incubadora, realizándose la siembra de la bacteria con un hisopo estéril, dicha siembra se hizo en tres direcciones para lograr distribuir la bacteria en toda la superficie del agar.

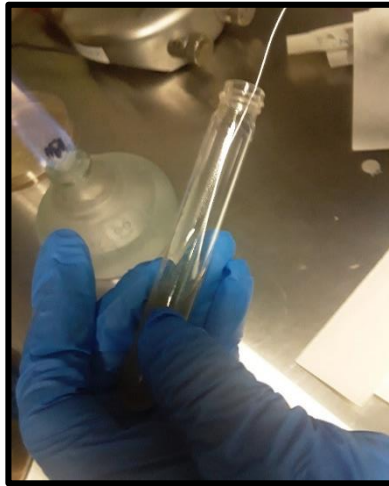


Figura 9.1) Siembra de streptococcus mutans

Fuente: Elaboración propia

Determinar el efecto antibacteriano

Se realizó el sembrado de streptococcus mutans en las placas Petri, en la cual se utilizó la prueba de susceptibilidad mediante el método de Difusión de Discos (Kirby- Bauer), se colocaron discos estériles sobre los cultivos, con la ayuda de una pinza estéril (presionando los discos suavemente, con el fin de asegurar la adherencia en el agar sólido), se colocó 4 discos por placa, distribuido a distancias semejantes, se agregó 2.5ml, 5ml y 7.5ml del extracto acuoso en las concentraciones de 7ml en cada disco. Seguidamente fueron incubados a 35°C por 24, 36 y 48 horas, la lectura de los halos de inhibición fue tomada en milímetros, por el cual se utilizó un calibrador Vernier, y se determinó el efecto inhibitorio según la Escala de Duraffourd.

Escala de Duraffourd

Según esta escala, se utiliza para establecer la actividad antibacteriana, según el diámetro de la zona de inhibición.

Duraffourd, nos indica:

- Para un diámetro inferior a 8 mm, se le considera, Nula (-).
- Para un diámetro entre 8 a 14 mm, se lo define como (sensible = +).
- Un diámetro entre 14 a 20 mm, se le considera, Medio (may sensible =++).
- Un diámetro superior a 20 mm es sumamente sensible (+++).

3.9. CONSIDERACIONES ETICAS

Este estudio es experimental in vitro utilizando medios de cultivo con la aprobación requerida del Instituto de Microbiología del Hospital Tambobamba para realizar este estudio.

3.10. PROCEDIMIENTO ESTADISTICO

Los datos de las observaciones efectuadas se organizaron para cada una de las cepas y las concentraciones utilizadas. Igualmente se anotaron los resultados de los controles tanto positivo y negativos utilizados. Se elaboraron las tablas y gráficas, usando estadística descriptiva, se utilizó el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 21 (IBM®), observando una distribución normal de los datos.

IV: RESULTADO Y DISCUSION

4.1. Resultados

MARCHA FITOQUIMICA

Presencia de metabolitos secundarios de "allium sativum" (ajo)

Ensayo	Reactivo	Resultado
Aminoácidos	Ninhidrina	++
Compuestos fenólicos	FeCL ₃	+++
Flavonoides	Sinoda	++
Alcaloides	Dragendorff	++
Alcaloides	Mayer	+
Taninos	Gelatina	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+++) gran cantidad, (++) cantidad media, (+) cantidad relativamente baja.

Interpretación de los resultados

Muestre los resultados de la prueba para la Muestra 1, la Muestra 2 y la Muestra 3 utilizando extracto de allium sativum "ajo" al 25%, 50% y 75% contra la cepa Streptococcus mutans con un nivel de confianza del 95%. Se seleccionaron al azar treinta y seis cepas de la muestra y se analizaron en el laboratorio del Hospital Tambobamba de la provincia Cotabambas.

Tabla 1: Evaluación de extracto *allium sativum* (ajo) al 25% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Placa	Numero de cepas	24HR		36HR		48HR				
		Lectura 1 (mm)	Control		Lectura 2 (mm)	Control		Lectura 3 (mm)	Control	
			(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)
Placa N1	1	6.8		-	7.1		-	8.9	+	
	2	7.8		-	8.1	+		8.5	+	
	3	6.7		-	7		-	7.2		-
	4	6.6		-	6.9		-	7.3		-
Placa N2	1	6.9		-	7.2		-	9.6	+	
	2	6.8		-	7.5		-	8.8	+	
	3	7.1		-	8.4	+		10.3	+	
	4	6.7		-	7		-	7.2		-
Placa N3	1	6.8		-	7.7		-	8.3	+	
	2	6.9		-	8.1	+		10.4	+	
	3	7.1		-	8.2	+		9.8	+	
	4	7.2		-	7.4		-	8.6	+	
Promedio	12	6.9			7			8		

Fuente: Elaboración propia

En el primer campo se utilizó 2.5ml del extracto de ajo al 25 % y 7.5ml de etanol sobre una colonia de 12 cepas de *Streptococcus mutans*, aplicando a las 24,36 y 48horas.

Resultados de allium sativum (ajo) al 25% en las 24h, 36h y 48h.

Este capítulo presenta los resultados de las pruebas para la Muestra 1, la Muestra 2 y la Muestra 3 que contienen un extracto al 25% de allium sativum (ajo) en una cepa de Streptococcus mutans seleccionada al azar. Se analizó a las 24 horas, 36 horas y 48 horas para determinar su acción antibacteriana.

Extracto de allium sativum (ajo) al 25% sobre cepas en las 24 horas.

Los primeros resultados, 12 cepas a las 24h, significan 6950 mm y la mitad de los casos superan los 6,85 mm, todos con un diámetro de halo de 6,6-7,2 mm que inhiben la sobrecarga de cepas de Streptococcus mutans.

- Las 12 cepas analizadas dentro de las 24 horas nos dieron un resultado inferior a 8mm para la escala de Duraffourd que mide la actividad antimicrobiana basada en los halos de inhibición, en 24 horas es NULA.

Extracto de allium sativum (ajo) al 25% sobre cepas en las 36 horas.

La media de las 12 cepas a las 36 horas fue de 6.995 mm, y la mitad de los casos superaron los 6,82 mm, todos con un diámetro entre 6,6 y 7,8 mm del halo inhibitorio de la cepa de Streptococcus mutans.

Las 12 cepas analizadas dentro de las 36 horas, para la escala de Duraffourd nos indica que:

- Para la placa 1, cepa 2 se obtuvo un valor de 8,1mm. es SENSIBLE
- Para la placa 2, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.4mm, es SENSIBLE
- Para la placa 3, cepa 2 se obtuvo un valor de 8.1mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.2mm, es SENSIBLE.

Extracto de allium sativum (ajo) al 25% sobre cepas en las 48 horas.

El valor medio de las 12 cepas a las 8 horas fue de 8.741 mm, la mitad de los casos excedieron los 8,7 mm y todas las cepas de Streptococos mutans midieron halos inhibitorios con un diámetro de 7,2-10,4 mm.

Las 12 cepas analizadas dentro de las 48 horas, para la escala de Duraffourd nos indica que:

- Para la placa 1, cepa 1 se obtuvo un valor de 8,9mm. es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 8.5mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 2, cepa 1 se obtuvo un valor de 9.6mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 8.8mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 10.3mm, es SENSIBLE
- Para la placa 3, cepa 1 se obtuvo un valor de 8.3mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 10.4mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 9.8mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8.6mm, es SENSIBLE.

Tabla 2: Evaluación de extracto *allium sativum* (ajo) al 50% en cepas de *Streptococcus mutans*

Placa	Numero de cepas	24Horas		36Horas		48Horas	
		Lectura 1 (mm)	Control	Lectura 2 (mm)	Control	Lectura 3 (mm)	Control
			(+) (-)		(+) (-)		(+) (-)
Placa N1	1	6.8	-	7.2	-	8.2	+
	2	7.2	-	9.6	+	14.1	++
	3	7.5	-	8.4	+	11.1	+
	4	6.9	-	9.1	+	12.8	+
Placa N2	1	6.8	-	10.3	+	14.3	++
	2	7.3	-	7.7	-	8.6	+
	3	7.1	-	7.3	-	8.2	+
	4	6.9	-	8.7	+	9.3	+
Placa N3	1	7.1	-	7.6	-	9.5	+
	2	6.9	-	7.2	-	7.4	-
	3	6.8	-	7.3	-	9.9	+
	4	7.3	-	7.7	-	8.7	+
Promedio	12	7	8		9		

Fuente: Elaboración propia

En el segundo campo se utilizó 5ml del extracto de ajo al 50 % y 5ml de etanol sobre una colonia de 12 cepas de *streptococcus mutans*, aplicando a las 24,36 y 48horas.

Resultados de *Allium sativum* (ajo) al 50% en las 24h, 36h y 48horas.

Se mostrarán los resultados de las pruebas de la muestra 1, muestra 2, muestra 3, con extracto de *Allium sativum* (ajo) al 50%, en cepas de streptococcus mutans, que fueron seleccionados al azar 36 cepas de la muestra, de los cuales 12 cepas fueron analizados en las 24h, 36h, 48horas para determinar su acción antibacteriano.

Extracto de *Allium sativum* (ajo) al 50% sobre cepas en las 24 horas.

Las 12 cepas a las 24 horas tuvieron un promedio 7.050mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 7 mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 6.8 y 7.5 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de streptococcus mutans.

- Las 12 cepas analizados dentro de las 24 horas nos dieron un resultado inferior a 8mm para la escala de Duraffourd que mide la actividad antimicrobiana basada en los halos de inhibición, en 24 horas es NULA.

Extracto de *Allium sativum* (ajo) al 50% sobre cepas en las 36 horas.

Las 12 cepas a las 36 horas tuvieron un promedio 8.175mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 7.70mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 7.2 y 10.3 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de streptococcus mutans.

- Para la placa 1, cepa 2 se obtuvo un valor de 9.6mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.4mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 9.1mm, es SENSIBLE.

- Para la placa 2, cepa 1 se obtuvo un valor de 10.3mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8.7mm, es SENSIBLE.
- La placa 3 muestra resultados inferiores a 8mm por lo tanto son NULOS.

Extracto de *Allium sativum* (ajo) al 50% sobre cepas en las 48 horas.

Las 12 cepas a las 48 horas tuvieron un promedio 10.175mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 9.40mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 7.4 y 14.3 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de streptococcus mutans.

- Para la placa 1, cepa 1 se obtuvo un valor de 8.2mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 14.1mm, es MUY SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 11.1mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 12.8mm, es SENSIBLE
- Para la placa 2, cepa 1 se obtuvo un valor de 14.3mm, es MUY SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 8.6mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.2mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 9.3mm, es SENSIBLE
- Para la placa 3, cepa 1 se obtuvo un valor de 9.5mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 9.9mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8.7mm, es SENSIBLE.

Tabla 3: Evaluación de extracto *allium sativum* (ajo) al 75% en cepas de *Streptococcus mutans*

Placa	Numero de cepas	24Horas		36Horas		48Horas				
		Lectura 1 (mm)	Control		Lectura 2 (mm)	Control		Lectura 3 (mm)	Control	
			(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)
Placa N1	1	6.8		-	8.6	+		12.2	+	
	2	9	+		9.2	+		14.4	++	
	3	8.9	+		9.8	+		12.9	+	
	4	6.9		-	8.5	+		11.5	+	
Placa N2	1	6.8		-	7.5		-	10.5	+	
	2	8	+		9.3	+		15.4	++	
	3	8.2	+		10.1	+		15.8	++	
	4	7.4		-	8	+		12.3	+	
Placa N3	1	7.3		-	8.7	+		11.5	+	
	2	7.5		-	8.2	+		11	+	
	3	7.1		-	8.9	+		11.9	+	
	4	8	+		8.5	+		14.6	++	
Promedio	12	8		9			14			

En el tercer campo se utilizó 7.5ml del extracto de ajo al 75 % y 2.5ml de etanol sobre la colonia de 12 cepas de *streptococcus mutans*, aplicando a las 24,36 y 48horas.

Resultados de *Allium sativum* (ajo) al 75% en las 24h, 36h y 48horas.

Los resultados de las pruebas de la muestra 1, muestra 2, muestra 3, con extracto de *allium sativum* (ajo) al 75%, en cepas de *streptococcus mutans*, que fueron seleccionados al azar 36 cepas de la muestra, de los cuales 12 cepas fueron analizados en las 24h, 36h, 48horas para determinar su acción antibacteriano.

Extracto de *Allium sativum* (ajo) al 75% sobre cepas en las 24 horas.

Las 12 cepas a las 24 horas tuvieron un promedio 7.65mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 7.45 mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 6.8 y 9 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de *streptococcus mutans*.

- Para la placa 1, cepa 2 se obtuvo un valor de 9mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.9mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 2, cepa 2 se obtuvo un valor de 8mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.2mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 3, cepa 4 se obtuvo un valor de 8mm, es SENSIBLE.

Extracto de *allium sativum* (ajo) al 75% sobre cepas en las 36 horas.

Las 12 cepas a las 36 horas tuvieron un promedio 8.77mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 8.65mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 7.5 y 10.1 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de *streptococcus mutans*.

- Para la placa 1, cepa 1 se obtuvo un valor de 8.6mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 9.2mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 9.8mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8.5mm, es SENSIBLE.

- Para la placa 2, cepa 2 se obtuvo un valor de 9.3mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 10.1mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 3, cepa 1 se obtuvo un valor de 8.7mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 8.2mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 8.9mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 8.5mm, es SENSIBLE.

Extracto de allium sativum (ajo) al 75% sobre cepas en las 48horas.

Las 12 cepas a las 48 horas tuvieron un promedio 12.83mm, la mitad de la muestra de los casos estuvo por encima de los 12.25 mm, y todo esto estuvieron dentro del rango 10.5 y 15.8 mm del diametro halo de inhibición sobre las cepas de streptococcus mutans.

- Para la placa 1, cepa 1 se obtuvo un valor de 12.2mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 14.4mm, es MUY SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 12.9mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 11.5mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 2, cepa 1 se obtuvo un valor de 10.5mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 15.4mm, es MUY SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 15.8mm, es MUY SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 12.3mm, es SENSIBLE.
- Para la placa 3, cepa 1 se obtuvo un valor de 11.5mm, es SENSIBLE, cepa 2 se obtuvo un valor de 11mm, es SENSIBLE, cepa 3 se obtuvo un valor de 11.9mm, es SENSIBLE, cepa 4 se obtuvo un valor de 14.6mm, es MUY SENSIBLE.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos in vitro

Analizamos completamente los datos obtenidos para asegurar que cumplieran los requisitos de homocedasticidad y normalidad para ejecutar pruebas paramétricas.

Los valores obtenidos de cada concentración (25%, 50%, y 75%) y para cada tiempo (24, 36 y 48 horas) son comparados a través de análisis de varianza de un factor (ANOVA), la especie fue el factor principal. Cuando el ANOVA fue significativo, se realizó una prueba de Tukey para determinar que medidas difieren entre sí.

El nivel de significancia aceptado fue el de un p-valor < 0,05.

Tabla 4: Efecto del extracto de *Allium sativum* (ajo) a 25% de concentración sobre *Streptococcus mutans*.

PLACAS	MUESTRA	HORAS		
		24 Horas	36 Horas	48 Horas
1	1	6.8	7.1	8.9
	2	7.8	8.1	8.5
	3	6.7	7	7.2
	4	6.6	6.9	7.3
2	1	6.9	7.2	9.6
	2	6.8	7.5	8.8
	3	7.1	8.4	10.3
	4	6.7	7	7.2
3	1	6.8	7.7	8.3
	2	6.9	8.1	10.4
	3	7.1	8.2	9.8
	4	7.2	7.4	8.6

FUENTE: Elaboración propia

La lectura de distintas horas del extracto de ajo a una concentración de 25%, no inhibió significativamente ($p < 0.05$) el crecimiento de *Streptococcus mutans* (Fig. 1).

Se detalla y demuestra la relación directa dosis-respuesta del extracto de ajo sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, en relación a las horas (24h, 36h y 48h). La curva de respuesta a la concentración obtenida en base a la tasa de crecimiento del medio de cultivo muestra una respuesta lineal. Se han calculado los valores de Desviación sustancial de la honestidad (HSD). Es decir, la concentración del extracto que produjo la respuesta de la línea base media (que en este caso no estaba prohibida).

En la prueba de Tukey, la concentración mínima que mostró una diferencia significativa con el control fue 1.23 mg / mL de extracto de ajo y ninguna de las muestras excedió 1.23 mg / mL, por lo que no hubo diferencia, honestidad significativamente diferente.

PRUEBA DE TUKEY

HSD	1.23
Multiplicador	3.44
Mse	0.52
N	4

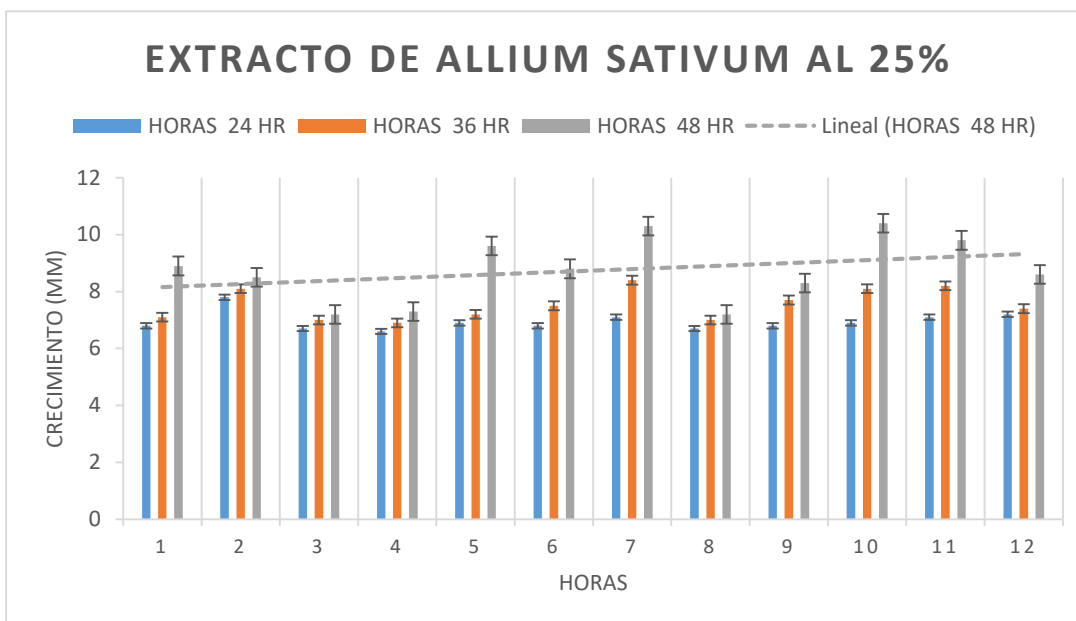
	24 Horas	36 Horas	48 Horas
Placa N1	0.6		
Placa N2		0.79	
Placa N3			1.19

NO EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA

La HSD fue calculada para las 24, 36 y las 48 horas. El valor obtenido para esta fue 1.23 mg/ml, no existe diferencia significativa por lo tanto se acepta la H_0 , no existe efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Los resultados de la prueba ANOVA no mostraron diferencias significativas a las 24, 36 y 48 horas en la muestra tratada con extracto comparada con la muestra de control. Para el análisis de varianza la concentración al 25% del extracto posee un valor de $p= 0.116$ por lo tanto se acepta el H_0 .

Figura 1: Crecimiento celular de *Streptococcus mutans* a 25% de concentración de extracto de ajo medido a las 24, 36 y 48 horas.



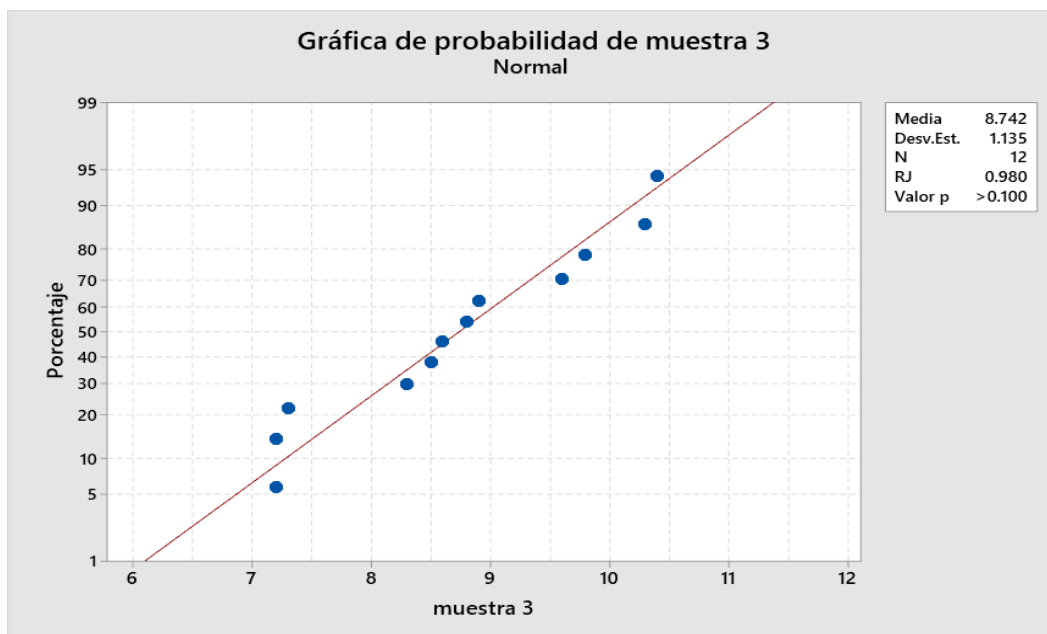
Prueba de normalidad

Para utilizar la prueba ANOVA, debe asegurarse de que los datos de la muestra se distribuyan normalmente. Para este propósito, se usa la prueba Ryan Joiner (semejante a ShapiroWilk) porque el tamaño de la muestra es menor que 50. El siguiente es un ejemplo de datos distribuidos normalmente.

- Si Valor p es $\geq \alpha$ entonces se rechaza la H_0 , por lo tanto los datos provienen de una distribución normal.
- Si Valor p es $< \alpha$ entonces se acepta la H_1 , por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal.

La Figura 1 muestra los resultados obtenidos con el software estadístico español Minitab versión 18 para la prueba RyanJoiner. Un valor de p mayor que 0,100 se define como mayor que un valor de 0,05. Por lo tanto, podemos concluir que los datos, que son los valores posteriores a la prueba de las muestras de *Streptococcus mutans*, se distribuyen normalmente.

Gráfico 1: Probabilidad de normalidad de los resultados de post prueba de extracto de ajo a 25% sobre streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, fueron nula en el Hospital Cotabambas.



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 5: Efecto del extracto de allium sativum (ajo) a 50% de concentración sobre Estreptococcus mutans.

PLACAS	MUESTRA	HORAS		
		24 Horas	36 Horas	48 Horas
1	1	6.8	7.2	8.2
	2	7.2	9.6	14.1
	3	7.5	8.4	11.1
	4	6.9	9.1	12.8
2	1	6.8	10.3	14.3
	2	7.3	7.7	8.6
	3	7.1	7.3	8.2
	4	6.9	8.7	9.3
3	1	7.1	7.6	9.5
	2	6.9	7.2	7.4
	3	6.8	7.3	9.9
	4	7.3	7.7	8.7

Fuente: Elaboración propia

La lectura de distintas horas del extracto de ajo a una concentración de 50%, inhibió significativamente al menos en una de las muestras ($p < 0.05$) el crecimiento de *Streptococcus mutans* (Fig. 2).

Se preparó una respuesta a la dosis directa para el efecto del extracto de ajo en el crecimiento de *E. Mutanos* que han mostrado crecimiento con el tiempo (24 horas, 36 horas y 48 horas).

La curva de respuesta a la concentración obtenida en base a la tasa de crecimiento del medio de cultivo muestra una respuesta lineal. Calculamos el valor de Diferencia Significativa Honesta (HSD), la concentración del extracto que produjo la reacción.

La prueba de Tukey demostró que la concentración mínima que produjo una diferencia significativa con el control fue 2,48 mg / ml de extracto de ajo.

PRUEBA DE TUKEY

HSD	2.48
Multiplicador	3.44
Mse	2.09
N	4

	24 Horas	36 Horas	48 Horas
Placa N1	1.12		
Placa N2		3.12	
Placa N3			2

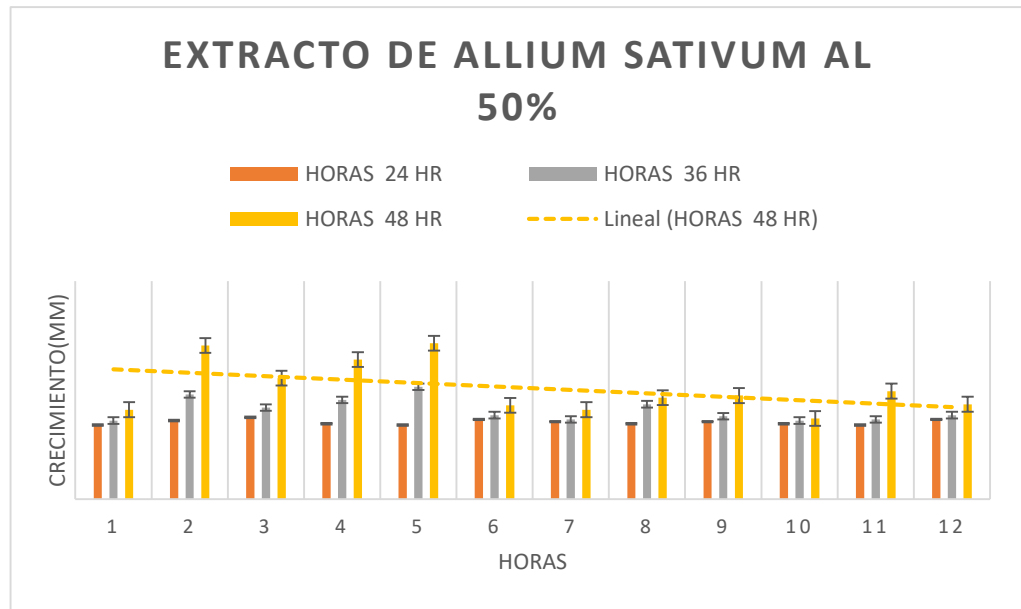
SI EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA

La HSD fue calculada para las 24, 36 y las 48 horas. El valor obtenido para esta fue 2.48 mg/ml, existe diferencia significativa de 3.12 mg/ml entre las 24 y 48 horas por lo tanto se acepta la H_a , Tiene un efecto antibacteriano contra las cepas de *Streptococcus mutans*.

Los resultados de la prueba ANOVA mostraron diferencias significativas a las 24, 36 y 48 horas en las muestras tratadas con el extracto en comparación con la

muestra control. Para el análisis de varianza la concentración al 50% del extracto posee un valor de $p = 0.01$ por lo tanto se acepta la H_a y se rechaza el H_0 .

Figura 2: Crecimiento celular de *Streptococcus mutans* a 50% de concentración de extracto de ajo medido a las 24, 36 y 48 horas.



Fuente: Elaboración propia

Prueba de normalidad

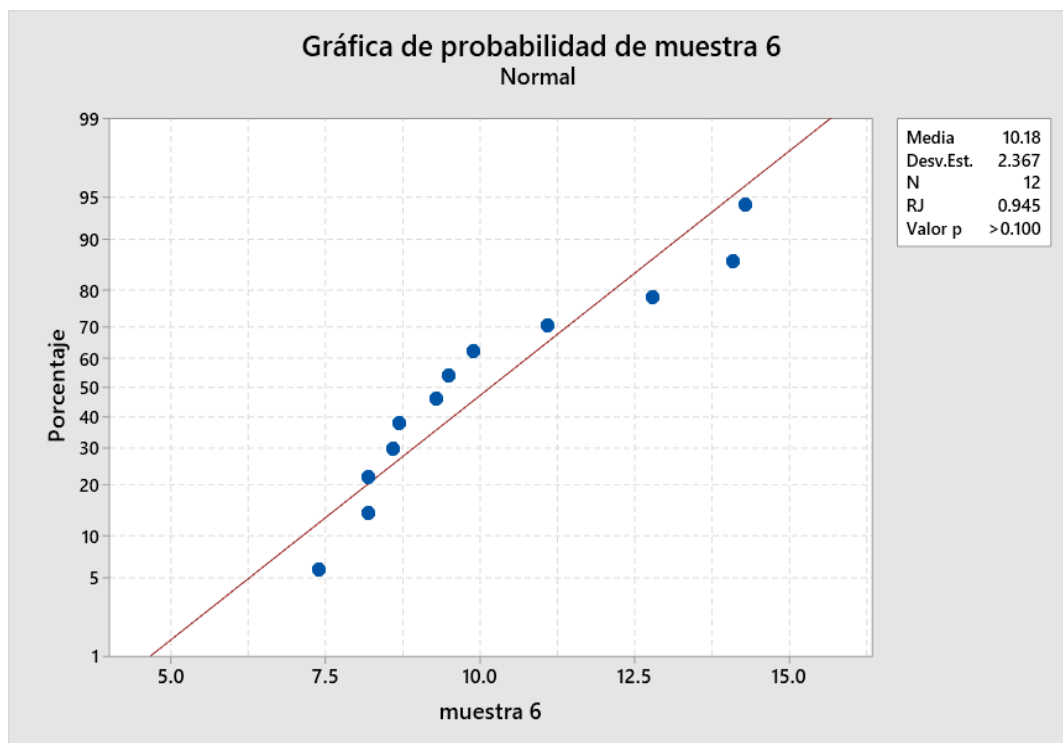
Para utilizar la prueba ANOVA, debe asegurarse de que los datos de muestra se distribuyan normalmente. Para obtener este resultado, se usa la prueba Ryan Joiner (similar a ShapiroWilk) de hecho, el tamaño de la muestra es inferior a 50.

El criterio para determinar si los datos muestrales se distribuyen normalmente fue:

- Si Valor p es $\geq \alpha$ entonces se rechaza la H_0 , por lo tanto los datos provienen de una distribución normal.
- Si Valor p es $< \alpha$ entonces se acepta la H_1 , por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal.

En el gráfico 2 muestra los resultados obtenidos con el software estadístico español Minitab versión 18 para la prueba RyanJoiner. Un valor de p mayor que 0,100 se define como mayor que un valor de 0,05. Por lo tanto, podemos concluir que los datos, que son valores posteriores a la prueba de la muestra de Streptococcus mutans, se distribuyen normalmente.

Gráfico 2: Probabilidad de normalidad de los resultados de post prueba de extracto de ajo a 50% sobre streptococcus mutans, fueron positivos en el Hospital Cotabambas.



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 6: Efecto del extracto de allium sativum (ajo) a 75% de concentración sobre *Streptococcus mutans*

PLACAS	MUESTRA	HORAS		
		24 Horas	36Horas	48 Horas
1	1	9.2	11.2	12.2
	2	12.1	13.5	14.4
	3	12.1	12	12.9
	4	10.5	10.5	11.5
2	1	9.3	9.8	10.5
	2	10.6	13.2	15.4
	3	10.2	12.2	15.8
	4	11.2	12	12.3
3	1	11.5	11.5	11.5
	2	8.5	10.2	11
	3	10.9	11	11.9
	4	9.7	13.1	14.6

Fuente: Elaboración propia

La lectura a distintas horas del extracto de ajo a una concentración de 75%, inhibió significativamente en todas las muestras ($p < 0.05$) el crecimiento de *Streptococcus mutans* (Fig. 3)

Se elaboró una recta dosis-respuesta del efecto del extracto de ajo sobre el crecimiento de *E. Mutans*, en relación a las horas (24h, 36h y a las 48h). La curva de respuesta a la concentración obtenida con base en la tasa de crecimiento de los cultivos mostró una respuesta lineal. Se calculó el valor de HSD (Diferencia Honestamente Significativa), es decir, la concentración de extracto que provoca una respuesta.

La prueba de Tukey estableció que la concentración más baja que mostró una diferencia significativa con el control fue 3,0 mg / ml de extracto de ajo.

PRUEBA DE TUKEY

HSD	3.04
Multiplicador	3.44
Mse	3.13
N	4

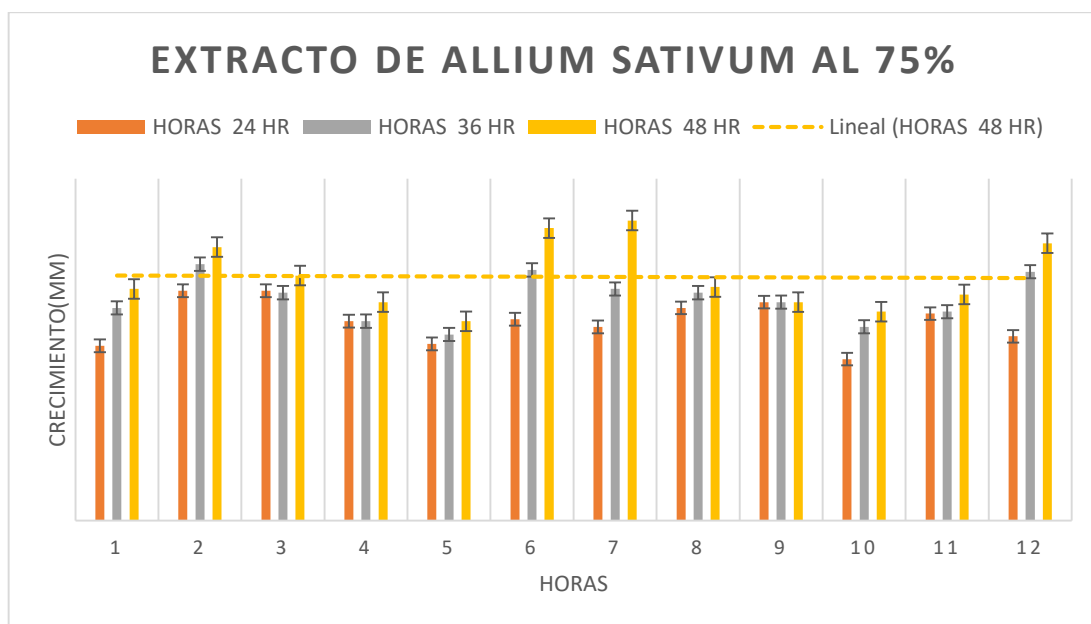
	24 Horas	36 Horas	48 Horas
Placa N1	3.4		
Placa N2		3.66	
Placa N3			7.06

SI EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA

La HSD fue calculada para las 24, 36 y las 48 horas. El valor obtenido para esta fue 3.04 mg/ml, existe diferencia significativa de 3.4 mg/ml, 3.66 mg/ml y 7.06 mg/ml entre todas las horas por lo tanto se acepta la H_a , existe un efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

Los resultados del test ANOVA muestran diferencias significativas a las 24, 36 y 48 horas en las muestras tratadas con extracto con respecto a la muestra control. Para el análisis de varianza la concentración al 75% del extracto posee un valor de $p=0.02$ por lo tanto se acepta la H_a y se rechaza el H_o .

Figura 3: Crecimiento celular de *Streptococcus mutans* a 75% de concentración de extracto de ajo medido a las 24, 36 y 48 horas



Fuente: Elaboración propia

Prueba de normalidad

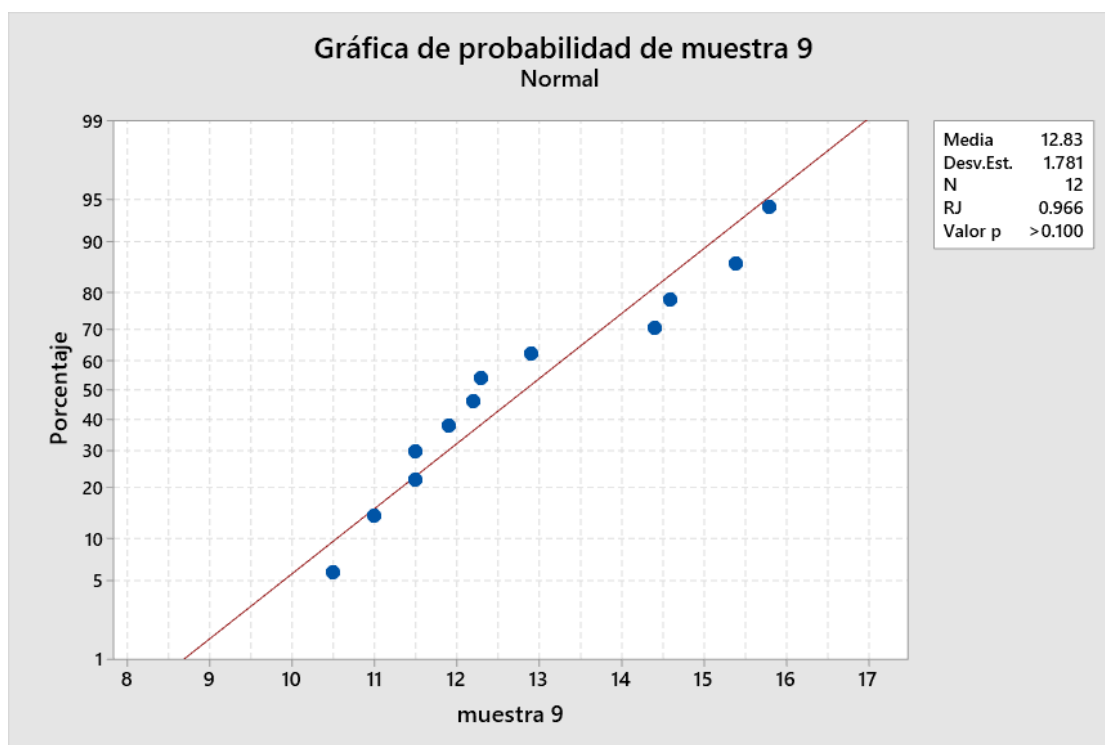
Para utilizar la prueba ANOVA, debe asegurarse de que los datos de muestra se distribuyan normalmente. Para obtener este resultado, se utiliza la prueba de Ryan Joiner (similar a ShapiroWilk) porque el tamaño de la muestra es menor a 50. Los datos de distribución normal de referencia para determinar si se trata de una muestra son los siguientes.

- Si Valor p es $\geq \alpha$ entonces se rechaza la H_0 , por lo tanto los datos provienen de una distribución normal.
- Si Valor p es $< \alpha$ entonces se acepta la H_1 , por lo tanto los datos no provienen de una distribución normal.

En el gráfico 3 se muestra los resultados hallados mediante el paquete estadístico Minitab version 18 en español para la prueba Ryan Joiner. Se ha determinado que el Valor p es mayor que 0.100 y este valor es mayor que el valor α , 0.05; por lo

tanto se puede concluir que los datos, valores de la post prueba en muestras de streptococcus mutans, es una distribución normal.

Gráfico 3: Probabilidad de normalidad de los resultados de post prueba de extracto de ajo a 75% sobre streptococcus mutans, fueron positivos en el Hospital Cotabambas.



Fuente: Elaboración propia

4.2. Discusión de resultados

Este estudio tiene como objetivo promover un tratamiento curativo cuando comienzan las lesiones de caries, pero los estudios alternativos con remedios a base de hierbas tienen muchas sustancias beneficiosas y, por lo tanto, pueden usarse para tratarlas ya sean en dentríficos o enjuague bucal, puede comparar la apariencia de las caries con los resultados que obtiene.

La inhibición del crecimiento bacteriano se debe principalmente a la alicina su acción antibacteriana. El ajo también introduce otras sustancias beneficiosas como

el ajoeno y el tiosato. Concordando con el autor Jiménez García. A; Zambrano Gutiérrez .M, que afirma que el ajo muestra efectividad de acción antibacteriana frente a las cepas de los streptococcus mutans.

El análisis de los resultados previos para los dos metabolitos, donde el material vegetal indicó la presencia de los componentes y mostró acción antibacteriana intermedia, demostró que la concentración de extracto acuoso de *Allium sativum* "ajo", inhibiendo a los *Streptococcus mutans*:

Para la concentración al 25% muestra un valor de $p=0.116$ este excede al nivel de significancia $p<0.05$ de ANOVA, por lo tanto se acepta la H_0 , y para la prueba de Tukyn se obtuvo un valor de $HSD= 1.23$ mg/ml, ninguno de los promedios de las muestras analizadas excede este valor por consiguiente no existe significancia en ninguna de las horas, asimismo el autor Orbegoso Paredes, logro resultados semejantes a los presentados en este investigación demostrando que el extracto de ajo al 25 % de *allium sativum*(ajo) tiene una eficacia disminuida en este tipo de *streptococcus*.

- Para la concentración al 50% muestra un valor de $p=0.01$ este es menor al nivel de significancia $p<0.05$ de ANOVA, por lo tanto se acepta la H_a , y para la prueba de Tukyn se obtuvo un valor de $HSD= 2.48$ mg/ml, los promedios de las muestras analizadas al menos uno excedio este valor (3.12mg/ml) por consiguiente existe diferencia honestamente significativa, asimismo Salazar Cordova. L, llega a demostrar que el *allium sativum* al 50% tiene mayor efectividad en el *streptococcus* aplica de forma in vitro. Los extractos acuosos, etanólico y metanólico de *Allium sativum* en las concentraciones

de 50% mostró acción antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- Para la concentración al 75% muestra un valor de $p=0.02$ este es inferior al nivel de significancia $p<0.05$ de ANOVA, por lo tanto se acepta la H_a , y para la prueba de Tukyn se obtuvo un valor de HSD= 3.04 mg/ml, los promedios de las muestras analizadas todas excedieron este valor (3.4mg/ml, 3.66mg/ml y 7.06mg/ml) por consiguiente existe diferencia honestamente significativa, concordando con los resultados obtenidos del autor Salazar Cordova. L, los extractos acuosos, etanólico y metanólico de *allium sativum* en las concentraciones de 50% mostró acción antibacteriano contra *E. coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Por consiguiente, el acción antibacteriano del extracto de ajo se verificó luego de medir el halo inhibitor de hasta 15.8mm y el valor de significancia en cada concentración hallandose valores hasta de 7.6 mg/ml de significancia para la prueba Tukey, según el autor Martínez Gómez, J; Chávez Llanos, en su trabajo concluyo con que a 75% y 100% se ha demostrado una efectividad antibacteriana significativa.

CONCLUSIÓN

1. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020, obteniéndose mayor significancia a una concentración del 75% del extracto.
2. La concentración de *Allium sativum* (ajo) al 25%, no presentan acción antibacteriana frente las cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotambambas-2020, con un valor de significancia de $p= 0.116$.
3. La concentración de *Allium sativum* (ajo) al 50%, presenta acción antibacteriana frente las cepas de streptococcus mutans, en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotambambas-2020, con un valor de significancia de $p= 0.01$.
4. La concentración de *Allium sativum* (ajo) al 75%, presentan una buena acción antibacteriano frente las cepas de streptococcus mutans, en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotambambas-2020, con un valor de significancia de $p= 0.02$.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los pacientes en general quienes presentan caries, presentando el ajo grandes beneficios y no presenta contraindicaciones significativas, para optar un tratamiento opcional frente a la caries dental.
2. Se recomienda a los centros de salud y hospitales a desarrollar y apoyar investigaciones que generen nuevas formas de tratamientos alternativos para la caries dental.
3. Se recomienda a las autoridades invertir en la practica y reforzamiento de proyectos de investigación en el ambito de la medicina alternativa en la Escuela Profesional de Estomatologia(odontologia).
4. Se recomienda a los docentes de la UTEA, apoyar y desarrollar investigación en el rubro de medicina alternativa para tratamientos de problemas bucales, asi como el apoyo a los estudiantes en este tipo de investigaciones experimentales.
5. Se sugiere a los estudiante de Estomatologia(odontologia)realizar mayores investigaciones sobre la aplicacion del ajo en la caries dental asi como de otras plantas medicinales que logren combatir dicha enfermedad.
6. Se sugiere realizar nuevos estudios de extractos de allim sativum con sustancia que mejora su sabor para ser aplicada a los pacientes con caries dental.

ASPECTOS ADMINISTRATIVO

Recursos

Recursos Humanos

- Asesor externo de investigación
- Laboratorista

Recursos Economicos

- Serán solventados por los propios investigadores

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	AÑO 2020				AÑO 2021							
	SET	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABRI	MAY	JUN	JUL	AGO
Redacción de título	X											
Esquema del Proyecto de investigación	X											
Elementos del Proyecto	X											
Objetivos de la investigación	X											
Justificación		X	X									
DESARROLLO												
Revisión Bibliográfica			X									
Elaboración de Marco teórico			X									
Recolección de datos			X									
Análisis de datos				X								
Presentación del avance de investigación				X	X							
CIERRE												
Redacción de tesis						X	X					
Revisión de la tesis								X	X			
Revisión del antiplagio(Turniting)										X	X	
Defensa de la tesis												X

Presupuesto y financiamiento

Presupuesto

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	TOTAL
Costo de laboratorio			
Biologo			s/600.00
Instrumento de laboratorio			
Placas petri	5 unidad	1	s/25.00
Etanol al 70%	1 unidad	1	s/3.00
Cepas de streptococcus mutans	1 unidad	1	s/600.00
Agua destilada 20 ml	2 unidades	2	s/8.00
Ajo	1 kl	1kl	s/10.00
Frasco Ambar	5 unidades	5	s/25.00
Calibrador digital	1 unidad	1	s/40.00
Extractor Oster	1 unidad	1	s/150.00
Balanza	1 unidad	1	s/50.00
Bienes			
Impresiones	9 unidades		S/ 90.00
Total			s/1511.00

Financiamiento

- Autofinanciamiento de los mismos investigadores.

BIBLIOGRAFIA

1. Liébana Ureña J. Microbiología oral. Segunda edición. España. Edit. McGraw-Hill. 1995.
2. Henostroza Haro, G. Caries Dental, Principios y procedimiento para la caries dental. 1ª ed. Lima.2007.
3. Rodríguez A, et al. Actualidad de las plantas medicinales en terapéutica. Acta Farmacéutica Portuguesa. 2015, vol. 4, n. 1, pp. 42-52. [Citado 24 junio 2018].
4. Organización Mundial de la Salud (OMS) informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. Ginebra.2004.
5. FDI Federación Mundial de Odontología. Oral Health Worldwide – Un informe de la FDI World Dental Federation. Ginebra: IED; 2015.
6. Ministerio de salud. Caries en el Perú. (MINSa).2017.
7. Zevallos L & Nuñez.O. Minsa Perú .2017.
8. Arteché A, Vanaclocha B, Güenechea JI. Fitoterapia (3.ª ed.). Vademécum de prescripción. Plantas medicinales. Barcelona: Masson, 1998.
9. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de La Nación. Subsecretaría de Valor Agregado y Nuevas Tecnologías. México.pag.2.
10. Ministerio de Agricultura y Riego.MINAGRI Dirección General de Políticas Agrarias.Perú.
11. Organización Mundial de la Salud. (2005). Carga mundial de enfermedades bucodentales y riesgos para la salud bucodental. Boletín de la Organización Mundial de la Salud.
12. Ahuja, A. (2014). Ajo: una hierba milagrosa para enfermedades orales - Una revisión. Revista de odontología comunitaria de salud oral.
13. Lopez Luego TM. El ajo- Propiedades Farmacologicas e Indicaciones Terapeuticas. 2007, Pag 26(1) 79-81.
14. Jiménez García, Aranza F- Zambrano Gutiérrez María. Efecto antibacteriano del extracto de allium sativum (ajo) blanco, púrpura y clorhexidina al 0,12% sobre cepas de streptococcus mutans. Universidad Central del Ecuador. 2017.

15. Paternina M., Villarreal D., Herrera A. Tesis de Grupo Interdisciplinario de Investigaciones y Tratamientos Odontológicos-Universidad de Cartagena. “Efecto antimicrobiano del extracto de *allium sativum* en *porphyromonas gingivalis* y *streptococcus mutans*”. Cartagena – Colombia.2016.
16. Tatiana Pava, Angel. Tesis Bacteriologa. Actividad antimicrobiana de extractos de *allium sativum* y *zingiber officinale* sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de cavidad oral. 2016.
17. Alba Gegunde Díaz. Tesis para obtener Grado en Biología “Evaluación de la capacidad antimicrobiana de dos productos naturales, el ajo y la miel”. Departamento de Biología Celular y Molecular de la Universidad de A Coruña.
18. Yaguana Jiménez, César Sebastián. Título de Licenciado en Microbiología Clínica y Aplicada. “Evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (culantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar Bauer-Kirby, sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica serovar typhi y *Salmonella* entérica serovar choleraesuis; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina”. Quito, 2015.
19. Sara Abigai Calisaya Chambi - Nuria Sumaira Coaquira Mamani. Tesis de Cirujano Dentista. Efecto inhibitorio del extracto de ajo (*allium sativum*) vs té verde (*camelia sinensis*) sobre *streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas. Universidad Nacional del Altiplano, Puno – 2018.
20. Orbegoso Paredes, Karen Elizabeth. Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. “Efecto antimicótico in vitro del extracto acuoso de los bulbos de *Allium sativum* (Ajo) frente a *Candida albicans*.” Trujillo.2018.
21. Olivera Torres, Carla Nuria-Principe Elescano, Pamela. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico. “Extracto etanólico de *Desmodium Molliculum* (kunth) dc. y su efecto antibacteriano sobre cultivos de *escherichia coli*, estudios in vitro”. Lima-Perú.2018.
22. Martínez Gómez, Jessica Marissa & Chávez Llanos, Ofelia. Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico “Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso del ajo (*allium sativum*

- l.) y del extracto etanólico de las hojas de carqueja (*Baccharis trimera* L.) en cepas *Escherichia coli* 0104:h4". Lima – Perú. 2017.
23. Leny Salazar Córdova; Tesis para optar el Título de Biólogo. "Efecto antimicrobiano de extractos de *Allium sativum* L. "ajo" sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923". Universidad Nacional de Piura Facultad de Ciencias Escuela Profesional de Ciencias Biológicas.
 24. Cameroni G. Cadena del Ajo. 2013 Octubre.
 25. Florencia Greco M. Estudio de proceso de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como principio bioactivo. [Tesis de grado]. Mendoza: Universidad Nacional de Cuyo, Ciencias Agrarias; 2011.
 26. Bender-Bojalil D, Bárcenas-Pozos M E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de los alimentos. *Revista Temas Selectos Ingeniera en Alimentos*. 2013; 7(1): 25-36.
 27. Córdova Betancourt M. Extracción y purificación de alicina a partir de ajo (*Allium sativum*): Implicaciones analíticas. Oaxaca: Instituto Politécnico Nacional, Ingeniería de procesos; 2010.
 28. Tasleem, A; Bhosale, J. Kumar, N., Mandal, T., Bendre, R., Lavekar, G., et al. (2009) Natural products-antifungal agents derived from plant. *J As Nat Prod Res*, (7), 621-38.
 29. Harris, J., Cottrell, S; Plummer, S. & Lloyd, D. (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 57; 282-286.
 30. Corrales, I. & Reyes, J. (2014). Actividad antimicrobiana y antifúngico de *allium sativum* en estomatología. 16 de abril. Pág. 59-68. Cuenca, E. & Baca, P. (2013). *Enciclopedia de las plantas medicinales*, Ediciones Océano, 2003.
 31. Ojeda, Juan; Oviedo, Eliana & Salas, Andrés. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES odontol*. 2013; 26 (1): 44-56.
 32. Voigt Rudolf, *Tratado de tecnología Farmacéutica*. España: Acriba, 1982.
 33. Barreto B, Juan Felipe. Efecto antibacteriano del diente de león *taxaxacun officinale* y el gualanday (*Jaracanda obtusifolio*) sobre *stapfilococcus aureus* y *pseudomona aureginosa* cuansante de enfermedades de la piel. *Carrere Bacteriologica*, Facultad Ciencias Basicas. Ponntificie Universidad Javeriana. Trabajo de Pre Grado. Bogota. 1997

34. Carbonnel F. Naturalmente esencial. Introducción a la aromaterapia. Los extractos bien preparados son de color más o menos oscuros; cuando han sido preparados al vacío, son ligeramente más claro.
35. Duque De Estrada, J. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar: Factores de virulencia.
36. Becker MR, Paster BJ, Leys EL, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Análisis molecular de especies bacterianas asociadas con caries infantiles. *J Clin Microbiol* 2002,40(3): 1001-1009.
37. Camere, R. Evaluación in vitro del Efecto Antibacteriano y Citotóxico del Extracto Metanólico de semilla y pulpa de la *Myrciaria dubia* (camu camu) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (atcc 25175) y *Streptococcus sanguinis* (atcc 10556), Lima- Perú 2015.
38. Loesche WJ. Role *Streptococcus Mutase* en caries dental humana 1986, 50: 353-380.
39. Barasona Mercado, P. García Barbero, J. Epidemiología de la caries. Patología y terapéutica dental. p. 137-45. 1ª ed. Madrid: Síntesis S.A.; 1997. Perera PJ, Abeyweera NT, Fernando MP, Warnakulasuriya TD, Ranathunga N: Prevalencia de caries dental en una cohorte de niños en edad preescolar que viven en el distrito de Gampaha, Sri Lanka: un estudio descriptivo de corte transversal. *BMC Oral Health* 2012, 12:49.
40. Organización Mundial de la Salud. (febrero de 2007). Salud Bucodental (Nota informativa N° 318).
41. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. La virulencia de *Streptococcus mutans* y la capacidad de formar biopelículas. *Revista Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas*. 2014; 33 (4): 499-515.
42. Graciano M, Correa Y, Martínez C, Burgos A, Ceballos J, Sánchez L. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. *Rev Nac de Odontol*. 2012; 8(14):32-45.
43. Jiang S, Gao X, Jin L, Lo EC. Diversidad de microbiomas salivales en niños sin caries y / afectados por caries. *IntJ Mol Sci* (2016) 17 (12)

44. Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la caries dental en niñas y niños: Guía técnica / Ministerio de Salud. 2017.
45. Manrique, E. Casanova A. Metrología Básica, Edebé Profesional. Barcelona, 2011.
46. Mercado Martínez P, Arévalo Campos L. Sensibilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* y *Pseudomona aureginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* "Ajo". REBIOL. 2013;33(1).
47. Instituto Nacional de Salud (INS). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión Ministerio de Salud del Perú; 2002. (Serie de Normas Técnicas; 30) pg.58-66.
48. Hernández Sampieri, Roberto, Fernández Collado, Carlos. Metodología de la investigación, 5ª Edición, 2010.
49. Manuel E. Cortés Cortés. Miriam Iglesias León. Generalidades sobre Metodología de la Investigación. 1ª ed. Mexico.2004.

WEBGRAFIA – LINKGRAFIA

- <https://www.cuerpomente.com/guia-alimentos/ajo>
- <http://www.guia-nutricion.com/ajo-crudo/>
- http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005
- <https://www.muyinteresante.es/salud/fotos/beneficios-del-ajo/ajo2>
- https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000700017
- <https://todoingenieriaindustrial.wordpress.com/metrologia-y-normalizacion/calibrador-vernier/>
- <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684>
- <http://www.igpajomorado.es/blog/ajo-pocas-calorias-mucha-salud>
- <https://es.wikipedia.org/wiki/Extracto>
- <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
- <https://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/ajo.pdf>
- <http://www.redoe.com/ver.php?id=274>
- <http://multiciencias.com/wp-content/uploads/2017/07/CALIBRADOR-VERNIER-DIGITAL.pdf>
- <https://www.worldcat.org/title/caries-dental-principios-y-procedimientos-para-el-diagnostico/oclc/655875385>
- <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/>
- <https://www.fdiworlddental.org/es/resources/white-papers/oral-health-worldwide>
- <https://www.minsa.gob.pe/transparencia/index.asp?op=107>
- <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/13023-pasco-puno-y-apurimac-son-las-regiones-con-mayor-prevalencia-de-caries-dental-en-ninos-de-3-a-15-anos>
- <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-plantas-medicinales-con-accion-diuretica-13761>
- <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/arg144508.pdf>
- http://minagri.gob.pe/portal/images/cendoc/manuales/ajo/ajo_feb11_grande.jpg

- <https://www.who.int/bulletin/volumes/83/9/petersen0905abstract/es/>
- <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5335>
- <https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/11227/4240/1/INFORME-FINAL%2013-12-16%20%20%281%29.pdf>
- <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20405/PavaAngelTatiana2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- <https://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/17459>
- <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10160/TESIS%20CESAR%20YAGUANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10252>
- <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/5148?show=full>
- <http://repositorio.uandina.edu.pe/handle/UAC/1749?mode=full>
- http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/1878/TESIS_MARTINEZ%20GOMEZ%20Y%20CHAVEZ%20LLANOS.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- <http://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/275/BIO-SAL-COR-14.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- <https://tripenpuagtia.blogspot.com/2018/10/tratado-de-tecnologia-farmaceutica.html>
- <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296>
- http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/4202/tesis-florenciagreco.pdf
- <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Bender-Bojalil-et-al-2013.pdf>
- <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9243/81.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=57536>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11759674>
- http://www.rev16deabril.sld.cu/index.php/16_04/article/view/22
- <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2684>
- http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007

- <https://docplayer.es/54983036-Articulo-de-investigacion-doi-adriana-posadalopez-msc-1-2-andres-a-agudelo-suarez-phd.html>
- <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24154653>
- http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf

ANEXOS

Matriz de Consistencia

Efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%,50%70%, sobre cepas de streptococcus mutans.

Planteamiento del problema	Hipótesis	Objetivos	Variables e Indicadores																		
<p>Problema Central:</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h, 36h, 48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020?</p> <p>Problemas Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%,50%,75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24 h,36h,48h en el Hospital Tambobamba.Cotabambas -2020? ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas -2020? ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020? 	<p>Hipótesis General</p> <p>Ha: El extracto de allium sativum(ajo) al 25%, 50%, 75%, usados de forma in vitro tienen un efecto antimicrobiano sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba. Cotabambas-2020.</p> <p>Ho: El extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75%, usados de forma in vitro no tienen un efecto antimicrobiano sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.</p> <p>Hipótesis Específicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> El extracto de allium sativum (ajo) al 25 % que se aplicará en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020. El extracto de allium sativum (ajo) al 50 % que se aplicará en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020. El extracto de allium sativum (ajo) al 75 % que se aplicará en forma in vitro es efectivo sobre cepas de streptococcus mutans en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020. 	<p>Objetivo General:</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25%, 50%, 75% sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Identificar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 25 % sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020. Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto allium sativum (ajo) al 50%, sobre cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020. Verificar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de allium sativum (ajo) al 75% cepas de streptococcus mutans en las 24h,36h,48h, en el Hospital Tambobamba.Cotabambas-2020.. 	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="1377 432 1653 512">Variables</th> <th data-bbox="1653 432 1861 512">Dimensiones</th> <th data-bbox="1861 432 2011 512">Indicadores</th> <th data-bbox="2011 432 2112 512">Numero items</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="1377 512 1653 874" rowspan="3"> Variable independiente Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de allium sativum (ajo). </td> <td data-bbox="1653 512 1861 651">Extracto de ajo al 25%</td> <td data-bbox="1861 512 2011 651">25%</td> <td data-bbox="2011 512 2112 651">1,2</td> </tr> <tr> <td data-bbox="1653 651 1861 762">Extracto de ajo al 50%</td> <td data-bbox="1861 651 2011 762">50%</td> <td data-bbox="2011 651 2112 762">1,3</td> </tr> <tr> <td data-bbox="1653 762 1861 874">Extracto de ajo al 75%</td> <td data-bbox="1861 762 2011 874">75%</td> <td data-bbox="2011 762 2112 874">1,4</td> </tr> <tr> <td data-bbox="1377 874 1653 1228"> Variable dependiente Cepas de Streptococcus mutans. </td> <td data-bbox="1653 874 1861 1228">Streptococcus mutans</td> <td data-bbox="1861 874 2011 1228">Vernier</td> <td data-bbox="2011 874 2112 1228">1,2,3,4</td> </tr> </tbody> </table>	Variables	Dimensiones	Indicadores	Numero items	Variable independiente Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de allium sativum (ajo).	Extracto de ajo al 25%	25%	1,2	Extracto de ajo al 50%	50%	1,3	Extracto de ajo al 75%	75%	1,4	Variable dependiente Cepas de Streptococcus mutans.	Streptococcus mutans	Vernier	1,2,3,4
Variables	Dimensiones	Indicadores	Numero items																		
Variable independiente Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de allium sativum (ajo).	Extracto de ajo al 25%	25%	1,2																		
	Extracto de ajo al 50%	50%	1,3																		
	Extracto de ajo al 75%	75%	1,4																		
Variable dependiente Cepas de Streptococcus mutans.	Streptococcus mutans	Vernier	1,2,3,4																		

METODO Y DISEÑO	POBLACION	TECNICAS E INSTRUMENTOS	METODO DE ANALISIS DE DATOS								
<p>Tipo de estudio Experimental, aplicativo</p> <p>Diseño de Investigación Experimental puro Transversal Prospectivo</p>	<p>Población</p> <table border="1" data-bbox="521 371 1068 505"> <tr> <td>Cepas</td> <td>Numero de cepas</td> </tr> <tr> <td>Streptococcus mutans</td> <td>72</td> </tr> </table> <p>Muestra</p> <table border="1" data-bbox="521 697 1068 831"> <tr> <td>Colonias</td> <td>Numero de cepas</td> </tr> <tr> <td>Streptococcus mutans</td> <td>36</td> </tr> </table>	Cepas	Numero de cepas	Streptococcus mutans	72	Colonias	Numero de cepas	Streptococcus mutans	36	<p>Técnica: Observación participante selectiva</p> <p>Instrumento: Ficha de recolección de datos Digital de Vernier</p>	<p>Método T student</p> <p>Codificar: se ordenar y codificara datos a través de la escala de vernier.</p> <p>Calificación: Se calificará a través de un modelo estadístico.</p> <p>Tabulación: mediante un recuento de sistematización de datos ordenados en la matriz, para su distribución numérica y porcentual de forma manual.</p> <p>Interpretación: se procederá a codificarlos, tabularlos, su interpretación que permite la elaboración, presentación de tablas y gráficos estadísticos que reflejan los resultados.</p>
Cepas	Numero de cepas										
Streptococcus mutans	72										
Colonias	Numero de cepas										
Streptococcus mutans	36										

OPERACIONES DE VARIABLE

Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de allium sativum (ajo) al 25%,50%.75% sobre cepas de streptococcus mutans.

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
<p>EXTRACTO DE AJO</p> <p>El extracto de ajo tiene efecto antibacteriano, antiinflamatorio, analgésicas, lo cual resulta un amplio beneficio anticariógeno en la caries dental.</p> <p>https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-ajo-13097334</p>	<p>Extracto de ajo al 25 %</p> <p>Son sustancias con propiedades antiinflamatorios, bactericidas, antiséptico, se recomienda en el dolor de muelas y previniendo de las infecciones externas e internas.</p> <p>https://alimentos.org.es/ajo</p>	25%
	<p>Extracto de ajo al 25 %</p> <p>Es conocido por sus increíbles propiedades antimicrobianos, antimicóticos, analgésico, se utiliza para el dolor dental y en los cuales puede ser utilizados en tratamientos menores de acción antibacteriana.</p> <p>https://www.vegaffinity.com/alimento/ajo-beneficios-informacion-nutricional--f5</p>	50%
	<p>Extracto de ajo al 75 %</p> <p>El extracto de Ajo atreves de la medicina alternativa se logra afianzar de las propiedades, logrando potenciar sus propiedades antimicrobianas y antisépticas dentales.</p> <p>https://www.cuerpomente.com/guia-alimentos/ajo</p>	75%
<p>ESTREPTOCOCCUS MUTANS</p> <p>Microorganismos cariogenicos asociados a la caries dental y biopelícula dental, se refleja por adaptar por su adaptación a sintetizar glucanos, fijar compuestos y adaptar su aciduricidad.</p> <p>https://www.lifeder.com/streptococcus-mutans/</p>	<p>Colonia</p> <p>Los estreptococos del grupo mutans (MS) constituyen un grupo de bacterias, que produce ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico cuando metaboliza los carbohidratos fermentables asociándose en la caries dental. file:///E:/colonias/2684-12008-2-PB.</p>	Vernier



GOBIERNO REGIONAL DE APURIMAC

DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD APURIMAC

RED DE SALUD COTABAMBA

HOSPITAL TAMBOBAMBA

"Año de la Universalización de la salud"



EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO DE ALLIUM SATIVUM (AJO) AL 25%, 50%, 75%, SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN EL HOSPITAL TAMBOBAMBA. COTABAMBA- 2020.

19 DE OCTUBRE DEL 2020 TAMBOBAMBA - COTABAMBA

MEDIO DE CULTIVO: AGAR MUELLER - HINTON

CEPA DE ESTUDIO: STREPTOCOCCUS MUTANS

Bachiller: SALDIVAR GONZALES, Danny Dennis

Bachiller: MEDRANO KARI, Stefany

Cultivo de Cepas Bacterianas

Microorganismo	Medio de cultivo	Temperatura	Tiempo	Incubación
<i>Streptococcus mutans</i>	Agar Mueller-Hinton	37°C	24horas	Microaerofilia (CO ₂)


RED DE SALUD COTABAMBA
HOSPITAL TAMBOBAMBA
Alex M. Chafloque Millones
MICROBIOLOGO
C.B.E. N° 1480

Bigo. Alex Manuel Chafloque Millones

DNI N° 42754924

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LOS ANDES

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS



Placa	Numero de cepas	24HR		36HR		48HR				
		Lectura 1 (mm)	Control		Lectura 2 (mm)	Control		Lectura 3 (mm)	Control	
			(+)	(-)		(+)	(-)		(+)	(-)
Placa N1	1									
	2									
	3									
	4									
Placa N2	1									
	2									
	3									
	4									
Placa N3	1									
	2									
	3									
	4									
Promedio	12									


 REU DE SALUD CUTABAMBA
 HOSPITAL TUMBAMBA
 Alex M. Chafloque Millones
 MICROBIOLOGO
 C.B.P. N° 7800

Blgo. Alex Manuel Chafloque Millones

DNI N° 42754924

ANEXO

Fotografía 1. Bulbos pelados y lavados



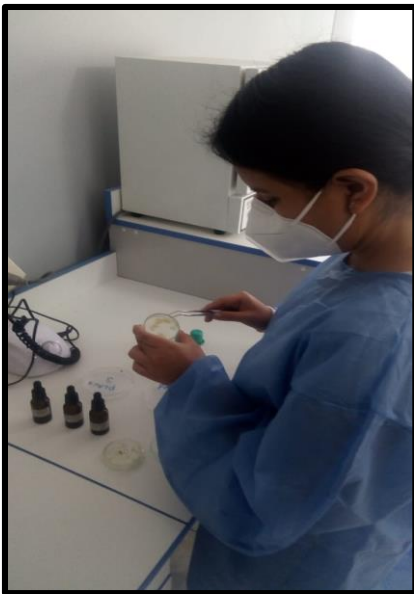
Fotografía 2. Triturar el ajo y obtención del extracto acuoso



Fotografía 3. Frasco de color ámbar con 80ml de ajo puro.



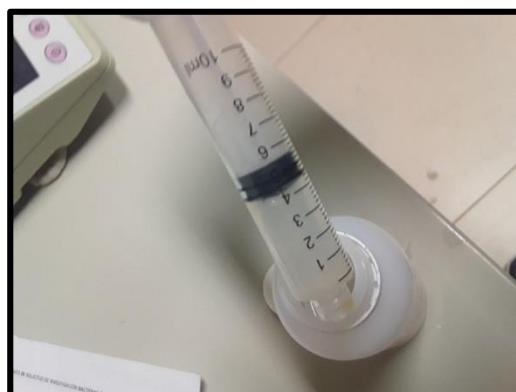
Fotografía 4. Preparación de las concentraciones en sus respectivos frascos.



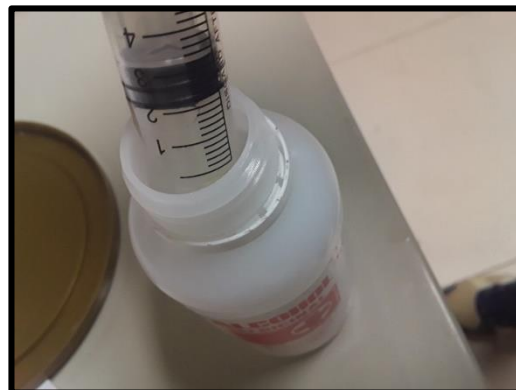
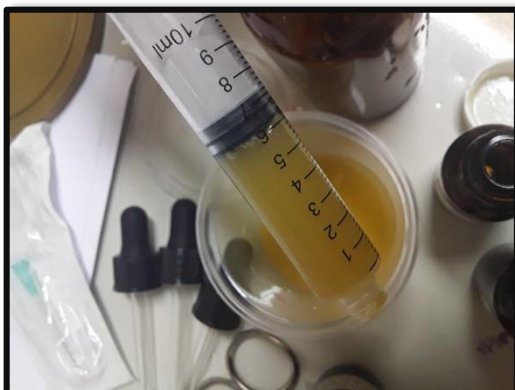
Fotografía 5. Concentración del extracto de *allium sativum* (ajo) al 25 % y etanol al 75%.



Fotografía 6. Concentración del extracto de *allium sativum* (ajo) al 50 % y etanol al 50%.



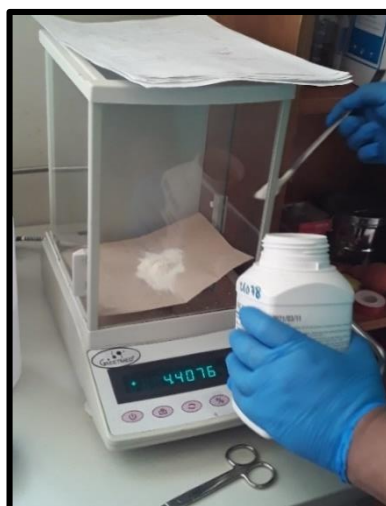
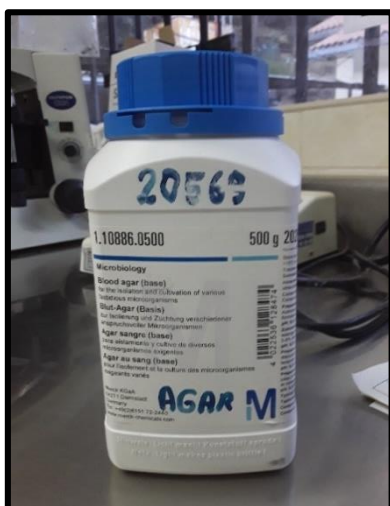
Fotografía 7. Concentración del extracto de *allium sativum* (ajo) al 75 % y etanol al 25%.



Fotografía 8. Concentración del extracto de *allium sativum* (ajo) al 75 % y etanol al 25%.



Fotografía 9. Agar base 20 gr en la balanza analítica.



Fotografía 10. 20 gramos de agar base en 500 ml de agua destilada en un matraz.



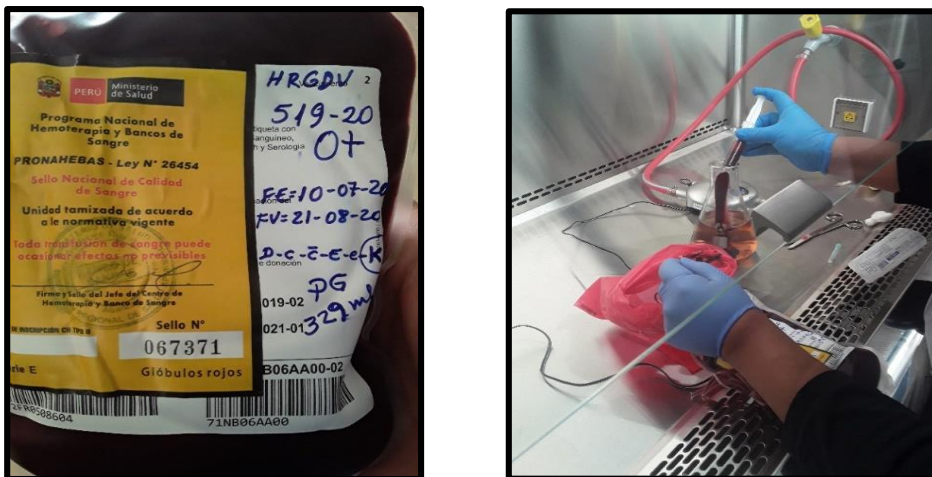
Fotografía 11. Autoclave a 120°C.



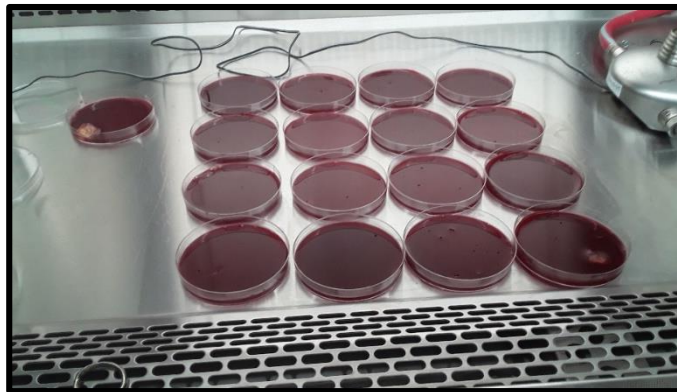
Fotografía 12. Dejar enfriar hasta alcanzar una temperatura a 50°- 45°C.



Fotografía 13. Agregar 5 -10% de sangre con una pipeta estéril, agitar por rotación.



Fotografía 14. Se repartió homogenizado en 16 placas Petri estériles.



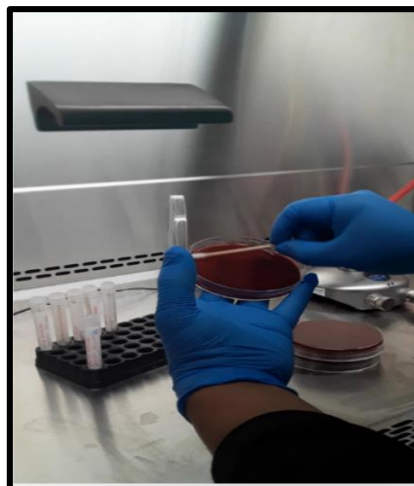
Fotografía 15. Se incubó 24 horas a las 36.5°C.



Fotografía 16. Hisopado de 6 personas para el cultivo de Streptococcus Mutans.



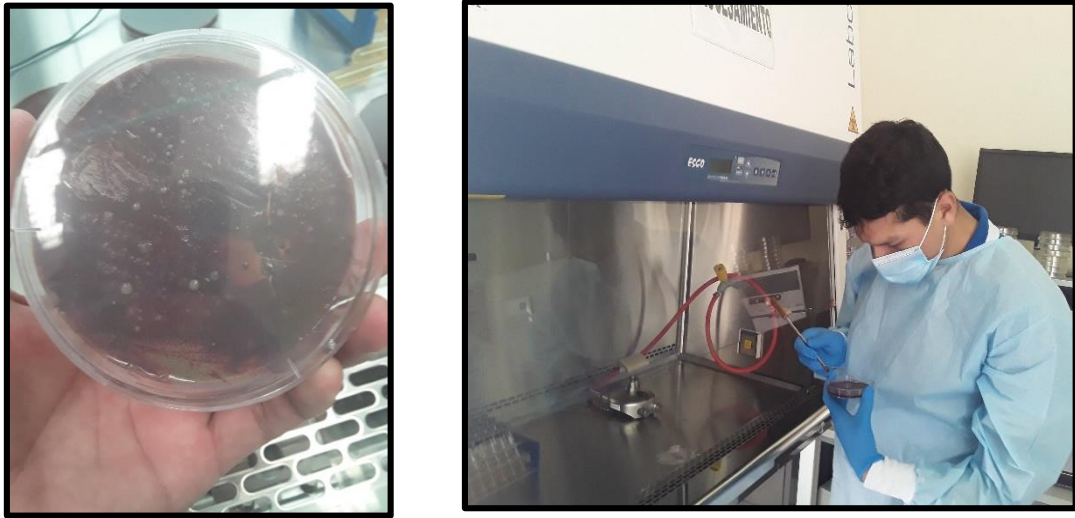
Fotografía 17. Cultivo de 6 Placas Petri de agar nutritivo con el Streptococcus Mutans en placas Petri.



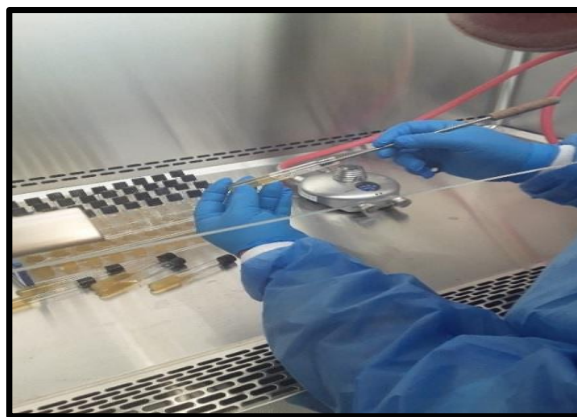
Fotografía 18. Se realizó con latas una caja de anaerobiosis, se incubó a 37°C por 24 horas.



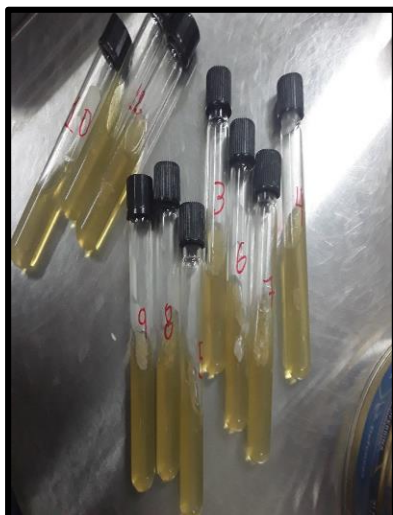
Fotografía 19. Replicación y crecimiento del *Streptococcus mutans* en el agar sangre.



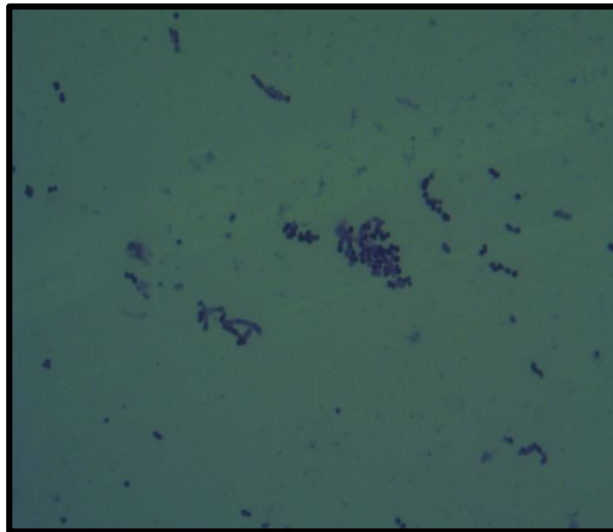
Fotografía 20. Replicación y crecimiento del *Streptococcus mutans* en el tubo de ensayo.



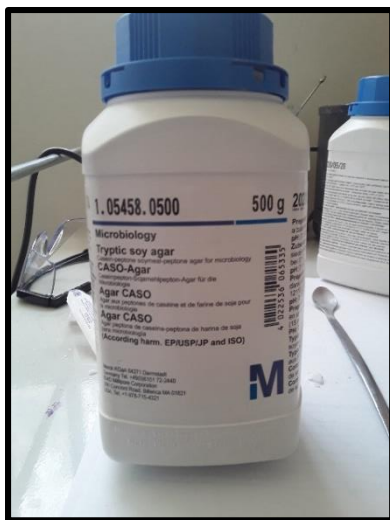
Fotografía 21. Lectura seleccionada y reactivo tinto rial.



Fotografía 22. Morfología celular de streptococcus mutans.



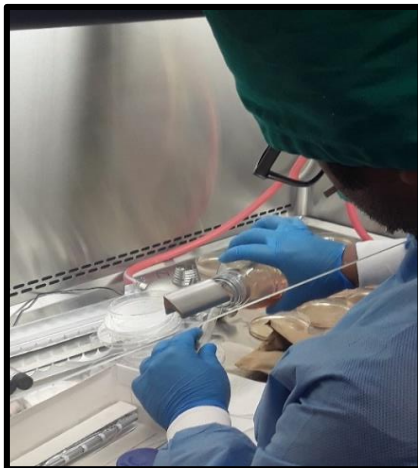
Fotografía 23. Agar Tripticasa y preparación de 14 gr de Agar Tripticasa.



Fotografía 24. Homogenizado y Autoclavado después de las 24 horas.



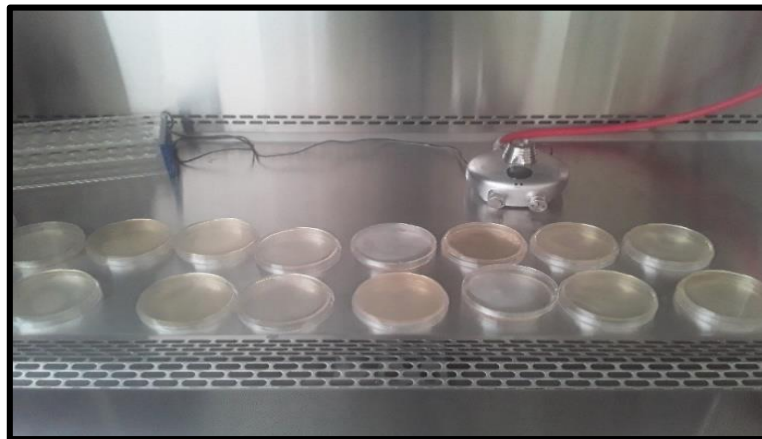
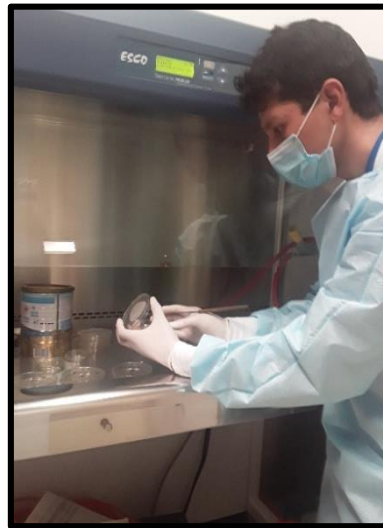
Fotografía 25. Solidificación del Agar Trypticasa.



Fotografía 28. Cultivo madre de streptococcus mutans

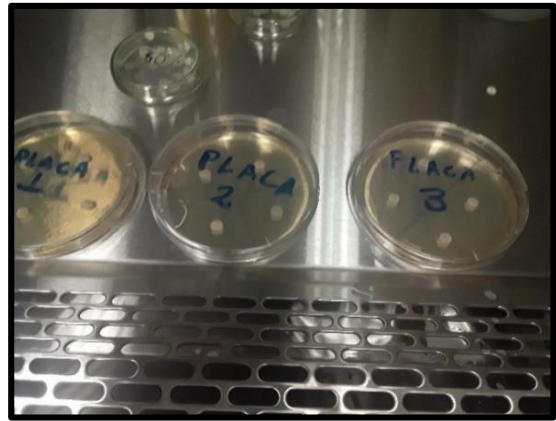
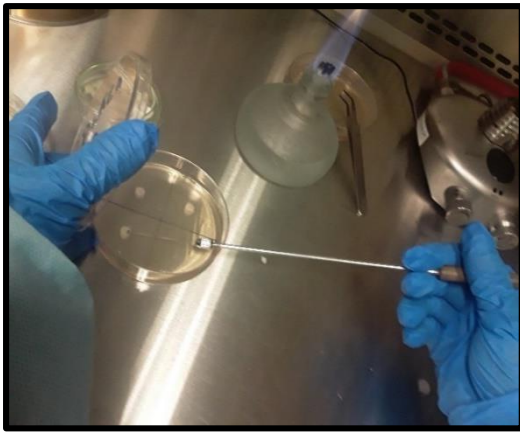
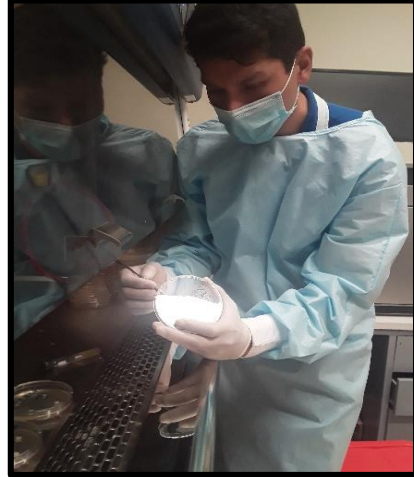
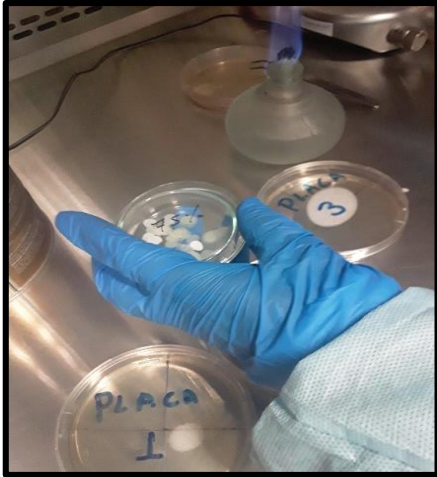


Fotografía 29. Sembrado de streptococcus mutans



Fotografía 30. Colocación de discos impregnados de extracto allium sativum (ajo) al 25%,50% y 75%.

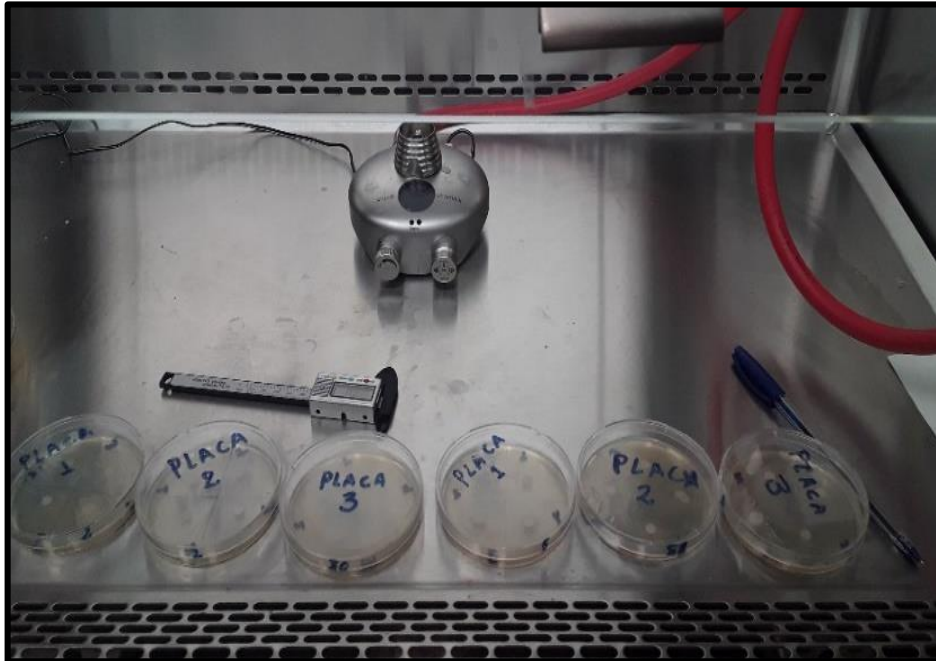




Fotografía 31. Incubación de la siembra.



Fotografía 32. Lectura de los halos de inhibición sobre las cepas de streptococcus mutans



Fotografía 33. Medición en mm con la regla de Vernier



