

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

**COMPARACIÓN, *in vitro*, DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DE UN COLUTORIO A BASE DE
EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa*
(TARA) A DIFERENTES CONCENTRACIONES
FRENTE A CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175
TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

ASCATE GARCÍA, MILTON CÉSAR

ORCID: 0000-0002-0258-4535

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO-PERÚ

2021

1. TÍTULO

**COMPARACIÓN, *in vitro*, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
DE UN COLUTORIO A BASE DE EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A
DIFERENTES CONCENTRACIONES FRENTE A CEPA DE
Streptococcus mutans ATCC 25175**

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Ascate García, Milton César

ORCID: 0000-0002-0258-4535

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

Presidente

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID ID: 0000-0002-9237-918X

Miembro

Suarez Natividad, Daniel Alain

ORCID ID: 0000-0001-8047-0990

Miembro

Córdova Salinas, Imer Duverli

ORCID ID: 0000-0002-0678-0162

3. FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Mgtr. De La Cruz Bravo, Juver Jesús

PRESIDENTE

Mgtr. Suarez Natividad, Daniel Alain

MIEMBRO

Mgtr. Córdova Salinas, Imer Duverli

MIEMBRO

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita

ASESOR

4. AGRADECIMIENTO

A Dios, por su fiel amor y gracia, ya que me permite alcanzar mis metas me siento satisfecho por su ayuda incondicional.

Agradezco a mis docentes, los cuales son pilares de sapiencia, quienes han brindado su tiempo y voluntad para ayudarme a lograr parte de mis metas.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis padres, Antonio Ascate Polo y Natividad García Anticona por haberme formado como la persona que soy en el presente, ya que debido a sus consejos he podido superar los retos de la vida, por su motivación que ha sido indispensable para fortalecer mis debilidades y lograr mis objetivos.

5. RESUMEN

Objetivo. En este presente trabajo de investigación se comparó el efecto antibacteriano *in vitro* entre tres concentraciones de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Metodología. El estudio fue de tipo cuantitativo, nivel explicativo, diseño experimental, el cual se llevó a cabo en una población conformada por 10 repeticiones de cada grupo de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los cuales fueron incubados en Caldo Brain Heart Infusión (BHI) y en Agar TSYB. Además, se recolectó e identificó la planta de la tara de la cual se elaboró colutorios de su fruto en diferentes concentraciones, 25, 30 y 35 %. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. **Resultados.** El promedio de halos de inhibición, del colutorio al 25% fue 6,6 mm, al 30% fue 15.0 mm, y al 35% fue 19,3 mm. Según la prueba no paramétrica Kruskal Wallis, ($p = 0.000 < 0.05$), si existe diferencia estadística entre los tratamientos. **Conclusión.** El colutorio a base de *Caesalpinia spinosa* al 35% presentó mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones.

Palabras clave: Antibacteriano, *Caesalpinia spinosa*, *Streptococcus mutans*.

Abstract

Objective. In this present research work the antibacterial effect in vitro was compared between three concentrations of a mouthwash based on hydroethanolic extract of *Caesalpinia spinosa* against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Methodology.** The study was quantitative, explanatory level, experimental design, which was carried out in a population made up of 10 repetitions of each group of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains, which were incubated in Brain Heart Infusion Broth (BHI) and in TSYB Agar. In addition, the tare plant was collected and identified, from which mouthwashes of its fruit were made in different concentrations, 25, 30 and 35%. The antimicrobial effect was evaluated by the Kirby Bauer method. **Results.** The average of inhibition halos, of the mouthwash at 25% was 6.6 mm, at 30% it was 15.0 mm, and at 35% it was 19.3 mm. According to the non-parametric Kruskal Wallis test, ($p = 0.000 < 0.05$), if there is a statistical difference between the treatments. **Conclusion.** The 35% *Caesalpinia spinosa*-based mouthwash had a greater antibacterial effect than the other concentrations.

Key words: Antibacterial, *Caesalpinia spinosa*, *Streptococcus mutans*.

6. ÍNDICE

1. Título.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Hoja de firma de jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de dedicatoria.....	vi
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Índice.....	ix
7. Índice de gráficos y tablas.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	4
III. Hipótesis.....	22
IV. Metodología.....	23
4.1 Diseño De La Investigación.....	23
4.2 Población Y Muestra.....	24
4.3 Definición Y Operacionalización De Variables.....	26
4.4 Técnicas E Instrumentos De Recolección De Datos.....	27
4.5 Plan De Análisis.....	34
4.6 Matriz De Consistencia.....	35
4.7 Principios Éticos.....	36
V. Resultados.....	38
5.1 Resultados.....	38
5.2 Análisis de los resultados.....	41
VI. Conclusiones.....	45
Aspectos complementarios.....	46
Referencias bibliográficas.....	47
Anexos.....	54

7. ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	38
Tabla 2: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	39

Índice de gráficos

Gráfico 1: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	40
--	----

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas que afecta a los seres humanos a nivel mundial,¹ donde es considerada una de las enfermedades más frecuentes y prevalentes.¹ La caries dental es resultado de un proceso activo entre la desmineralización y remineralización, debido a la adherencia bacteriana sobre el esmalte dental, con el transcurso del tiempo se produce una pérdida significativa de minerales del esmalte dentario y se evidencia cambio de coloración y formación de cavidades. Se considera a la caries dental un complejo sistema infectocontagioso, crónico, progresivo y multifactorial causada por microorganismos provenientes de la placa bacteriana.^{1, 2,3}

Las importantes bacterias provenientes de la placa bacteriana y comprometidos con el origen y progresión de la caries dental son: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. y *Actinomyces* sp.^{4,5,6} Diversas investigaciones han asociado al *S. mutans* con la formación de caries dental de tal manera que, en la actualidad dicho microorganismo se considera como uno de los principales factores causales de dicha enfermedad en el ser humano⁷. Este microorganismo cariogénico, y patógeno influye en el proceso de desmineralización del órgano dental, el cual mediante los ácidos que produce a partir de los sustratos fermentables trae como consecuencia la desmineralización del esmalte dental.^{8,9}

La Organización Mundial de la Salud (OMS), señala la importancia de añadir a la salud de los pobladores los medios y conocimiento sobre el uso de la medicina tradicional.¹⁰

La vegetación de nuestro país es muy valiosa, por poseer diferentes tipos de plantas, así mismo la medicina tradicional le atribuye poderosas propiedades medicinales, las cuales son muy pocas estudiadas, tal como la *Caesalpinia spinosa* (tara) perteneciente a la familia *Fabaceae*. La tara es una planta oriunda del Perú utilizada desde la época prehispánica en la medicina tradicional y en años recientes en la industria peletera o en la producción de goma tara.^{11,12}

La tara es un árbol de color verdoso que mide 3-5 m. de alto, a veces de más tamaño, dependiendo del el lugar en el que se cultiva, tiene una copa abultada y ramas cortas, estriadas, con espinas puntiagudas curvadas entre los nudos; su tallo es corto, a veces se ramifica desde el pie dando el aspecto de varios troncos y con la corteza rugosa de color gris¹³

En la medicina natural ha recibido mucha atención y ha evolucionado en sus estudios, debido a las diferentes propiedades medicinales que se le han descubierto a través de los tiempos. Se ha usado empíricamente y se ha determinado con diferentes métodos los principios activos que posee, como su actividad antimicrobiana diversa.^{12,13, 14}

Dado lo descrito anteriormente, se formuló el siguiente enunciado de problema: ¿Cuál es el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175? Así mismo se tuvo como objetivo general comparar el efecto antibacteriano *in vitro* entre tres concentraciones de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175; y como objetivos específicos ; evaluar *in vitro* el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia*

spinosa (tara) al 25, 30, 35 % frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, y como control positivo se utilizó gluconato de clorhexidina al 0.12 % ; como control negativo etanol al 70%. Este estudio fue de tipo cuantitativo, prospectivo, transversal, analítico, nivel explicativo, diseño experimental.

La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales fueron incubadas en Caldo Brain Heart Infusión (BHI) y en Agar TSYB. Además, se recolectó e identificó la planta de la tara de la cual se elaboró colutorios de su fruto en diferentes concentraciones, 25, 30 y 35 %. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. Los resultados indicaron que, el colutorio al 25% obtuvo un promedio de 6,6 mm de halos de inhibición, al 30% 15.0 mm, y al 35% 19,3 mm. Según la prueba no paramétrica Kruskal Wallis, ($p = 0.000 < 0.05$), sí existe una diferencia estadística entre los tratamientos. En conclusión, el colutorio a base de *Caesalpinia spinosa* al 35% presentó mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones.

Debido que no existen estudios que enfrenten este extracto hidroetanólico bajo el preparado de colutorio y contando con recursos humanos y material disponible para elaborar un colutorio del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) y buscando una solución a la caries dental, resulta importante encontrar una alternativa como esta que sean benéficas, de bajo costo y de fácil acceso para la sociedad y puedan incluirse en productos que puedan disminuir y controlar este microorganismo y evitar malestares a la población susceptible.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Nacionales

Cholán K, et al. (Trujillo, Perú, 2019) En su estudio titulado: “Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*”. El **objetivo** del estudio fue determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* frente a diferentes bacterias. **Metodología.** El diseño fue experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, previamente activados y sembrados en un medio de cultivo. Asimismo, se elaboraron extractos hidroetanólicos de las vainas de tara en concentraciones del 20, 40 y 80%. Para medir el efecto antibacteriano, se empleó Kirby-Bauer, se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los **resultados** indicaron que, para *S. typhi* la concentración al 20% obtuvo 23.11 mm, al 40% obtuvo 26 mm, al 80% obtuvo 29.33 mm, para *E. coli* la concentración al 20% obtuvo 15.88 mm, al 40% obtuvo 19.77 mm y al 80% obtuvo 24.44 mm. En **conclusión**, los extractos hidroetanólicos de las bayas de tara presentaron efecto antibacteriano frente a diferentes bacterias¹⁵.

Castro M. (Lima, Perú, 2017) En su estudio titulado: “Evaluación In vitro de la actividad antibacteriana y citotoxicidad de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556)”. El **objetivo** del estudio fue determinar el efecto antibacteriano del extracto metanólico de tara frente a *S. mutans*. **Metodología.**

El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó en 18 pruebas, los cuales se llevaron a cabo en un extracto metanólico de las vainas de tara, en una concentración de 0.5mg/ul y como grupo control utilizó clorhexidina al 0.12%, estos extractos fueron expuestos a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 activadas y sembradas en un medio de cultivo. El efecto antibacteriano fue medido con el Kirby Bauer. El instrumento de medición utilizado fue un vernier para medir los halos de inhibición bacteriana. Los **resultados** indicaron que, el extracto metanólico de tara obtuvo un halo de inhibición de 25.61 mm y la clorhexidina al 0.12% 24.97 mm. En **conclusión**, el extracto metanólico de las vainas de la tara obtuvo efecto antibacteriano frente a *S. mutans*¹⁶.

Cortez K, et al. (Cajamarca, Perú, 2017) En su estudio titulado: “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “taya” frente a *Streptococcus mutans*”. El **objetivo** del estudio fue, determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las vainas de tara frente a *S. mutans*. **Metodología.** El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 activados y sembrados en un medio de cultivo, el cual fue expuesto sobre el extracto hidroalcohólico de las vainas de tara en concentraciones del 10, 50 y 100%. Para determinar el efecto antibacteriano del extracto, se utilizó el método de Kirby Bauer, teniendo como controles a la Clorhexidina y alcohol de 70°. Los **resultados** indicaron que, el extracto hidroalcohólico al 10 obtuvo un halo de inhibición de 8 mm, al 50% obtuvo 11 mm, al 100% obtuvo 13 mm, con clorhexidina al 0.12% obtuvo 25 mm y etanol 70° obtuvo 6 mm. En **conclusión**,

los extractos hidroalcohólicos de las vainas de tara presentaron efecto antibacteriano frente a *S. mutans*¹⁷.

Américo N, et al. (Lima, Perú, 2016) En su estudio titulado: “Composición química del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* “tara”, evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*”. Realizaron un estudio con el **objetivo** de evaluar el efecto antibacteriano de la tara frente a *Streptococcus mutans*. **Metodología.** Para este estudio se recolectaron 16 kg de las vainas de la tara y fue elaborado como un aceite, luego se diluyeron en alcohol de 96° y se obtuvieron diferentes concentraciones de 25%, 50% y 100%, para evaluar su efecto antibacteriano frente a *S. mutans*, los cuales fueron cultivadas en agar solido Mueller Hinton con el propósito de evidenciar la formación de halos de inhibición de crecimiento bacteriano. Como control se utilizó etanol de 96° y ciprofloxacino 5ug. Los **resultados** indicaron que, la concentración al 25% obtuvo un halo de inhibición de 16 mm, al 50% un halo de 18 mm, al 100% un halo de 21 mm y el ciprofloxacino un halo de 25 mm. En **conclusión**, el aceite esencial de tara en diferentes concentraciones presenta efecto antibacteriano frente a *S. mutans*¹⁸.

Abanto M. (Trujillo, Perú, 2016) En su estudio titulado: “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Realizó un estudio con el **objetivo** de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la tara sobre *Streptococcus mutans*. **Metodología.** Para el estudio se utilizaron cepas de *S. mutans* ATCC 25175, los

cuales fueron incubadas en medios de Agar soya tripticasa, luego se realizó una prueba de susceptibilidad bacteriana. Se recolectaron las vainas de la tara para ser identificados y elaborados en extractos etanólicos del 40%, 60% y 80%. Como grupo control se utilizó la penicilina G. para evaluar el efecto antibacteriano se midieron los halos de inhibición bacteriana de las placas. Los **resultados** indicaron que, la concentración al 40% midió 8.10 mm, al 60% midió 14 mm, al 80% midió 14.80 mm y el grupo control 16.9 mm. En **conclusión**, el extracto etanólico de la tara en diferentes concentraciones presenta efecto antibacteriano frente a *S. mutans* ¹⁹.

Centurión K. (Trujillo, Perú, 2015) En su estudio titulado: “Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668”. El **objetivo** del estudio fue determinar el efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas de *S. mutans*. **Metodología.** El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *S. mutans* ATCC 35668, los cuales fueron previamente activados y sembrados en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos etanólicos de las vainas de la tara en concentraciones del 5%, 10%, 20% ,30%, y como control positivo se utilizó clorhexidina al 0.12%. Los **resultados** indicaron que la concentración al 5% obtuvo un halo de inhibición promedio de 16 mm, al 10% obtuvo 18 mm, al 20% obtuvo 29.5mm y al 30% obtuvo 34.5mm, mientras que el control positivo obtuvo 12 mm. En **conclusión**, el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* al 30% presentó mayor efecto antibacteriano frente a *S. mutans* ¹³.

Bornaz, et al. (Tacna, Perú, 2014) En su estudio titulado: “Efecto in vitro de la solución de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* al 60%, comparado con la solución de hidróxido de calcio y gluconato de clorexhidina al 2% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*”. El **objetivo** fue comparar el efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y de Gluconato de clorhexidina al 2% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*. **Metodología.** El diseño del estudio fue experimental, el procedimiento consistió en sembrar la cepa *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) en 16 placas con Agar Cerebro Corazón, las cuales fueron divididas en 3 unidades por placa, evaluándose así 48 unidades de estudio, 24 unidades para el grupo experimental I (*Caesalpinia spinosa* al 60%) y 24 para el grupo experimental II (Hidróxido de Calcio y Gluconato de clorhexidina al 2%). Se adicionaron 4 placas petri, 3 para el control positivo (Amoxicilina — Acido clavulánico) y 1 placa Petri para el control negativo (Suero fisiológico). Se colocaron discos embebidos con la solución de *Caesalpinia spinosa* y se hizo pozos de 5 mm en panel hidróxido de calcio y clorhexidina al 2%, posteriormente las placas fueron incubadas en cámara de anaerobiosis a una temperatura de 37 °C. Tomándose medidas de halo inhibitorio expresado en milímetros a las 24, 48, 72 horas y 7 días. Los **resultados** obtenidos fueron sistematizados, luego se aplicó el Estadístico T de Student ($p < 0,05$) indicando que el promedio del halo inhibitorio formado por la *Caesalpinia spinosa* fue mayor que el halo inhibitorio formado por el Hidróxido de Calcio, había diferencia estadísticamente significativa entre los datos obtenidos entre ambos grupos experimentales. En **conclusión**, la *Caesalpinia spinosa* demostró tener efecto

antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 4 tomas de medidas que se realizó en este estudio²⁰.

Huarino A, et al. (Lima, Perú, 2013) En su estudio titulado: “Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta”. El **objetivo** del estudio fue determinar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa*. **Metodología.** El diseño del estudio fue experimental, el cual se realizó mediante el método de difusión en placa, y se usó la flora mixta salival, para enfrentarlas a las soluciones de 6,25, 12,5, 25, 50 y 75 mg/mL del EACS y compararlas con los controles positivo Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. Los **resultados** indicaron que el efecto antibacteriano del EACS sobre flora mixta salival muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración. El análisis estadístico mediante la prueba de Kruskal- Wallis determinó que existen diferencias significativas a nivel de 0.000 entre las diferentes concentraciones del EACS; mediante la prueba de Mann – Whitney, existen diferencias significativas a nivel de 0.000 entre el EACS y el control positivo Clorhexidina al 0,12 % y Alcohol 70°. Por otro lado, el análisis de EACS mediante el tamizaje fitoquímico demostró alta presencia de taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas. En **conclusión**, se evidenció el efecto antibacteriano sobre la flora mixta salival.²¹

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Caries dental

La caries dental es una entidad crónica y dinámica, que se origina en el esmalte del diente en unión directa con la organización bacteriana, a causa de la inestabilidad entre la sustancia del diente y el líquido continuo de la placa, en efecto se evidencia el desgaste de mineral de esmalte del diente, con signos clínicos de destrucción localizada de los tejidos más profundos²².

Origen

La caries dental es una de las enfermedades bucales más comunes la cual se desarrolla a través de diversos factores, interaccionando así entre ellos, son tres factores principales que intervienen en su formación: El huésped, que comprende a la higiene dental, al flujo salival y el conjunto de dientes. La microflora, que comprende algunas infecciones de origen bacteriano o viral. El sustrato que comprende la dieta no saludable o cariogénica. En la revisión de la literatura encontramos también al tiempo como factor que interviene directamente en la formación de la caries dental. Entonces se concluye que la formación de la caries dental se realiza en medios favorables; es decir debe existir un huésped sensible, una microflora favorable y un sustrato cariogénico, presente en un determinado tiempo.^{22, 23,24}

Elementos vinculados con el huésped

En relación con el factor huésped, tenemos que tener en cuenta las características que poseen la saliva y la dureza del diente a la actividad de bacterias.

Saliva: La saliva es un fluido que contiene abundante iones de calcio y fosfato, así mismo contiene flúor, proteínas, enzimas, agentes *buffer*, inmunoglobulinas y glicoproteínas, de tal manera que juntos intervienen para la evitar la formación de la caries dental ²⁵. El ion flúor se encuentra en pocas cantidades, pero cumple un rol muy significativo en el proceso de remineralización del diente, porque al interactuar con los cristales de hidroxiapatita del esmalte forma un compuesto fuerte, llamado fluorapatita, la cual muestra resistencia al ataque ácido de las bacterias. ¹²

La saliva es muy importante para los cambios ácido-base de la placa bacteriana. Los microorganismos provenientes de la placa bacteriana, degradan fácilmente los carbohidratos y producen ácido. El pH desciende ligeramente posterior al consumo de carbohidratos para luego incrementarse gradualmente; se promedia que transcurrido los 30 minutos vuelve a sus niveles normales.²⁵ El pH salival está relacionado con las concentraciones de bicarbonato que posee; el aumento de esta concentración produce el aumento de los niveles del pH.

Los bajos niveles del fluido salival ocasionan disminución del pH, por debajo de 5-3, así mismo, aumenta a 7-8 si asciende progresivamente el fluido salival²⁵.

Se conoce que la saliva contiene también otras moléculas de gran tamaño que están implicadas con la formación de la película salival; la proteína llamada prolina, interacciona con la superficie del esmalte, y constituyen parte de una envoltura de proteínas que se aloja sobre el mismo, llamado *película adquirida*, *desarrollando* el mecanismo de protección del diente, así mismo en su remineralización la colonización bacteriana²⁵. También se han encontrado en la saliva péptidos con acción antibacteriana, tales como, las betas defensinas, que

actúan como defensa de la superficie dentaria pudiendo evitar la formación de la placa bacteriana y por ende, la formación de la caries dental.¹⁵

Microflora: La cavidad bucal contiene numerosos microorganismos, entre ellos están las bacterias que generan la caries dental del género *Streptococo*, entre ellas están los (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*), así también la *Rothia dentocariosa*, estos microorganismos están relacionado con procesos cariogénicos en animales como también en humanos.^{22, 24, 25}

Colonización bacteriana: La colonización bacteriana es un proceso en la cual se forma la caries dental, esta etapa se inicia con la adhesión bacteriana sobre la superficie dental; esta adhesión está influida por la interrelación de la proteína de la bacteria y de la saliva que son captadas por la parte más externa del diente. Así mismo en la migración microbiana, es importante la elaboración de una delgada capa de proteína salival sobre el esmalte dental, denominada película adquirida, ésta interacción se ocasiona por cargas eléctricas. La carga eléctrica producida por las proteínas depende de la existencia de compuestos con cargas iónicas en sus aminoácidos constituyentes²⁴. Estudios demuestran que la conexión de los grupos bacterianos a la película adquirida no únicamente se une por uniones de sus electrones, si no también involucra la presencia de moléculas, de origen proteico en la capa bacteriana, llamadas adhesinas, estas se enlazan a las proteínas de la saliva y proporcionan la adhesión de bacterias. Este proceso es permitido gracias a la inigualable memoria molecular; demostrándose, que cuando más es el poder de fijación de la bacteria, más rápida será la formación de caries dental.²⁴

Elementos de virulencia

Los elementos por los cuales el *Streptococcus mutans* produce la enfermedad son los siguientes:

Acidogenicidad: Es la propiedad donde el *streptococcus mutans*, es capaz de fermentar azúcar provenientes de la dieta diaria para producir ácido láctico, que es el resultado final de su metabolismo, esto ocasiona el descenso del pH y por ende la desmineralización del esmalte dental.²⁴

Aciduricidad: Es la propiedad para formar un medio con acidez donde hay un descenso del pH.²⁴

Acidofilicidad: Es una propiedad del *Sstreptococcus mutans*, para superar un medio ácido, mediante el bombeo de protones (H⁺).²⁴

Síntesis de glucanos y fructanos: Es una propiedad por medio del cual las enzimas, tales como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), originan unos polímeros glucano y fructano respectivamente provenientes de la sacarosa. Los glucanos insolubles colaboran con la bacteria para fijarse a la superficie dentaria y a la vez sirve como depósito de nutrientes.²⁴

2.2.2 Medios de cultivo

Los medios de cultivo son representaciones de distintas áreas bucales, que nos permite aislar, cultivar y enumerar bacterias, los cuales no son fáciles de lograr. Hay distintos métodos de cultivo, y más aún cuando se trata del cultivo de la placa dental, que se necesitan un ambiente específico. En ciertos casos se demandan operaciones estrictamente anaeróbicos. Favorablemente, las diversas variedades del género estreptococos orales se logran aislar empleando un medio selectivo, tal es el caso del Agar Mitis Salivarius (MS). En este agar, diversos estreptococos orales expresan una forma peculiar de cultivos estas son de color blanquecino, con filos precisos, cultivos estables y muy fijados al ambiente que posee el cultivo, este reconoce su diferencia originaria. Comúnmente, este cultivo de agar se siembra en un ambiente del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días.

Los estreptococos orales poseen habilidad para descomponer azúcares, tales como manitol y sorbitol, y también se adhieren superficies lisas cuando existe sacarosa. El medio de cultivo agar se considera como el gold estándar lo cual permite ejecutar recuentos bacterianos y así lograr proporciones relativas a través de métodos cuantitativos no selectivos. Hasta la actualidad existen 5 medios de cultivo para aislar *Streptococcus mutans*: El Agar Mitis Salivarius con bacitracina, Agar Glucosa Sacarosa Telurito, Agar Mitis Salivarius con bacitracina, kanamicina, Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina, y agar tripton extracto de levadura. Se conoce que el medio de cultivo agar MS es el más usado para aislar *S.mutans* y otras especies del género estreptococos, lo cual ha sido reformado para ser más eficaz en el aislamiento de *S.mutans*

agregando sulfonamida, bacitracina, polimixina o una sacarosa. Las metodologías de recuento de colonias admiten determinar el nivel de colonización generado por *S.mutans* según edades, de tal manera que proporcionan beneficio para lograr identificar a los habitantes propenso a adquirir caries dental, así mismo su aplicación facultará crear métodos preventivos de salud bucal en comunidades específicas y de vulnerabilidad.^{26, 27.}

Categorización:

De acuerdo a su estructura y enlaces de las biomoléculas de la pared celular, los estreptococos del conjunto mutans se categorizan en 8 serotipos: *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus ferus* (serotipo c), *Streptococcus macacae* (serotipo c) y *Streptococcus downei* (serotipo h). De todos los serotipos el mas preponderante en la cavidad bucal es el serotipo c de *streptococcus mutans*, más que las demás cepas e, d, f y k.^{28.}

2.2.3 Plantas medicinales

Desde la antigüedad las plantas medicinales han sido utilizadas para curar una gran cantidad de enfermedades, motivo que aquellas plantas utilizadas, presentaban propiedades curativas, gracias a su principio activo lo cual producía un efecto fisiológico curativo.¹⁹

***Caesalpinia spinosa* (tara)**

Es un árbol cuyo tamaño es de 2-5 metros de altura, tiene corteza de color gris oscuro, con abundantes espinas dispersas y ramas cerdosas. Las hojas son alternas, de hoja perenne, que escasean de estípulas, bipinnadas, y que escasean de glándulas peciolares. Las hojas se forman de 3 a 10 pares de folíolos primarios de 8 cm de largo y 5-7 pares de folíolos elípticos subsésiles secundarios, cada uno de aproximadamente 1,5 a 4 centímetros de largo. Las inflorescencias son terminales de 15-20 centímetros de largo en racimos con muchas flores y cubierto de vellos diminutos. Las flores son de color amarillo a naranja con pétalos de 6-7 milímetros, el sépalo más bajo tiene forma de barco con muchos dientes marginales; los estambres son de color amarillo, irregular de extensión y apenas sobresale. El fruto es una faceta plana, oblonga indehisciente de unos 6-12 centímetros de largo y 2,5 cm de ancho, conteniendo 4-6 semillas negras, de forma redonda, y se vuelven rojas cuando están maduras.³⁷

Hábitat

Se encuentra en las regiones de costa y sierra entre los 0 a 4500 metros sobre el nivel del mar, y en montes secos a partir de los 100 metros sobre el nivel del mar, se ubica en todo los departamentos del Perú, se utiliza a manera de marco vivo, es un macizo la cual proporciona sombra y se usa también como decoración, por lo que se conserva verde máximamente en todo el año.³⁷

Distribución Geográfica:

En el Perú, se encuentra en los valles interandinos secos entre 1000 y 3100 msnm, los departamentos de mayor producción son Cajamarca (41%), Ayacucho

(16%), La Libertad (13%), Huánuco (13%), también se reporta su presencia en Huancavelica, Apurímac y Ancash, habiendo nuevas iniciativas en Ica y Lambayeque.²⁹

- ✓ Nombre científico: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.
- ✓ Reino: *Plantae*
- ✓ División: *Magnoliophyta*
- ✓ Clase: *Magnoliopsida*
- ✓ Subclase: *Rosidae*
- ✓ Orden: *Fabales*
- ✓ Familia: *Fabaceae*
- ✓ Género. *Caesalpinia*
- ✓ Especie: *Spinosa*

Composición Química

Taninos vegetales

El término "tanino" trasciende del idioma francés "Tanin". Técnicamente tiende a definirse a los elementos inmediatos de origen vegetal terciarios (C, H, O) de aroma astringente que se relaciona de forma sencilla con las sales de hierro originando compuestos de color azul, negro o verde. Los taninos a manera de elementos fenólicos, poseen características hidrosolubles con un peso molecular que varía entre 500 y 3000 y se sabe que unido a las transformaciones conocidas de los fenoles, posee la facultad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas³⁵. Los taninos se divide en dos partes: taninos hidrolizables y condensables. Los taninos hidrolizables son fácilmente descompuestos en

presencia de ácidos o enzimas incluso por azúcar o un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. De acuerdo al medio del ácido fenolcarbmalico, los taninos hidrolizables se dividen en galotaninos y elagitaninos. La hidrólisis del galotanino origina al ácido gálico, luego el ácido hexahidroxifenol produce ácido elágico.

Elementos que intervienen en la composición de los taninos vegetales: La agrupación de los taninos en especie específicas de planta, se vincula con el ambiente en que ella se desenvuelve y con los diferentes elementos hereditarios. Las subespecies y las diversidades, permite demostrar que los taninos presentan características muy distintas en diferencia con el género del cual provienen. Integralmente se estima a los taninos como parte de reserva, defensa o de eliminación de la desintegración de la planta; de igual modo colaboran con creación de súber y compromiso de defensa, impidiendo daños y afecciones, desde entonces se le otorga la propiedad de fungicida y bacteriostática ³⁸

Estructura Química: El tanino que posee en la tara presenta, entre sus principales componentes al ácido gálico, de tal modo que logra diferenciarse de otros grupos taninos hidrolizables, está formado por galotanino y un elagitanino. La presencia de sus 22 anillos galotánicos, le permite crear estructuras en forma tridimensional.

Usos: Los usos de estos productos químicos se utilizan de manera directa, tal como los taninos que se utiliza para el curtido de cueros, brindándole un color blanquecino, la cual es muy empleado en la producción de matices, así mismo se utiliza para elaboración de plásticos, preservación de aparejos de la pesca,

clarificador de vinos, comercio farmacéutico etc. Un producto primordial derivados de los taninos es el ácido gálico, donde se utiliza en la producción de aceites como un antioxidante, así mismo se utiliza en la elaboración de la cerveza como decolorante, en fin su uso se extiende a muchas áreas desde la producción de tintes, manufactura de papel, litografía y fotografía ³⁴

2.2.4. Gomas naturales

Funciones y aplicación

La goma natural tiene como principal función la captación de agua en los nutrientes, ya que posee cualidades de formar enlaces como puentes de hidrógeno; permitiendo así aumentar su densidad, con la pérdida de fluidez, hasta tal punto de formar gel³⁶.

Las gomas se emplean para elaborar productos comestibles y en el área farmacéuticas en las siguientes presentaciones:

- Estabilizante, para la elaboración de guisos, condimentos y ensaladas.
- Espesante, para la elaboración de cremas para postre y helados.
- Emulsificante, para la elaboración de alimentos difícil de mezclar, como mayonesa y dentífricos.
- Gelificante, se emplea como gel natural para la fabricación de jaleas, caramelos y alimentos lácteos.
- Clarificante, se emplea para la eliminación de sustancias solidas en el medio, en la elaboración de cerveza, fabricación de bebidas azucaradas.

- Encapsulante, Se emplea en la fabricación de insecticidas y frutos desecados.

La goma de tara, proviene del endosperma de la semilla, ya que es producto de origen natural, es muy requerido por las industrias de alimentos, para la elaboración de helados, yogurt, mermelada, mostaza y ketchup, también es usada en la textilera asimismo en la elaboración de jabones aromatizados. Su semilla presenta un peso simbólico de 33 - 38 % de la vaina está formada por cáscara (39 %), germen (37 %) y goma (24%).

Composición química de la goma de tara

La goma de tara está formada por manosa y galactosa en relación de 3:1, completamente diferente a la goma de Guar y Garrofín, formada mayormente por manosa (60%- 26 80%) y galactosa (40%-20%) esto es de 3:2 y 4:1 (24 %)

36

Características físico-químicas de la goma de tara

Según los estudios hechos sobre la TARA, dio como resultado que la goma en medios líquidos donde su flujo presenta una densidad equivalente de 4000 cp a 98 ° C. Presento un peso molecular semejante de 351 400 .³⁸

Adquisición y utilización de la goma de tara

Durante el proceso comerciable de la goma, se aísla el endosperma de la envoltura y del germen mediante un mecanismo térmico-mecánico, empleando presión diferencial, porque existen diferencias significativas en la rigidez de sus componentes. Posteriormente se organiza y entran a un selector óptico; pasando con una limpieza del 98%. El endosperma aislado, que abarca el 80%

galactomano, es triturado en macropartículas muy finas para ser comercializados en forma de como goma de Tara. La trituración es realizada en varios momentos, utilizando molinos especiales de martillos, de roce o de rodillo. Realizado esto se logra conseguir el 24% de goma de la semilla.³⁴

La goma de tara presenta diferentes tipos de aplicación, se puede aplicar en la elaboración de productos alimenticios, tales como estabilizante y espesante tanto para los alimentos, como para bebidas y en las áreas médicas, regularizando la viscosidad en la etapa acuosa, asimismo como fijadores aromáticos y saborizantes en las gaseosas, por otro lado se aplica también en la línea de cosméticos, minera, papelera, textilera, sanitarias, petroleras, etc. La goma de tara muestra formación de gel y de baja densidad, en caso de usarse en pocas concentraciones (1 %) ³⁶.

III. HIPÓTESIS

El colutorio del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* al 35% presenta mayor efecto antibacteriano que las concentraciones al 25% y 30% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

Tipo de investigación

De acuerdo al enfoque: Cuantitativa

Según Roberto, en su libro sobre los tipos de investigación, piensa que un estudio es cuantitativo debido a que los datos fueron producto de mediciones que se representan mediante números (cantidades) y se analiza a través de métodos estadísticos³⁹.

De acuerdo a la planificación: Prospectivo

Según Roberto, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es prospectivo, porque se reconoció la información según resultaron los fenómenos a una visión a futuro.³⁹

De acuerdo al número de ocasiones: Transversal

Según Roberto, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es transversal, porque la información fue obtenida en un momento dado del tiempo.³⁹ Este estudio midió el efecto antibacteriano a las 48 horas de ser expuestos a los extractos.

De acuerdo al número de variables a estudiar: Analítico

Según Roberto, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es Analítico, porque el estudio se centró en una relación causa-efecto.³⁹.

Nivel de la investigación: Explicativo

Según Roberto, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es explicativo, porque pretende demostrar relaciones de causalidad. El control estadístico es multivariado, a fin de descartar asociaciones aleatorias, causales o espurias entre la variable independiente y dependiente.³⁹

Diseño de la investigación: Experimental

Según Roberto un estudio es experimental ya que se manipuló la variable independiente y su efecto sobre la variable dependiente.³⁹

4.2. Población y muestra

La población de este estudio estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Placas petri sembradas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 27175.

Criterios de exclusión

- Placas Petri con halos de inhibición no muy claros.
- Placas Petri con signos de contaminación.

Para determinar el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 2s^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96 \quad \text{para un } \alpha = 0.05$$

$$Z_{\beta} = 0.84 \quad \text{para un } \beta = 0.20$$

$$s = 0.8 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2), \text{ valor asumido por no haber estudios similares.}$$

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96+0.84)^2 2(0.8)^2 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2} = 10 \text{ repeticiones}$$

Luego la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones por cada concentración

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Valores finales	Tipo de variable	Escala de medición
Extracto hidroetanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) (independiente)	Sustancia que se extrae mediante un disolvente conservando sus propiedades. ¹⁹	Sustancia que se obtendrá a partir de los protocolos establecidos a base de las semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> la cual será utilizada para comprobar y comparar su efectividad antibacteriana frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ¹⁹ .	Concentración	25% 30% 35% Control positivo Control negativo	Cualitativo	Ordinal
Efectividad antibacteriana sobre la cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. (dependiente)	Efectividad inhibitoria del crecimiento de la cepa bacteriana <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ¹⁷	Acción antibacteriana que se determinará a partir del extracto hidroetanólico a base de <i>Caesalpinia spinosa</i> , lo cual se determinará mediante los halos de inhibición frente a las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ¹⁷	Halo de inhibición	Mm	Cuantitativo	De razón

4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: Observación microbiológica

Instrumento: Ficha de Recolección de datos. (Anexo 1)

Procedimientos:

Obtención de los extractos hidroetanólicos de la semilla de *Caesalpinia spinosa*

Identificación Taxonómica

Luego un ejemplar completo de la planta fue llevado al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica. (Anexo 3)

Recolección de la muestra

Se recolectó 1 Kg del fruto de *Caesalpinia spinosa* del jardín botánico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, situado a 34 m.s.n.m. en el distrito de Trujillo, departamento de La Libertad.

La recolección de la especie se realizó por el método convencional o clásico de herborización, para lo cual se seleccionó el material en el campo, a horas de la mañana, verificando que esté en buenas condiciones.³⁰

Preparación de la muestra

Selección de la muestra: El material recolectado se transportó al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se eliminó las sustancias extrañas presentes en el material vegetal.

Lavado: Luego de la separación de las sustancias extrañas, se procedió a lavar la muestra con agua destilada y desinfectada con hipoclorito de sodio.²

Secado: Una vez desinfectada, la muestra, se secó en estufa a 40°C. Por 3 días.

Molienda: Se procedió a separar las semillas del fruto de *Caesalpinia spinosa*. Sólo se pulverizó las cáscaras con ayuda de un mortero.

Tamizaje: Se pasó la muestra molida por un set de tamices para homogenizar el tamaño de partículas, y luego se colocó en frascos de vidrio de color ámbar para su posterior utilización.³⁰

Preparación del extracto hidroetanólico de tara

Se pesaron 100 g de polvo de tara previamente humectada con etanol de 30°GL. Se colocó en el equipo de percolación con cantidad suficiente de etanol de 30 °GL se dejó macerar por un periodo de 24 h. Pasado el periodo de maceración se percoló a velocidad constante de 20 gotas/min el equivalente a 75% del extracto hidroetanólico se guardó en frasco ámbar. Posteriormente se percoló hasta que el ensayo de tricloruro férrico realizado a una alícuota del extracto, de negativo y el volumen obtenido se concentrará a baño María a cantidad equivalente a 25% del extracto hidroetanólico, lo cual se reunió con la primera fracción, obteniendo un extracto hidroetanólico de 100 mL. Finalmente se filtró con papel de filtro de Whatman N° 41 a través de una bomba vacío. Finalmente, el extracto hidroetanólico se guardó en frasco de vidrio de color ámbar estéril y en refrigeración (4-8°C).¹⁹

Preparación de Colutorios a base al extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara)

Se prepararon las concentraciones de colutorio de tara a 25%, 30% y 35% de acuerdo a la siguiente formulación:

Sustancia	Porcentaje
Propilenglicol	30 %
Glicerol	30 %
Extracto hidroetanólico de tara	25 %
Etanol 30°	15 %
Total	100%

Tabla 1. Fórmula de colutorio a base del extracto hidroetanólico de Tara al 25%

Sustancia	Porcentaje
Propilenglicol	30 %
Glicerol	30 %
Extracto hidroetanólico de tara	30 %
Etanol 30°	10 %
Total	100%

Tabla 2. Fórmula de colutorio a base del extracto hidroetanólico de Tara al 30%

Sustancia	Porcentaje
Propilenglicol	30 %
Glicerol	30 %
Extracto hidroetanólico de tara	35 %
Etanol 30°	5 %
Total	100%

Tabla 3. Fórmula de colutorio a base del extracto hidroetanólico de

Tara al 35%

Procedimiento:

Se midió el propilenglicol y se trasvasó a una fiola de 100 mL de capacidad y luego se añadió el glicerol y se mezclará con el propilenglicol contenida en la fiola. Se agitó en forma de círculo, con la finalidad de homogenizar dichas cantidades. Posteriormente se agregó el extracto hidroetanólico de tara y se agitó continuamente por 10 minutos hasta homogenizar. Se enrazaron con cantidad suficiente de etanol de 30° GL. Y se agitó hasta obtener una solución uniforme. Finalmente, se obtuvo aproximadamente 100 mL de producto final, como colutorio bucal y se procedió al envasado y etiquetado del colutorio en un frasco de vidrio.²⁷

Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubo a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubo a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior utilización.

Preparación de colutorios a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se preparó colutorios empleando extracto hidroetanólico de tara, para lo cual se realizaron tres formulaciones a concentraciones de 25, 30 ,35 %.

Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.²⁸

La evaluación del efecto antibacteriano del colutorio preparado en base de extracto hidroetanólico de tara sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyeron en caldo BHI hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL)

Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomaron una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejará secar la placa a

temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

Preparación de los discos con las diferentes concentraciones de colutorios a base de extracto hidroetanólico de tara.

Se prepararon discos de papel filtro Whatman número 3 estériles, los cuales fueron embebidos con 20 ul de cada una de las concentraciones de 25, 30 y 35% respectivamente.

Luego, con una pinza estéril, los discos fueron colocados sobre las placas de Petri con Müeller Hinton sembradas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se emplearon como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo etanol 70%.

Incubación:

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de las concentraciones a evaluar, a 37°C durante 24 y 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinó cada placa y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó **VERNIER DIGITAL** marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm/0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025, abarcando el diámetro del halo. Se realizó 10 repeticiones de cada concentración.

4.4. Plan de análisis

Para el análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS v. 22, y Microsoft Excel, considerando el procedimiento que a continuación se indica: Para la presente investigación, en el análisis de los datos se aplicó la estadística descriptiva e inferencial.

De la estadística descriptiva se utilizó para presentar medidas estadísticas como la media, desviación estándar así mismo para la comparación entre dos variables se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, (datos no normales)

De la estadística inferencial se aplicó la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, (datos no normales) con su respectivo nivel de significancia 0.05 y para la comparación múltiples se utilizó el test de Duncan, para dar respuestas según cada objetivo.

Previamente se realizó la verificación de la distribución normal de los datos mediante la Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)

Donde se pudo observar la prevalencia de los grupos de datos con una significancia menor a 0.05 ($p < 0.05$), es decir datos no presentan una distribución normal.

4.5. Matriz de consistencia

TÍTULO	ENUNCIADO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p>COMPARACIÓN, <i>in vitro</i>, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN COLUTORIO A BASE DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) A DIFERENTES CONCENTRACIONES FRENTE A CEPA DE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p>Objetivo general: Comparar, <i>in vitro</i>, el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 2517</p> <p>Objetivo específico -Evaluar, <i>in vitro</i>, el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) al 25%,30%,35%.frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 -Comparar, <i>in vitro</i>, el efecto antibacteriano entre el colutorio a base del extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones y gluconato de clorhexidina al 0.12 % -Comparar, <i>in vitro</i>, el efecto antibacteriano entre el colutorio a base del extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) a diferentes concentraciones y etanol al 70%.</p>	<p>-Efecto antibacteriano - extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i></p>	<p>El colutorio del extracto hidroetanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> al 35% presenta mayor efecto antibacteriano que las concentraciones al 25% y 30% sobre la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Tipo: cuantitativo Nivel: Explicativo Diseño: Experimental. Población Cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Muestra 10 repeticiones de cada grupo de estudio.</p>

4.6. Principios éticos

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote.⁴⁰

Cuidado del Medio Ambiente. Se respetó el principio de cuidado del medio Ambiente y la biodiversidad, para lo cual se informa que no se registraron daños, riesgos y beneficios potenciales que afectaron a las plantas, medio ambiente o a la biodiversidad.⁴⁰

Beneficencia y no maleficencia. Asegura el bienestar de las personas que participan en las investigaciones. La conducta del investigador responde a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios.⁴⁰

Justicia. El investigador ejerce un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos. Se reconoce que la equidad y la justicia otorgan a todas las personas que participan en la investigación derecho a acceder a sus resultados.

Integridad científica. La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación⁴⁰

Así mismo al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121° C Y 1 Bar de presión fueron inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.⁴¹

Los residuos microbiológicos y patológicos fueron eliminados de forma tal que se asegure su descontaminación en autoclave (residuos microbiológicos) o incineración (residuos patológicos). Esto significa una bolsa primaria de color negro, se llenó solo hasta $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad y anudada y sobre ésta una bolsa color amarillo con logo y pre impreso de residuos especiales, se marcó el tipo de residuos que contuvo, el laboratorio o área de generación y la fecha. Estas bolsas cerradas anudadas, fueron almacenadas temporalmente en las áreas sucias en contenedores de color amarillo con logo de Residuo Biológico.⁴²

V. Resultados

5.1. Resultados

Tabla 1: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tratamientos	N	Diámetro (mm)		Sig. (p)*
		Media	Desviación típica	
Extracto 25%	10	6.6	0.70	
Extracto 30%	10	15	0	
Extracto 35%	10	19.3	0.95	0.000
Clorhexidina 0.12%	10	19.6	0.84	
Etanol 70°	10	6	0	

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p:* prueba KRUSKAL WALLIS, nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

Interpretación: Aplicado la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, se obtuvo ($p = 0.000 < 0.05$), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadística entre los tratamientos.

Es decir si existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos evaluados.

Tabla 2: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

<i>Tratamiento</i>	<i>N</i>	<i>Subconjunto para alfa =0.05 - (Test Duncan)</i>			
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>Etanol 70°</i>	10	6			
<i>Extracto 25%</i>	10		6.6		
<i>Extracto 30%</i>	10			15	
<i>Extracto 35%</i>	10				19.3
<i>Clorhexidina 0.12%</i>	10				19.6
Sig.		1.00	1.00	1.00	0.306

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

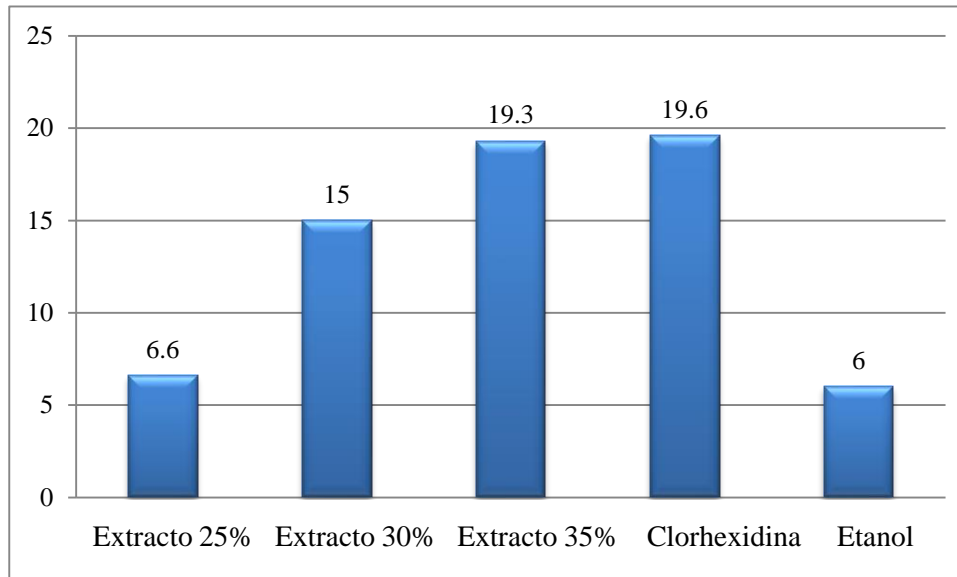
Test Duncan

Interpretación:

En la tabla N°02, se observa que respecto al diámetro (mm) no presentan similitud en los tratamientos extracto al 25%, extracto al 30% y etanol 70%

Así mismo los tratamientos extracto 35% y Clorhexidina 0.12% si presentan similitud.

Grafico 1: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Datos obtenidos de la tabla N° 02

Interpretación:

Se puede observar que se aplicó la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, con un nivel de significancia ($p < 0.05$), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadística entre los tratamientos. Se observa que el extracto al 25% obtuvo un halo de inhibición de 6.6 mm, el extracto al 30% obtuvo un halo de 15 mm, el extracto al 35% obtuvo 19.3 mm. Con respecto al diámetro (mm) no presentan similitud en las concentraciones de extracto al 25%, extracto al 30% y etanol 70°. Así mismo las concentraciones de extracto 35% y clorhexidina 0.12% si presentan similitud.

5.2. Análisis de resultados

La presente investigación evaluó el efecto antibacteriano del colutorio a base de extracto hidroetanólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* en concentraciones de 25, 30 y 35%, los cuales fueron expuestos frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El instrumento de medición utilizado fue un vernier digital, con el que se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros (mm).

Al comparar el efecto antibacteriano de un colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* en diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se demostró que la concentración al 35% presentó una media de 19.3mm casi similar efecto antibacteriano que la clorhexidina 0.12%, lo cual obtuvo una media de 19.6mm; por lo tanto se pudo dar debido a la gran cantidad de principios activos que poseen las vainas de tara especialmente taninos hidrolizables (galotaninos), quinonas, fenoles y flavonoides, las cuales puede variar según la condición ecológica. A estos se le puede atribuir la responsabilidad de inhibir el crecimiento de *streptococcus mutans*,¹⁵ asimismo, tanto los fenoles como el etanol producen desorden en la estructura de la membrana citoplasmática de las bacterias, el cual provoca la pérdida de metabolitos intracelulares, afectando su metabolismo energético.⁴³ Estos resultados son casi similares a los estudios de Cholán K, et al.¹⁵ y Castro M.¹⁶, Abanto M.¹⁹, Bornaz, et al.²⁰ y Huarino A, et al.²¹, los cuales demostraron que los extractos de las vainas de tara presentaron efecto antibacteriano frente a bacterias gram positivas y negativas, así como *S. mutans*. Estos resultados se pudieron dar debido a los compuestos fenólicos como los taninos que son metabolitos que se encuentran en diferentes partes de la tara y son solubles en agua, etanol; su actividad antibacteriana se debe a que se combina con la

membrana celular del *Streptococcus mutans* e inhiben la actividad enzimática desnaturalizando las proteínas. Asimismo, sus vayas contienen galotaninos y ácido gálico, los cuales también presentan actividad antibacteriana.¹⁵ Entonces a medida que se acrecienta la concentración de extracto hidroetanólico mayor será el halo de inhibición bacteriana.²¹

Al determinar el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* al 25%, se obtuvo una media de 6.6mm lo cual se evidencia que no presentó efecto antibacteriano según la escala de Duraffourd, esta indica que los halos de inhibición menores a 8 mm no presentan efecto antibacteriano, estos resultados difieren de los resultados del estudio de Américo N, et al.¹⁸, el cual demostró que, el aceite de las bayas de tara al 25% presentó un halo de inhibición de 16 mm frente a *S. mutans*, mientras que en nuestro estudio obtuvo 6.6 mm. Estos resultados se pudieron dar debido a que ambos productos tuvieron diferente extracción de sus principios activos la cual pudo interferir en la calidad de la efectividad antibacteriana. Por otro lado, también pudo interferir el origen de la planta de donde procede, ya que los análisis fitoquímicos de las vainas de tara han demostrado diferentes concentraciones de taninos y péptidos de acuerdo al lugar de procedencia de la planta.¹⁵

Al determinar el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* la concentración al 30% presentó una media de 15.0 mm y al 35% 19.3 mm; se demostró que, dentro de la escala de Duraffourd presentan efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estos resultados se pudieron dar debido a que contienen taninos, flavonoides y gomas, de allí su efecto bactericida, por causar la desnaturalización mediante coagulación de las

proteínas de la pared celular, ocasionando la destrucción de la bacteria.¹⁷ Este resultado presentó similitud con el estudio de Centurión K.¹³ quien demostró que el extracto etanólico de las vainas de la tara al 30% presentó efecto antibacteriano frente a cepas de *S. mutans*; estos resultados se pudieron dar debido a que las vainas de la tara contienen taninos hidrolizables en un rango de 40% a 60%, las cuales pueden variar según las condiciones ecológicas en la que vive, asimismo, los taninos son metabolitos que se encuentran en diferentes partes de la planta, y son solubles en agua, etanol y acetona, y presentan actividad antibacteriana ya que, al combinarse con las proteínas de la membrana celular de las bacterias son desnaturalizadas.¹³

Al comparar el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* y clorhexidina al 0.12%, se demostró que la clorhexidina presentó mayor efecto antibacteriano que los extractos de la tara, estos resultados se pudieron dar debido a que los extractos hidroalcohólicos disuelven mejor los metabolitos y captan mayor los principios activos equilibrando los compuestos originales y conservándolos.¹⁵ Estos resultados son similares de los estudios de Cortéz K, et al.¹⁷ el cual demostró que, la clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que los extracto hidroetanólicos al 10, 50 y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estos resultados se pudieron dar debido a que la clorhexidina al 0.12% se une a la membrana bacteriana y causa un aumento de la permeabilidad, generando aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio, y por ende mayor inhibición bacteriana.¹⁷

Al comparar el efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* y etanol 70%, los colutorios presentaron mayor efecto antibacteriano que el etanol al 70%, este resultado pudo darse debido a que las plantas medicinales han demostrado presentar una gran actividad antibacteriana frente a diferentes microorganismos. Sin embargo, el etanol al 70% es considerado un bactericida sobre las formas vegetativas bacterianas tanto en grampositivas como en gramnegativas. Asimismo, producen precipitación y desnaturalización de proteínas, también lesionan la membrana citoplásmica de las bacterias.⁴³

VI. CONCLUSIONES

- El colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 35% presenta mayor efecto antibacteriano en comparación con los demás grupos de estudio, frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 25% presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 30% presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 35% presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El colutorio a base del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 35% presenta similar efecto antibacteriano que gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Los colutorios a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) en las concentraciones de 25,30, y 35% presentan mayor efecto antibacteriano que etanol 70° frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se recomiendan estudios similares, pero en una población diferente como algunas bacterias implicados a enfermedades periodontales.
- Se recomiendan estudios comparando, a *Caesalpinia spinosa* con otras plantas con su efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, para determinar cuál presenta mayor efecto antibacteriano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morales Miranda Liz, Gómez Gonzáles Walter. Caries dental y sus consecuencias clínicas relacionadas al impacto en la calidad de vida de preescolares de una escuela estatal. Rev. Estomatol. Herediana [Internet]. 2019 Ene [citado 2021 Jul 05] ; 29(1): 17-29. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552019000100003&lng=es. <http://dx.doi.org/10.20453/reh.v29i1.3491>.
2. Núñez Daniel Pedro, García Bacallao Lourdes. Biochemistry of dental caries. Rev haban cienc méd [Internet]. 2010 Jun [citado 2021 Jul 05] ; 9(2): 156-166. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004&lng=es.
3. Vio F, Albala C. Transición nutricional en Chile. Rev. Chil. Nutric. [Internet] 1998 [Citado el 20 de junio 2018]; 25(3): 24-28. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_serial&pid=0717-7518&lng=pt&nrm=iso
4. Rojas, J. Estudio Clínico Experimental del Tratamiento de la Gingivitis Crónica con *Caesalpinia spinosa* “tara” [Tesis]. Perú: Universidad San Martín de Porres. Facultad de Odontología; 1999.
5. Sampaioa, C. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. J. Ethnopharmacol. [Online] 2009 [Cited march 20;2019].124(2):289-294.Availablein: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874109002530>

6. Infantes Y. Tratamiento de la gingivitis marginal crónica con pasta dental de *Caesalpinia spinosa* “tara” en niños de 8 a 10 años [Tesis]. Perú: Universidad San Martín de Porres. Facultad de odontología; 2004.
7. Stephen W. Caries in young populations worldwide: In: Bowen WH & Tabak LA Editors. *Cariology for the nineties*. 1993. pp. 37-50. New York: University of Rochester Press.
8. Gispert E, Rivero A, Cantillo E. Relación entre el grado de infección por *Streptococcus mutans* y la posterior actividad cariogénica. *Rev. Cub. Estomatol.* [Internet] 2000 [citado 2017 Nov 26]; 37(3): 157-161. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072000000300004&lng=es.
9. Núñez P, García L. Bioquímica de la caries dental. *Rev. haban. Cienc. Méd.* [Internet] 2010 [Citado 2017 Nov 26]; 9(2): 156-166. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004&lng=es.
10. Duque J, Pérez A, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. Cub. Estomatol.* 2006; 43(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007
11. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014–2023. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2013 (WHO/EDM/TRM/2002.1). Disponible:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf;jsessionid=F53C87D0891EAF271000B70C8BEEA33?sequence=1

12. Agapito T, Sung I. Plantas Medicinales. 7ma ed. Lima-Perú: Isabel. 2000: 53.
13. Kuklinski C. Farmacognasia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ra ed. Barcelona: Omega. 2000:112-114.
14. Centurión K. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. [Tesis]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de odontología; 2015.
15. Plantas medicinales. Tara. [Internet Blog]. [citado 27/ 09/ 2017]. Disponible en: <http://plantmedicinalesuap.blogspot.pe/2010/08/tara.html>
16. Cholán A. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. Rev. Arn. [Internet] 2019 [Citado el 24 nov 2017]; 26(2): 699-712. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v26n2/a12v26n2.pdf>
17. Castro M. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana y citotoxicidad de *Caesalpinia spinosa* (molina) kuntze “tara” frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) Y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) [Tesis]. Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de odontología; 2017. Disponible: http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/5973/Evaluacion_CastroVera_Mayra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Cortez K, Mego L. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Taya”, frente a *Streptococcus mutans* [Tesis]. Perú: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Facultad de farmacia y bioquímica; 2017. Disponible en:

<http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/458/FYB-002-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

19. Américo N, Juárez J, Ramos N, Choquesillo F, Ponce J, et al. Composición química del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* “tara”, evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. *Cienc. Investigación*. 2016; 19(2): 89-94.
20. Abanto M. Efecto antibacteriano In vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de odontología; 2016. Disponible: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1130/ABANTO%20VILCA%20MAGALY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
21. Bornaz G. Efecto in vitro de la solución de al 60%, de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* comparado con la solución de hidróxido de calcio y gluconato de clorexhidina al 2% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman. Facultad de odontología; 2014.
22. Huarino M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; 2011 Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2829/2418>
23. Guías prácticas clínicas de caries dental. [Monografía en Internet] 2004 [Citado 2004Abr30].
.Disponible en: <https://ftp.sld.cu/ftphosting/UVS/sbucal/clin/guiascaries>

24. Hidalgo I, Duque J, Pérez A. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. Rev. Cub. Estomatología.; 2007; 23 (3):56-61.
25. Duque J, Pérez JA, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cub. Estomatología. 2006; 43(1).
26. Pardi G, Perrone M, Acevedo M, Mazzali R. Estudio sobre Rothia dentocariosa en pacientes con carie dental. Acta. Odontol. Venez. 2003; 41(3): 83-9.
27. Linke HA. New Medium for the Isolation of Streptococcus mutans and Its Differentiation from Other Oral Streptococci. Jour. Clin. Microbiol. 1977; 5(6):604-9.
28. Carlos L, Constanza M. Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del Streptococcus mutans ATCC 25175 in vitro. Public. Cient. Cienc. Biomédicas. 2005; 3(3): 25-30.
29. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of Streptococcus mutans with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. J. Clin. Microbiol. 2004;42(1):198-202.
30. Vigo E, Quiroz V. Cadenas de Valor Sostenibles: Producción, Comercialización y Agroexportación. Manual: EL cultivo de Tara en Cajamarca.2007.Disponible en:
http://www.contactorural.com.pe/images/documentos/Manual_El_cultivo_de_e_tara_en_Cajamarca-2da_impresion.pdf

31. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana: Universidad de la Habana; 2000.
32. OMS. Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas. Buenas Prácticas De Manufactura Vigentes. Serie de Informes Técnicos de la OMS. Organización Mundial de la Salud, Informe 32. Ginebra. Marzo, 1996.
33. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2013; 33(1).
34. Manzini J. Declaración de Helsinki: Principios Éticos para la Investigación Médica Sobre Sujetos Humanos. *acta bioeth.* [online] 2000 [Citado 24 noviembre 2017];6(2):321-334. Disponible en: issn 1726-569x. <http://dx.doi.org/10.4067/s1726-569x2000000200010>.
35. Red Nacional para el Desarrollo Forestal. La tara *Caesalpinia spinosa*. Alternativa para el desarrollo de la sierra. 2008. p. 66-69.
36. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Ed. Acribia. Zaragoza, ES. 1991.
37. Benites C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 90028 [Tesis doctoral]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015.
38. Murga H, Abanto C, Palomino L, Polo A. Ocurrencia de *Argyrotaenia sphaleropa* Meyrick (1909) (Lepidoptero: Tortricidae) en *Caesalpinia*

spinosa (Molina) Kuntze Britton & Rose (1824). *Scient. Agropec.* 2015; 6(4), 329-331.

Disponible en: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.10>

39. Alvarez C, Lock O. Taninos. *Rev. Quím.* 1992; 6(4): 47-63. Disponible: revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/4619/4606
40. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la investigación.* 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
41. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 004 [Internet]. [citado 02 marzo 2021]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7455/codigo-de-etica-paralainvestigacionv001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
42. Fica, A, Ruíz G, Yunes Alí. Normas de manejo de desechos hospitalarios. *REV. Medwave* [Internet] 2008 [citado 02 diciembre 2019];3(3)
43. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de chile. 2013; 1-7 Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacion-de-residuos-biologicos.pdf>
44. Vignoli R. Esterilización, desinfección y antisepsia. *Temas de bacteriología y virología médica.* [Internet] 2008 [Citado el 29 de abril 2020]: 609-629. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/esterilizacionydesinfeccion.pdf>

ANEXOS

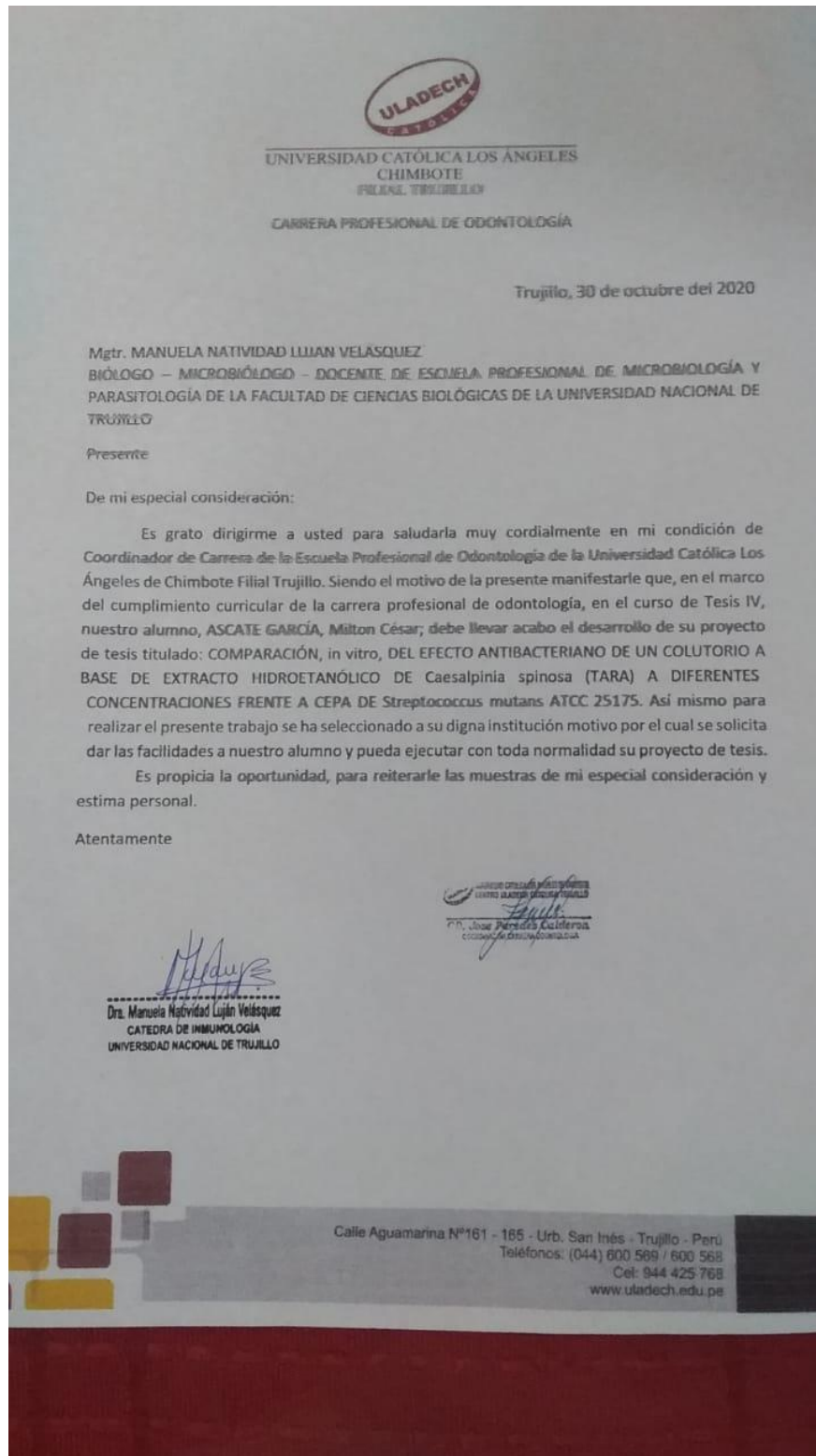
Anexo 1: Ficha de recolección de datos

<div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Concentración</div> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Repeticiones</div> </div>	<i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)			C+	C-
	25%	30%	35%		
	Diámetro halos de inhibición (mm)				
1.	6	15	20	20	6
2.	7	15	20	20	6
3.	6	15	20	20	6
4.	6	15	18	18	6
5.	8	15	20	20	6
6.	6	15	20	20	6
7.	6	15	18	20	6
8.	7	15	20	18	6
9.	7	15	18	20	6
10.	7	15	19	20	6


Anexo 2: VERNIER DIGITAL marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm/0-6”, por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



Anexo 3: Carta De Presentación



Anexo 4: Constancia De Determinación Taxonómica

 **Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú

Constancia N° 101 – 2017- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.


Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae
- **Superorden:** Rosanae
- **Orden:** Fabales
- **Familia:** Fabaceae
- **Género:** *Caesalpinia*
- **Especie :** *C. spinosa* (Feuillée ex Molina) Kuntze
- **Nombre vulgar:** "tara"


Muestra alcanzada a este despacho por MILTON CÉSAR ASCATE GARCÍA, identificado con DNI N° 46238684, con domicilio legal en Calle 8 de Setiembre 1726- Florencia de Mora - Trujillo; estudiante de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Evaluación del efecto Antibacteriano *in vitro*" a base de un colutorio de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)"

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 13 de Noviembre del 2017


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT



E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

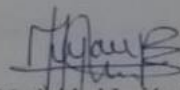
Anexo 5: Constancia Del Microbiólogo

CONSTANCIA

Yo, Manuela Natividad Luján Velásquez, Biólogo – Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con el alumno ASCATE GARCIA MILTON CÉSAR, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la parte microbiológica planteada en el proyecto de investigación titulado:

“COMPARACIÓN, *in vitro*, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN COLUTORIO A BASE DE EXTRACTO HIDROETANOLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A DIFERENTES CONCENTRACIONES FRENTE A LA CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”.



Manuela Natividad Luján Velásquez

Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología
Universidad Nacional de Trujillo.

Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Anexo 6: Constancia De Químico Farmacéutico

CONSTANCIA DE COLABORACIÓN


El que suscribe **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura 06952.

Hace constar, que ha colaborado en la preparación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* para la tesis titulada: **COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE UN COLUTORIO A BASE DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A DIFERENTES CONCENTRACIONES FRENTE A CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175**, presentado por el alumno **ASCATE GARCÍA MILTON CÉSAR**, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

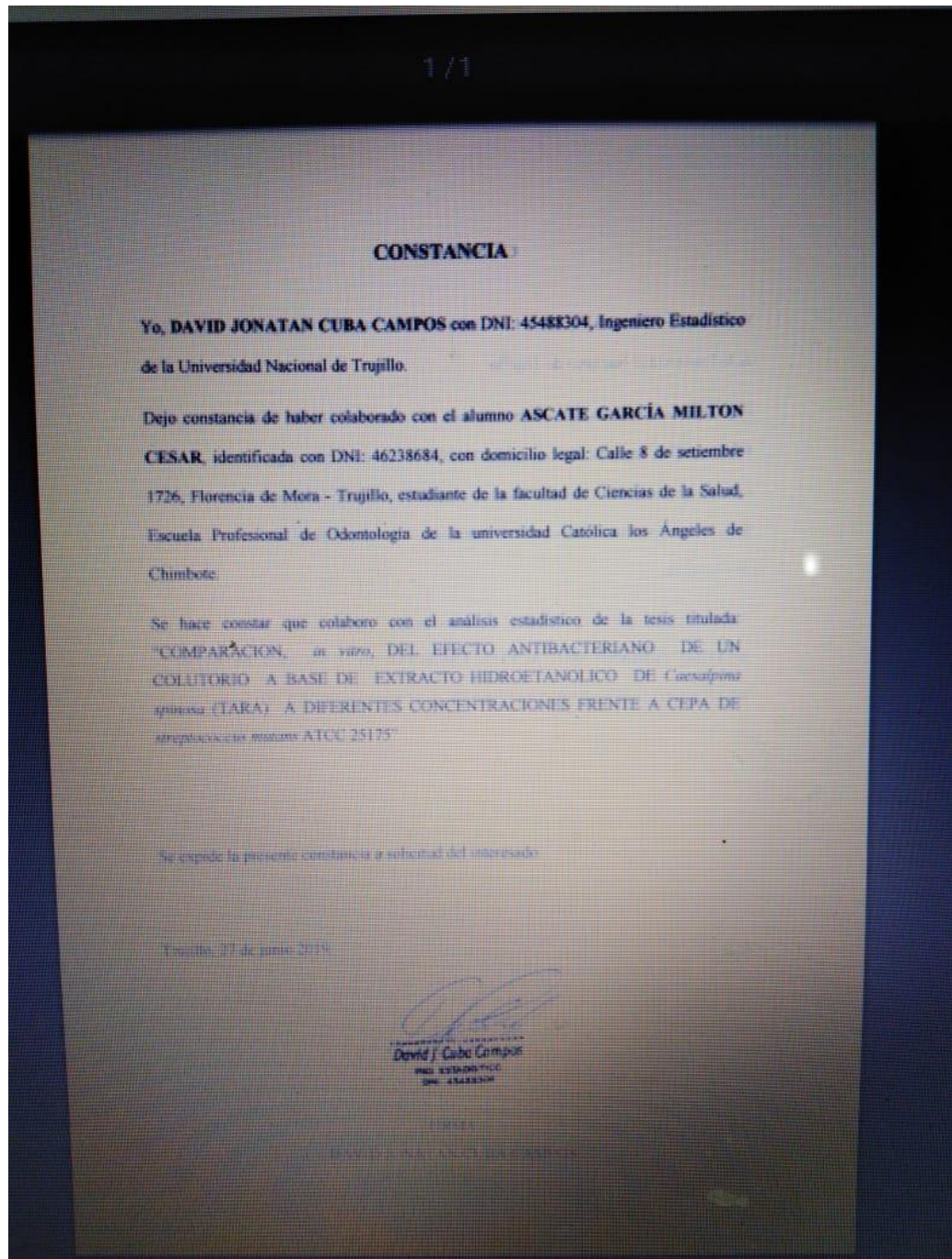
Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinente.

Trujillo 10 de octubre del 2018.




Dña. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 7: Constancia Del Estadístico



Anexo 8: Evidencias De La Ejecución Del Proyecto de Tesis

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo



Recolección de la semilla de tara del jardín botánico de la UNT



Luego de la separación de las sustancias extrañas, se procedió a lavar la muestra con agua destilada y desinfectada con hipoclorito de sodio. Posteriormente se secó en estufa a 40°C. Por 3 días.



Pasado 3 días la muestra estaba seca y se procedió a separar las semillas del fruto de *Caesalpinia spinosa*. Y sólo se pulverizó las cáscaras con ayuda de un mortero.



Se pasó la muestra molida por un set de tamices para homogenizar el tamaño de partículas.



Luego se colocó en frascos de vidrio de color ámbar para su posterior utilización.

Preparación del extracto hidroetanólico de tara



Se pesaron 100 g de polvo de tara previamente humectada con etanol de 30°GL. Se colocó en el equipo de percolación con cantidad suficiente de etanol de 30 °GL se dejó macerar por un periodo de 24 hs

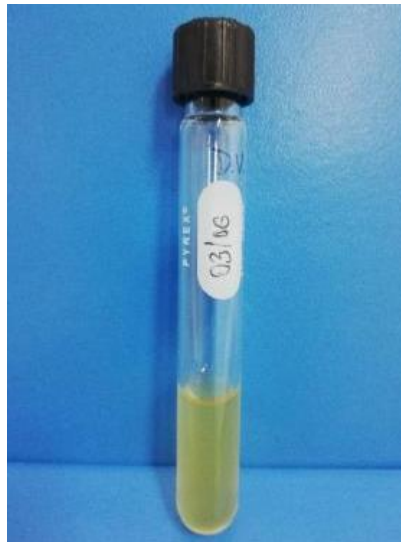


Preparación de Colutorios a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a las concentraciones de 25%, 30% y 35%.

Microbiología

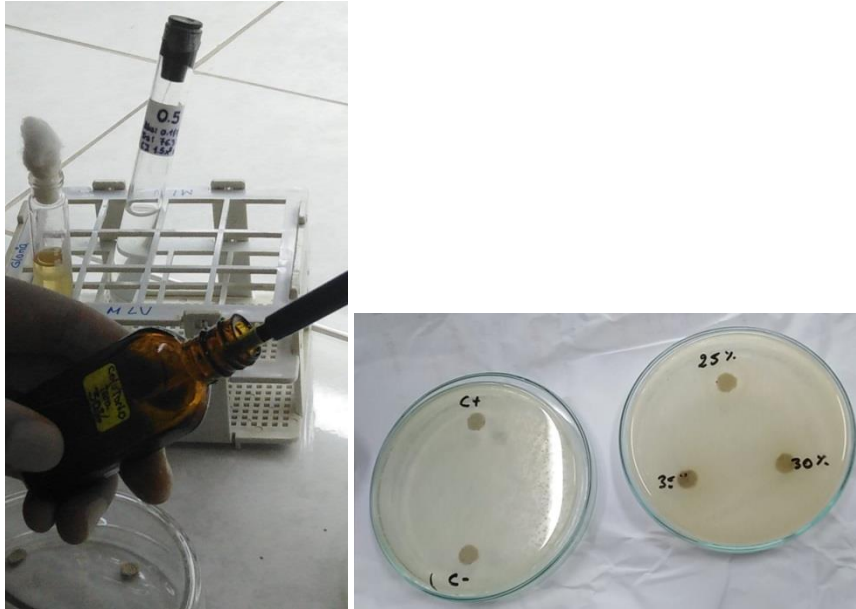


Sistema conteniendo cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI)

Preparación de los discos con las diferentes concentraciones de colutorios a base de extracto hidroetanólico de tara.

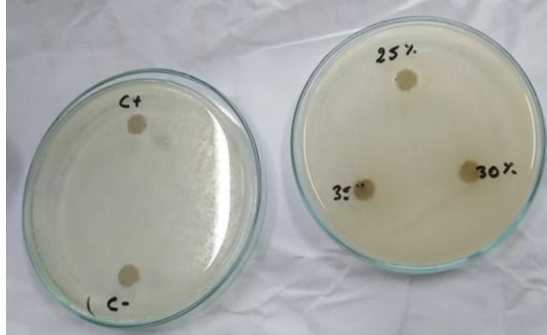


Incubación

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de las concentraciones a evaluar, a 37°C durante 24 y 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.



Lectura De Resultados



Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinó cada placa y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó **VERNIER DIGITAL** marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm/0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025, abarcando el diámetro del halo.

Anexo 9: Prueba De Normalidad

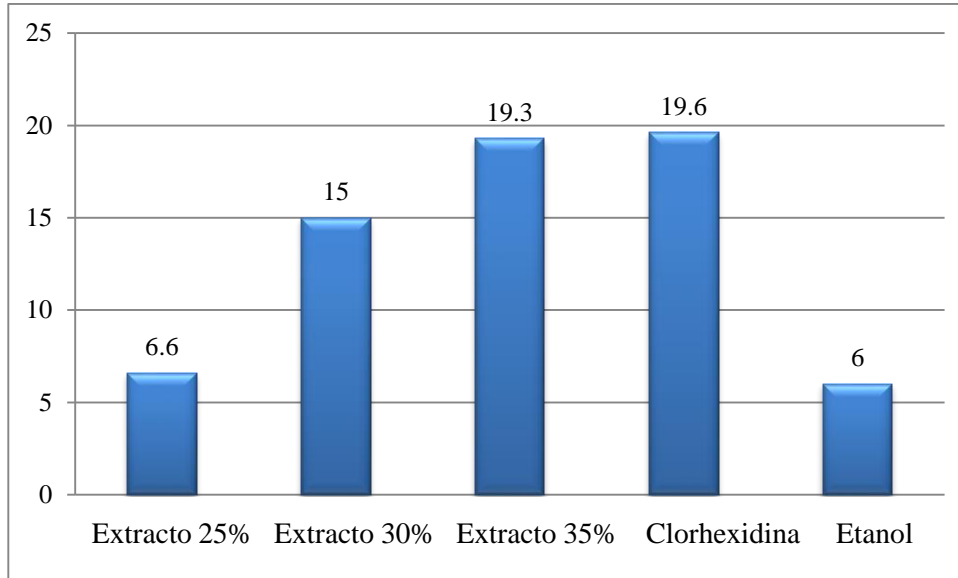
Prueba de normalidad, efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Repeticiones	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)				
	Extracto 25%	Extracto 30%	Extracto 35%	Etanol 70°	Clorhexidina 0.12%
1	6	15	20	20	6
2	7	15	20	20	6
3	6	15	20	20	6
4	6	15	18	18	6
5	8	15	20	20	6
6	6	15	20	20	6
7	6	15	18	20	6
8	7	15	20	18	6
9	7	15	18	20	6
10	7	15	19	20	6
Promedio	6.6	15	19.3	19.6	6
P	0.008	*	0.001	0.000	*
Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)	No Normalidad		No Normalidad	No Normalidad	

(*) Extracto 30% y Clorhexidina 0.12%, es un constante y se ha desestimado

Anexo 10

Grafico 1: Efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 2517



HOJA DE CONFLICTO DE INTERESES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio titulado Comparación, *in vitro*, del efecto antibacteriano de un colutorio a base de extracto hidroetanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) a diferentes concentraciones frente a cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo Perú 2021:

La presente investigación fue autofinanciada.



Milton Cesar Ascate García

DNI.46238684