



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *SOLANUM TUBEROSUM*
“TOCOSH” Y CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *STREPTOCOCCUS*
MUTANS ATCC 25175. IN VITRO

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTORA

Enciso Ylla, Silvana Danae

ASESORA

Mg. Medina y Mendoza, Julia Elbia

JURADO

Mg. Manrique Guzmán, Jorge Adalberto

Mg. Chuna Espinoza, Jorge Dante

Dra. Vilchez Reynaga, Luzmila

Lima – Perú

2019

Agradecimientos

A Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. Por estar conmigo en cada paso que doy y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

A mi familia, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes, gracias por haberme motivado constantemente para alcanzar mis metas.

A mis asesores Mg. C.D. Pedro Villafana Losza, Mg. C.D. Eloy Mendoza García, por el tiempo prestado para la revisión del presente trabajo de investigación y a la Mg. C.D. Julia Medina y Mendoza, por haberme guiado y brindado su apoyo en todo momento, además de que gracias a sus consejos y correcciones pude culminar este trabajo de investigación.

A la Mg. Gisela Yupanqui Siccha, jefe del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal, por confiar en mí, abrirme las puertas del laboratorio que dirige y permitirme realizar todo el proceso investigativo bajo su constante supervisión.

Agradezco a todos los docentes que tuve la dicha de conocer, ya que con sus conocimientos, apoyo y amistad me motivaron a desarrollarme como persona y como profesional a lo largo de estos seis años de carrera.

Finalmente me agradezco a mí, por toda la paciencia y el esfuerzo invertido en la realización de este trabajo. No fue un camino fácil, pero ahora me doy cuenta que todo valió la pena.

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh” y la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* (SM) Cepa ATCC 25175. Método: experimental, comparativo, prospectivo y transversal. Se realizaron pruebas piloto con la intención de elegir las muestras adecuadas (preparación de las concentraciones y preparación de la cepa), además de hallar el tamaño de muestra para la ejecución de la presente investigación. Se trabajó con papa fermentada (Tocosh) de la cual se obtuvo el extracto hidroalcohólico al 100%, 50%, 75% y 25%. Las cepas de SM fueron aisladas en el medio de cultivo Agar Brain Heart Infusion. La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico se evaluó siguiendo el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) para luego ser comparada con la clorhexidina al 0.12% (grupo de control positivo). Resultados: se determinó que sí existe un efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” sobre cepas de SM. El promedio del halo inhibitorio se incrementa a medida que la concentración del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” aumenta, encontrando así que el extracto al 100% muestra el halo inhibitorio más grande con un promedio de $33.15\text{mm} \pm 2.21\text{mm}$ frente al SM y el menor fue el extracto al 25% con un halo inhibitorio promedio de $20.20\text{mm} \pm 1.88\text{mm}$. La clorhexidina al 0,12%, nuestro grupo de control positivo, formaba un halo inhibitorio promedio de $26\text{mm} \pm 2.57\text{mm}$. Conclusión: el extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 100%, 75%, 50% y 25% presentan una actividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico, *solanum tuberosum*, tocosh, *streptococcus mutans*.

Abstract

The objective of this research was to determine the in vitro antibacterial effect of Solanum tuberosum extract "Tocosh" and 0.12% chlorhexidine against Streptococcus mutans (SM) strain ATCC 25175. Method: experimental, comparative, prospective and transversal. Pilot tests were carried out with the intention of choosing the appropriate samples (preparation of the concentrations and preparation of the strain), in addition to finding the sample size for the execution of the present investigation. We worked with fermented potatoes (Tocosh) from which the 100%, 50%, 75% and 25% hydroalcoholic extract was obtained. The strains of SM were isolated in the Agar Brain Heart Infusion culture medium. The antibacterial activity of the hydroalcoholic extract was evaluated following the agar diffusion method (Kirby-Bauer) and then compared with 0.12% chlorhexidine (positive control group). Results: it was determined that there is an antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of Solanum tuberosum "Tocosh" on strains of MS. The average of the inhibitory halo increases as the concentration of the hydroalcoholic extract of Solanum tuberosum "Tocosh" increases, thus finding that the 100% extract shows the largest inhibitory halo with an average of $33.15\text{mm} \pm 2.21\text{mm}$ versus the SM and the lowest was the 25% extract with an average inhibitory halo of $20.20\text{mm} \pm 1.88\text{mm}$. 0.12% chlorhexidine, our positive control group, formed an average inhibitory halo of $26\text{mm} \pm 2.57\text{mm}$. Conclusion: 100%, 75%, 50% and 25% Solanum tuberosum "Tocosh" hydroalcoholic extract has an antibacterial activity against Streptococcus mutans strain ATCC 25175.

Key words: Hydroalcoholic extract, solanum tuberosum, tocosh, streptococcus mutans.

Índice

I. Introducción	1
1.1 Descripción y formulación del problema	2
1.2 Antecedentes	3
1.3 Objetivos	7
- Objetivo General	7
- Objetivos Específicos	7
1.4 Justificación	7
1.5 Hipótesis	8
II. Marco teórico	9
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	9
III. Método	22
3.1 Tipo de investigación	22
3.2 Ámbito temporal y espacial	22
3.3 Variables	22
3.4 Población y muestra	23
3.5 Instrumentos	24
3.6 Procedimientos	25
3.7 Análisis de datos	28
3.8 Consideraciones éticas	28
IV. Resultados	30
V. Discusión de resultados	36
VI. Conclusiones	39
VII. Recomendaciones	41
VIII. Referencias	42

IX. Anexos	47
Anexo 1: Permiso de ejecución de la F.O	47
Anexo 2. Carta de presentación dirigida a la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la UNFV	48
Anexo 3: Informe del procedimiento de preparación del Extracto hidroalcohólico de Solanum Tuberosum “Tocosh”	49
Anexo 4: Informe del procedimiento de preparación del Extracto acuoso de Solanum Tuberosum “Tocosh”	50
Anexo 5: Recibo de compra de la Cepa de Streptococcus Mutans ATCC 25175	51
Anexo 6: Ficha de recolección de datos elaborada por el investigador	52
Anexo 7. Fotografías de la elaboración del extracto de Solanum Tuberosum “Tocosh”	53
Anexo 8. Preparación del medio de cultivo Agar BHI	54
Anexo 9. Activación de la Cepa de Streptococcus Mutans	55
Anexo 10. Identificación de Streptococcus Mutans en Agar Mitis Salivarius, tinción Gram y luego vista microscópica	56
Anexo 11. Prueba piloto N°1	57
Anexo 12. Prueba piloto N°2	58
Anexo 13. Prueba piloto N°3	59
Anexo 14. Ejecución del procedimiento microbiológico	60
Anexo 15. Matriz de consistencia	61

I. Introducción

Numerosas investigaciones demuestran que el hombre siempre ha utilizado plantas con fines medicinales (preventivos y curativos), las cuales tienen numerosas aplicaciones versátiles. La cavidad bucal alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable. Estos microorganismos constituyen la flora bucal del ser humano, la cual es altamente diversa y cuyos valores pueden fácilmente alterarse por factores externos, este desequilibrio es el que desencadena manifestaciones que terminan siendo enfermedades bucales

En las últimas décadas se han establecido ciertos protocolos que ayudan en el control de la placa bacteriana, desde recomendaciones en la mejora de la higiene bucal, disminución de la cantidad de carbohidratos y glúcidos en la dieta diaria, programas de fisioterapia bucal que ayuden a mejorar la remoción mecánica de placa bacteriana (ya sea de manera individual o asistida) y también el uso de productos químicos que contribuyan en el control de la placa bacteriana para poder así reducir los índices de prevalencia de caries dental en el país. Aún con todas estas propuestas de mejora, el Perú se mantiene con niveles de prevalencia de caries dental que son alarmantes, esto se podría deber a que numerosas regiones del país presentan difícil acceso para poder masificar los programas de prevención planteados hasta el momento.

Conociendo la biodiversidad de climas del país que favorecen el cultivo de productos naturales que pueden ser utilizados como parte de la solución a esta problemática, es que nace esta investigación, cuya finalidad fue la de encontrar un producto que esté al alcance de las poblaciones altoandinas que contribuya a prevenir la aparición de la caries dental.

1.1 Descripción y formulación del problema

Actualmente, se está investigando nuevas alternativas de productos naturales para solucionar problemas médicos y odontológicos. Es en este contexto que en nuestro país además del difícil acceso a los medicamentos, la carencia de los profesionales de la salud en muchas regiones alto andinas así como la falta de recursos médicos, es que se necesita impulsar el mayor uso de recursos de origen natural que son económicamente viables y constituyen alternativas eficaces para tratar las afecciones bucales.

La actividad antibacteriana de los fármacos comercialmente más usados está siendo afectada por la emergente resistencia bacteriana, lo cual ha generado el interés en la búsqueda de medicamentos naturales que tengan el mismo efecto antibacteriano, prueba de ellos es el aumento en los últimos años del número de publicaciones que relacionan los productos naturales y la actividad antimicrobiana (Ramirez y Marin, 2009).

La cavidad bucal humana es la puerta de entrada a virus y bacterias del medio ambiente, convirtiéndolo en uno de los hábitats de microorganismos más poblados del cuerpo humano. Se han hallado alrededor de 6 mil millones de bacterias y potencialmente 35 veces más de virus en la cavidad bucal (Edlund, 2015).

Las bacterias bucales están inmersas en una comunidad compleja y diversa de microorganismos que participan en la formación del biofilm o placa bacteriana cumpliendo numerosas funciones, interacciones y propiedades. Las investigaciones señalan que muchos de estos son los que participan en la patogénesis de la caries dental, entre ellos sobresalen los *Streptococcus mutans*, el *Lactobacillus spp* y el *Actinomyces spp* (Ojeda, Oviedo y Salas, 2013).

Durante décadas, las especies de *Streptococcus mutans* acidogénicos y fermentadores de azúcares, han sido considerados como los agentes causales principales

de la caries dental y muchas de las estrategias preventivas y terapéuticas han sido orientadas a eliminarlos y contrarrestar su acción cariogénica (García, 2017).

La asociación que existe entre el *S. mutans* y la caries dental ha impulsado la búsqueda de mecanismos para abolir esta enfermedad, suprimiendo los microorganismos de la cavidad bucal que favorecen su patogenia, es por este objetivo que se aconseja el uso de la clorhexidina como método terapéutico (Bascones y Morantes 2006).

Una nueva alternativa terapéutica en nuestro país es el uso de la especie *Solanum tuberosum* “Tocosh”, producto oriundo y de uso tradicional en las zonas andinas del Perú. Múltiples estudios demuestran importantes propiedades medicinales como los reportados por Lechuga y Salas en el 2013. Sin embargo, aún no se ha podido demostrar su efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* y tampoco se ha estudiado a profundidad su efectividad frente a las demás bacterias asociadas a la caries dental.

Por tales motivos, el presente estudio tiene como propósito identificar la actividad antibacteriana del *Solanum tuberosum* “Tocosh” frente a *Streptococcus mutans*, por lo que cabe responder la siguiente interrogante:

¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh” y clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Sreptococcus mutans* in vitro?

1.2 Antecedentes

López (2017) realizó una investigación en Perú que tuvo como finalidad evaluar si existe un efecto inhibitorio de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (SA), comparándolo con vancomicina y oxacilina. En este estudio experimental *in vitro* se utilizó el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* y una cepa de *Staphylococcus aureus* proveniente del laboratorio de Microbiología de la

Universidad Nacional de Trujillo, la cual se comparó a 5 grupos, 3 de ellos tenían extractos al 25, 50 y 100% y los otros 2 fueron de control (oxacilina y vancomicina), para determinar la susceptibilidad antibacteriana evidenciada por la formación de halos de inhibición y la concentración mínima inhibitoria (CMI) a través del recuento de unidades formadoras de colonias. Los resultados fueron que el SA fue muy sensible frente al extracto al 25% ($17,75 \pm 1,05$ mm) y sumamente sensible frente a concentraciones del 50 % y 100% ($22,17 \pm 0,94$ y $25,42 \pm 1,62$ mm respectivamente). La CMI fue de 500 mg /dL (extracto al 50%). Con estos resultados se comprobó la hipótesis de que el *Solanum tuberosum* (papa fermentada) posee efecto inhibitorio *in vitro* sobre cepas de SA comparado con vancomicina y oxacilina.

Arratea y Mamani (2017) realizaron un estudio experimental en Perú, que tuvo como finalidad determinar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (SA) de manera *in vitro*. Esta investigación se realizó en tres etapas: en la primera se realizó un estudio piloto, en la segunda etapa se realizó de la marcha fitoquímica para las muestras trabajadas y en la tercera etapa se realizó el sembrado con cepa liofilizada de SA en agar Müller-Hinton, empleando la técnica de difusión en agar con discos impregnados de las sustancias a evaluar. Se utilizaron 5 placas con discos de cefalexina 30µg, discos del extracto acuoso al 5 por ciento de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y con discos de aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90 por ciento. Como resultado se obtuvo que el halo de inhibición formado por el extracto acuoso del *Solanum tuberosum* fue de $20,8 \pm 0,3$ mm, de *Thymus vulgaris* (tomillo) $15,7 \pm 0,3$ mm y de cefalexina $31,2 \pm 0,3$ mm. Con estos resultados se encuentra que frente a la cepa de SA el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* tiene actividad antibacteriana denominada sensible según CLSI (Instituto de

Estándares para el Laboratorio y la Clínica) y sumamente sensible para Duraffourd. En el caso del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo), actividad antibacteriana intermedia, según CSLI, y muy sensible para Duraffourd.

Pesantes (2015) realizó un estudio experimental *in vitro* en Perú, que tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Escherichia coli* (EC) comparándolo con ceftriaxona y gentamicina. En este estudio se evaluaron 30 cepas de EC (aisladas de urocultivos provenientes de pacientes con diagnóstico de infección de vías urinarias) almacenadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Privada Antenor Orrego. Se comparó el efecto antibacteriano de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) con la ceftriaxona, quedando en evidencia que un 20% del tubérculo y un 60% del fármaco presentaban sensibilidad; un 73.3% y un 36% de cepas correspondiente resultaron ser moderadamente sensibles y presentaron resistencia un 6.7% del tubérculo y un 3.3% del fármaco. También se comparó el efecto antibacteriano del *Solanum tuberosum* (papa fermentada) con la gentamicina, este obtuvo una acción antibacteriana sensible en un 90% con respecto al fármaco, el cual mostró solo 43.3%. Así como un efecto antibacteriano Intermedio o Moderadamente Sensible con 6.7% y 30% correspondientemente. Con estos resultados se concluyó que si existe acción antibacteriana de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) frente a cepas de EC, este efecto es moderadamente sensible frente a la ceftriaxona y mayor al obtenido con la gentamicina.

Amanpour, Abbasi, Neyriz y Asadi (2015) realizaron un estudio experimental *in vitro* en Irán, con el objetivo de investigar los efectos antibacterianos del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* sobre *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* PTCC 1113, *Pseudomonas* PTCC 1430 y *Klebsiella pneumoniae* PTCC 1053. Este

estudio partió con la preparación del Extracto etanólico de la cáscara de *Solanum tuberosum*, mediante el método de maceración. La actividad antibacteriana del extracto se determinó cualitativamente mediante la prueba de difusión en disco; luego la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima se determinaron cualitativamente mediante el método de microdilución, evidenciándose que el extracto etanólico de la cáscara de *Solanum tuberosum* posee propiedades antibacterianas, además de determinar que poseen compuestos fenólicos llamados flavonas y antocianinas conocidas por sus acciones antibacterianas, antivirales y anti fúngicas, siendo mayores en bacterias Gram positivas, especialmente *S. aureus* ($0,62 \pm 0,00$ mg/ml) y *S. pyogenes* ($1,25 \pm 0,00$ mg/ml), en comparación a Gram-negativas, *P. aeruginosa* ($8,33 \pm 2,88$ mg/ml) y sin tener efecto frente a *K. pneumoniae*.

Mayta y Sacsquispe (2009) realizaron un estudio experimental *in vitro* con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa (Perú) sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Se evaluó la actividad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer y el tamaño de muestra fue 16, dando como resultado que para el *S. aureus*, el extracto etanólico de propóleo (EPP) al 30% presentó mayor eficacia con una media de $11,77\text{mm} \pm 0,19$ y se encontró que las dos concentraciones de propóleo (10 y 30%) a las 24 y 48 horas mostraron diferencia significativa. Además, se determinó que para el *S. mutans*, tanto el EEP al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no mostraron diferencia significativa. Se concluyó que el EEP al 30% tuvo mayor efecto antibacteriano que el Listerine® contra el *S. mutans* e igual en efectividad que la clorhexidina 0,05% frente al *S. aureus*.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75%, 100% y la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar *in vitro* el diámetro del halo inhibitorio del extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.
- Evaluar *in vitro* el diámetro del halo inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.
- Comparar el promedio del diámetro de halo de inhibición entre los grupos de estudio.

1.4 Justificación

El presente trabajo de investigación se justifica en su originalidad, ya que no se encontraron antecedentes de investigación similar, además permitirá conocer e investigar la actividad antibacteriana del *Solanum tuberosum* “Tocosh” sobre *Streptococcus mutans*, además de aportar bases científicas para el uso de este como terapia alternativa en el control de las enfermedades bucales.

La importancia del presente estudio radica en la búsqueda de productos alternativos de comprobada acción antimicrobiana, los cuales se pueden obtener de la flora propia del país. Además posee un alto impacto social debido a que la región andina posee una diversidad de climas y una naturaleza libre de industrias, que permite una abundante

cosecha de papa y de esa manera impulsar el aprovechamiento del uso de la papa fermentada como método alternativo preventivo en la práctica odontológica, también permitirá al clínico contemplar un nuevo método preventivo odontológico, el cual podrá ser usado de manera segura y rutinaria en poblaciones alto andinas.

1.5 Hipótesis

Dado que el extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh” tiene comprobada acción antibacteriana sobre los Gram positivos, es probable que posea un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* cepa ATC 25175, comparado con la clorhexidina al 0.12%.

II. Marco Teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

La actividad antibacteriana es la capacidad de ciertas sustancias para inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo afectado por esta. Numerosas investigaciones demuestran que el hombre siempre ha utilizado plantas con fines medicinales (preventivos y curativos), las cuales tienen numerosas aplicaciones versátiles (Ramirez y Marin, 2009).

El desarrollo de la industria farmacéutica creó el ambiente propicio para la identificación de principios activos, análisis biológicos, formulaciones de dosis, seguidas por estudios clínicos para establecer la eficacia, seguridad y perfil farmacológico de los nuevos medicamentos (Iwu, Duncan y Okunji, 1999).

Existen diferentes métodos *in vitro* para determinar la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos, los cuales están divididos en tres grupos principales: Bioautografía, métodos de difusión y métodos de dilución (Ramirez y Marin, 2009).

La técnica de difusión ha sido la más usada para evaluar extractos de plantas con actividad antimicrobiana, ya sea en pozo o en discos de papel. El método de difusión en agar está apoyado por diferentes investigaciones que recomiendan su uso ya que sus resultados son altamente reproducibles (Barry, Amsterdam, Coyle, Gerlach y Thornsberry, 1979).

El método de difusión más usado es el de Kirby-Bauer, el cual es empleado para determinar la sensibilidad de alguna sustancia antimicrobiana frente a una cepa bacteriana. Para llevarlo a cabo es necesario realizar un correcto sembrado de la bacteria a estudiar en un medio de cultivo adecuado. Este método se encarga de estudiar la

relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento, esto se puede evidenciar en la superficie de una placa de agar sobre la cual se ha depositado la sustancia a evaluar, ya sea impregnada en un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o de manera directa en un pozillo (Ramirez y Marin, 2009).

La cavidad bucal alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable. Estos microorganismos constituyen la flora bucal del ser humano, la cual es altamente diversa y cuyos valores pueden fácilmente alterarse por factores externos, este desequilibrio es el que desencadena manifestaciones que terminan siendo enfermedades bucales, es por este motivo que numerosas investigaciones se centran en hallar nuevas sustancias que sean de fácil acceso con la finalidad de controlar la proliferación de estos microorganismos (Mayta y Sacsquispe, 2010).

De la gran cantidad de microorganismos que habitan en la cavidad oral, los que pertenecen al género *Streptococcus*, básicamente las especies *mutans* (con sus diferentes serotipos), han sido vinculados con la caries dental tanto en humanos como en animales, la cual ha sido investigada ampliamente para conocer su patogenicidad. Los *Streptococcus* son bacterias que se presentan por lo general bajo la forma de coco, no tienen movimiento, pueden crecer en cadenas o en parejas, por lo general reaccionan de manera positiva a la coloración Gram y se conoce como uno de los primeros microorganismos que colonizan la superficie dental después de la erupción dental (Azevedo, 1985).

El *Streptococcus mutans* según Duque (2006), recibe este nombre por su tendencia a cambiar de forma (ya sea bajo la forma de coco o un poco más alargada, como bacilo). Este es un Gram positivo dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativo, a productor

rápido de ácido láctico; es también fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. El hábitat natural es en la cavidad bucal, se puede encontrar en lesiones cariosas y también en la superficie del diente (Ojeda, Oviedo y Salas, 2013).

Debido a la gran diversidad de microorganismos que contiene la placa dental, en el que cada uno de ellos necesita ciertas condiciones para poder desarrollarse es que no existe un solo método de cultivo que satisfaga todas esas necesidades.

Afortunadamente, varias de las especies de *Streptococcus* bucales pueden cultivarse usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS). Originalmente el Agar MS fue desarrollado para aislar *Streptococcus faecalis*, tiempo después su uso se ha predominado como un medio de cultivo para el aislamiento de *Streptococcus* bucales, incluyendo al *Streptococcus mutans*. En el agar MS, la mayoría de *Streptococcus* bucales muestran sus colonias con su morfología característica (colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo, blanquecinas y de bordes definidos) lo cual facilita su diferenciación en primera instancia. Por lo general la placa de agar se cultiva bajo ciertas indicaciones, como lo son estar en una atmósfera del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días, seguido de una incubación en aire por 1 o 2 días. Otra característica de los *Streptococcus* bucales es que pueden fermentar ciertos azúcares (por ejemplo el manitol y sorbitol) y en presencia de sacarosa se adhieren a superficies lisas (Ojeda *et al.*, 2013).

El cultivo en agar nos facilita poder realizar recuentos bacterianos con el fin de establecer proporciones relativas mediante métodos cuantitativos. En la actualidad existen 5 diferentes medios de cultivo específicos para el sembrado de *Streptococcus mutans*, estos son: Agar Mitis salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius con bacitracina y kanamicina (MSKB) Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina

(GSTB) Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB). De estos 5, el medio específico más usado para aislar al *S. mutans* es el agar Mitis Salivarius (Medina, Moreno, Velasco y Gutierrez, 2005; Ojeda *et al.*, 2013).

Actualmente ya es un hecho que las variaciones en el estilo de vida de la población fueron uno de los factores que generó que las cifras de la prevalencia de la caries dental haya aumentado, al decir esto nos referimos al incremento de carbohidratos en la dieta de alimentos blandos. Existe un estrecho vínculo entre la formación de caries y el consumo de azúcar. Lo que determina el potencial cariogénico de los alimentos azucarados están vinculados con su consistencia, textura y adhesión, sumado a las circunstancias y factores en los cuales son ingeridos, son elementos más importantes que la cantidad de azúcar que ellos puedan contener (Duque, Hidalgo y Perez, 2006).

Keyes (1960) estableció que la etiopatogenia de la caries se rige por la interacción simultánea de tres elementos principales: un factor “microorganismos” que en presencia de un factor “sustrato” (ingesta de carbohidratos), logra afectar a un factor “diente” (también denominado hospedero). La interrelación entre estos elementos constituye la base fundamental para el desarrollo de la caries dental, si estos interactuaran en un periodo muy breve la caries dental no se produciría; es así que se agregó el tiempo de interacción como un elemento más que participa en el proceso de formación de la enfermedad cariosa. Actualmente se sabe que existen diversas variables que intervienen y modifican su etiopatogenia, entre ellos tenemos a los factores socioeconómicos y culturales que no solo pueden condicionar hábitos dietéticos y de higiene oral, sino que además regulan la respuesta inmune del organismo a través de la producción de saliva y de exudado gingival.

El hombre, desde tiempos remotos, ha tenido la constante inquietud por saber cómo funcionan las enfermedades del aparato dentario y sobre todo como se reparan, con la finalidad de que puedan prestar el servicio constante y fundamental al que están destinados (principalmente durante la masticación). Existen numerosas investigaciones en las que se afirman que las lesiones dentarias son igual de antiguas como la vida del hombre sobre el planeta (Duque *et al.*, 2006).

En el ámbito de la prevención de la caries dental se han propuesto diferentes tácticas que involucran el control microbiológico, control inmunológico, educación específica, control de dieta, detección previa de factores de riesgo, higiene bucal, ingestión y aplicación tópica de fluoruros y fármacos, además de la colocación de sellantes en fisuras y fosas. Muchas de estas se han estado realizando sin la continuidad, profundidad, sistematización, vigilancia y control que son necesarias para que sean efectivas en un 100% de sus posibilidades. Las medidas por sí mismas son efectivas, pero estas dependen de quienes las implementan, organizan o vigilan, ya que de no hacerse adecuadamente, no se lograrán las metas planteadas (Herazo, 1993; Gamboa, Herazo y Martínez, 2004).

Para Cañigüeral, Villa y Witchtl (1998) la fitoterapia es la ciencia que se encarga de estudiar el uso de productos de origen vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, aliviar o curar un cuadro patológico. Es bien sabido que la humanidad a lo largo de la historia ha empleado las plantas para curarse, lo cual se fue modificando a lo largo de las generaciones de acuerdo con los avances de la ciencia y la tecnología que ayudaron a saber más sobre estos productos, como sobre las demás herramientas terapéuticas que podían potencializar su mecanismo de acción.

Los medicamentos fitoterápicos se rigen por las drogas vegetales y la variedad de productos que de ellas se obtienen. La OMS definió en 1978 los conceptos de droga vegetal, planta medicinal y principios activos de la siguiente manera:

- Planta medicinal: es aquella planta de la cual se pueden obtener sustancias que pueden ser empleadas con fines curativos/terapéuticos o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica.
- Droga vegetal: es definida como la fracción de la planta medicinal utilizada en terapéutica.
- Principios activos: son todas aquellas sustancias encargadas de la acción farmacológica (Cañigual, Dellacassa y Bandoni, 2003).

En la Odontología existe expectativa creciente en el uso de los fitoterápicos en diferentes formas farmacéuticas incluyendo colutorios, soluciones y como constituyentes de dentífricos. La literatura relata plantas medicinales con propiedades antiinflamatorias, antihemorrágicas y analgésicas para el tratamiento de odontalgias y de otras afecciones orales. Por ejemplo, el uso de los aceites esenciales del cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) y del clavo (*Eugenia caryophyllata T.*) está indicado para las odontalgias. La granada (*Punica granatum Linn*) tiene actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, microorganismo de extrema importancia en la formación del biofilm dental, además de aplicada contra gingivitis y heridas bucales, por su acción antiséptica y antibiótica. La inclusión de los fitoterápicos utilizados en los procedimientos odontológicos en el Sistema Único de Salud y como parte de los cuidados primario de la atención básica a nivel público (Pereira, 2009).

La papa (*Solanum tuberosum*) pertenece a la familia solanácea, originaria de América del Sur, la cual es cultivada en todo el mundo porque es un producto

comestibles. Esta fue cultivada en el altiplano andino desde hace unos 7000 años, luego de la conquista española fue llevada a Europa y es de esta manera que su consumo fue creciendo con el pasar de los años y su cultivo se propagó a todo el mundo. En la actualidad, de las 5000 variedades de papa descuertas, 3000 de ellas se encuentran en el Perú ya que posee óptimas condiciones de clima para su cultivo (Cárdenas, 2009).

El valor biológico y nutricional que posee es comparable con otros tubérculos andinos, pero a diferencia de los demás, la papa contiene pigmentos y antioxidantes naturales (pigmentos como carotenoides en las amarillas, antocianinas en las rojas y moradas, flavonoides además de fenoles), un alto contenido de materia seca, (24 a 32 por ciento), fibra encontrada en su cáscara, posee también sabor agradable, buena capacidad de almacenamiento, variedad en formas y colores, además de un alto contenido de vitaminas y minerales (Segura, 2014).

El *Solanum tuberosum* pertenece al Reino Plantae, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, subclase *Asteridae*, orden *Solanales*, familia *Solanáceas*, género *Solanum*, especie *Solanum tuberosum* (Arratea y Mamani, 2017).

Valor Nutricional: Cada 100 gramos de papa nativa aporta los siguientes valores: energía 97 kilo calorías o 406 kilo Jules, 74.5 gramos de agua, 2.1 gramos de proteínas, 0.1 gramos de grasa total, 22.3 gramos de carbohidratos totales, 19.9 gramos de carbohidratos disponibles, 0.6 gramos de fibra cruda, 2.4 gramos de fibra dietaría, 1.0 gramos de cenizas, 9.0 miligramos de Calcio, 47.0 miligramos de Fósforo, 0.29 miligramos de Zinc, 0.50 miligramos de Hierro, 3.0 microgramos de Retinol, 0.09 miligramos de Tiamina, 0.09 miligramos de Riboflavina, 1.67 miligramos de Niacina y 14.0 miligramos de Vitamina C, según lo descrito por Instituto Nacional de Salud en las Tablas Peruanas de composición de alimentos (Segura, 2014).

Para obtener la papa fermentada como producto final, esta tiene que pasar por una técnica de transformación, la cual ha sido trabajada desde la época de las culturas prehispánicas con el objetivo inicial de preservar el alimento en tiempos de escases, para que luego se le encontrase también un uso medicinal. Estas técnicas de procesamiento de la papa aún se encuentran vigentes a lo largo de la zona Andina por encima de los 3500 msnm, sobre todo en las regiones quechua, jalca o puna. Las variedades de papa fermentada más conocidos actualmente son la lojota, el khachu-chuñu, la muraya, la Tunta o Chuño blanco, el Chuño negro y el “Tocosh” (Arratea y Mamani, 2017).

- La lojota: llamado también como chuño fresco, comercialmente posee alta aprobación por la población urbana, se vende envuelta con paja seca para así poder evitar que entre en contacto con el sol y se descongele. Esta se procesa cuando comienzan las heladas, lo primero que se hace es seleccionar las papas amargas de la variedad k'aisalla (forma cónica) y nazari (nariz en punta), para luego ser dejadas durante toda la noche en la intemperie con la finalidad de que se congelen y durante el día se guardan bajo sombra, se continua este procedimiento día tras día hasta que la papa se congele por completo.
- El khachu-chuñu (chuño no maduro): para obtenerlo primero se seleccionan las papas dulces; su elaboración es muy parecida a la de la lojota, con la diferencia de que durante el día no importa si los rayos del sol les llegan directamente. Esta variedad de papa fermentada no posee fines comerciales sino más bien familiares.
- La muraya o “fermentado dentro del agua”: su elaboración está orientada para el consumo familiar, es por este motivo que se prepara en cantidades reducidas. Su procesamiento se inicia llevando las papas al interior de un pozo, rodeadas del

barro que existe en esta, es así que se produce la fermentación. Se dejan reposar en el pozo por aproximadamente 20-25 días para después ser lavadas; luego se someten al proceso de congelación en la helada (intemperie). Estas permanecen así durante días y noches hasta que se deshidraten y pierdan la cáscara, luego de esto ya están lista para el consumo humano (Arratea y Mamani, 2017).

- Tunta o Chuño blanco: El proceso de elaboración de la tunta es uno de los más largos, se inicia cuando las papas enteras se someten a temperaturas muy bajas (heladas) durante las noches y a un fuerte sol en el día por 30 días aproximadamente, luego por 5-8 días son cubiertas con paja para evitar que se quemem. Terminado este tiempo son remojadas con agua de los ríos por 20-30 días. Continuando con su elaboración, son retiradas del agua para su apisonamiento y eliminación del exceso de líquido, luego se vuelve a exponer al sol por 5-8 días más y finalmente se frotan con las manos para ya estar listas para el consumo (Fonseca, Huarachi, Chura y Cotrado, 2008; Manrique y Fonseca, 2017).
- Chuño negro: para su elaboración se usan tubérculos nativos pequeños, estos no se remojan, solo se exponen por un aproximado de 7 días a las heladas nocturnas y a un fuerte sol de la intemperie, luego de esto ya están listas para el consumo humano. Esta variedad de papa fermentada no necesita ser cubierta con paja durante su procesamiento. Poseen un color negro muy característico (Manrique y Fonseca, 2017).
- El Tocosh: es un producto producido en todas las comunidades campesinas altoandinas del país, empleando aquellas papas que son excluidas por poseer un sabor muy amargo para su consumo directo, estas pueden ser de diferentes variedades (huayro, iskupuru y blanca). Su elaboración inicia cuando se procede

a realizar un hoyo de 60 cm de profundidad, la cual debe estar cerca de una acequia para que las papas estén en un ambiente húmedo (lo cual favorece a su elaboración); se acomodan y se tapan con paja llamada shicshi, luego se colocan piedras encima con la finalidad de que las papas no se las lleve la corriente de agua. Se dejan en este compartimiento por aproximadamente por mes y medio, pasado este tiempo se retira del hueco y se colocan bajo sombra por 3 días (Diario Perú primero, 2014).

Adams (2009) señala que el tocosh es una papa fermentada naturalmente, la cual ha sido trabajada desde tiempos muy remotos ya sea con fines curativos y/o alimenticios. Su elaboración consiste básicamente en colocar la papa en pozas cubiertas por paja en una zona cercana a una corriente de agua, por un periodo de hasta 6 meses (depende de la temporada del año en el que se encuentre) para luego ser empleadas para el consumo humano. Al pasar por este proceso, la papa fermentada se reduce de tamaño (excepto su cáscara) consiguiendo un olor fuerte muy peculiar, el cual es una de sus características más resaltantes para identificarlo. Este producto natural posee propiedades curativas muy significativas debido a que contiene penicilina, pero de forma natural; es por esto que su consumo en las zonas altoandinas es muy empleado como medicina natural (Vilca, 2014).

En un estudio fitoquímico Soto, Ruesta y Merejildo (2014) encontraron que el tocosh contiene compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, antocianinas, flavonoides, taninos y alcaloides y vitamina C. Además en una investigación realizada por Bianeth y Restrepo (2013) indican que en la cáscara se hallan los componentes fenólicos, los cuales poseen gran actividad antioxidante.

Según Arratea y Mamani (2017) la importancia del tocosh radica en que debería ser considerado como un producto natural con propiedades antimicrobianas, además de que tiene una acción de fortalecimiento del sistema inmunológico, es considerado como un medicamento natural que combate las úlceras estomacales, gastritis crónica, afecciones renales, hemorroides, cuyo consumo podría evitar la osteoporosis y aliviar las afecciones respiratorias altas (bronquitis, faringitis, asma).

En la actualidad no solo encontramos al Tocosh en su presentación natural, sino también bajo la presentación de cápsulas, lo que hace que su uso se expanda a más territorio y ya no sólo los pobladores de nuestra serranía lo consuman, sino que hasta pueda ser comercializado al extranjero (Vilca, 2014).

El principal mecanismo en la prevención de las enfermedades bucales es el control de placa bacteriana, lo cual resulta ser una tarea difícil debido al gran incremento de consumo de carbohidratos que se observan en la actualidad. Acompañando el control mecánico de la placa bacteriana, se está empleando un control químico de la misma, la cual fue instaurada luego de haberse realizado numerosas investigaciones con el fin de encontrar a los antisépticos bucodentales que rindieran los mejores resultados, siendo de todas estas la más aceptada la clorhexidina, por su mayor eficacia en el control de la placa bacteriana bucodental (Bascones y Morantes, 2006).

El mecanismo de acción de la clorhexidina, desde un punto de vista bioquímico, es una base fuerte dicatiónica que la hace extremadamente interactiva con los aniones, esto es lo que le concede su eficacia, además de ser un producto que brinda seguridad al ser usada en los porcentajes adecuados, posee efectos secundarios locales, pero al mismo tiempo demanda dificultad para formularla en productos. La clorhexidina es una base, se mantiene más estable en forma de sal y la preparación comúnmente más empleada es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua (Fordal y Turnbull, 1986).

La clorhexidina se une fuertemente a la membrana celular de las bacterias, lo que a concentraciones bajas produce una elevación de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático), este mismo producto en concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular, que evidencia su efecto bactericida. En la cavidad bucal este es absorbido por el medio rápidamente, creando sobre las superficies dentales una película adquirida (Bascones y Morantes, 2006).

La clorhexidina que ha sido adsorbida es liberada gradualmente por aproximadamente 8-12 horas en su forma activa y transcurridas las 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita que las bacterias colonicen las superficies dentales durante ese tiempo. De esta manera el control químico de la placa bacteriana podría evitar el curso normal de la patogenia de la caries dental (Yankell, Moreno, Soffin, Lowary y Gold, 1982).

El pH óptimo de la clorhexidina se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH es que ejerce su acción frente a diferentes bacterias, si se encuentra con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Bascones y Morantes, 2006).

Las investigaciones que se realizaron en animales y humanos demuestran que la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal es baja. Los niveles plasmáticos de clorhexidina alcanzan un pico de 0,206 pg/g en humanos 30 minutos después de la ingestión de 300 mg de dicho fármaco. No se observaron niveles detectables en plasma de clorhexidina después de 12 horas de la ingesta (Lipman, 1993).

La clorhexidina suele comercializarse en dos presentaciones: al 0,12% y al 0,2%. Los estudios clínicos recomiendan realizar un enjuague con 10 ml de producto a una

concentración del 0,2% ya que libera 20 mg de clorhexidina y de 15 ml al 0,12% que libera 18 mg de la misma. Se puede usar en cualquiera de las dos concentraciones ya que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos (Bascones y Morantes, 2006).

Schiött (1970) en una de sus investigaciones concluye que durante un período de cuarenta días utilizando diariamente un enjuague de 10 ml de clorhexidina al 0,2% se observa una disminución entre el 85 y 90% del número total de microorganismos aerobios y anaerobios que se hallan presentes en la saliva. También se describió una disminución en la población de colonias bacterianas y en la colonización de superficies dentarias, lo cual conlleva a la recomendación del uso de la clorhexidina como un agente químico que ayuda en el control de la placa bacteriana.

III. Método

3.1 Tipo de investigación

El estudio que se realizó es experimental, prospectivo, comparativo y transversal.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Ámbito temporal

La presente investigación se realizó durante el año 2018 e inicios del 2019.

3.2.2 Ámbito espacial

Se hicieron uso de los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal y del laboratorio de Anatomía y Farmacognosia vegetal de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3. Variables

-Variable dependiente: Actividad antibacteriana.

-Variable independiente: Concentración del extracto de *Solanum tuberosum* “Tocosh”.

-Grupo de control positivo: Clorhexidina al 0.12%

3.3.1 Operacionalización de variables.

Variable	Definición operacional	Indicadores	Escala	Valor
Actividad antibacteriana	Es la inhibición en el crecimiento de las bacterias debido a la presencia de un agente antibacteriano	Tamaño del diámetro del halo de inhibición	Razón	Expresado en Mm
Concentración del extracto de <i>Solanum tuberosum</i> "Tocosh"	Extracto elaborado con papa fermentada "Tocosh" cuyas propiedades presentan actividad antibacteriana	Grado de pureza	Nominal	25% 50% 75% 100%

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población

Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Unidad de análisis: Placa Petri inoculada con cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

3.4.2 Muestra

La muestra fue de 20 placas petri con cultivo de *Streptococcus mutans* para nuestra investigación, dato que fue obtenido de una prueba piloto.

3.4.3 Criterios de Selección

Criterios de inclusión:

- Placas petri correctamente inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y cada una con la misma cantidad de Agar BHI.
- Extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% preparado y envasado en condiciones estériles.

Criterios de exclusión:

- Placas petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, que hayan sufrido contaminaciones y/o alteraciones por mala incubación o mala maniobra del operador.
- Extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” en distintas concentraciones que no coincidan con las pedidas en el trabajo de investigación.

3.5 Instrumentos

Se realizó una observación directa y medición del diámetro del halo inhibitorio formada por los extractos al 25%, 50%, 75%, 100% de *Solanum tuberosum* “Tocosh” y como grupo control positivo la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175, a las 24 horas. Se empleó una Ficha de recolección de datos confeccionada por el investigador para registrar los datos obtenidos. La herramienta que se empleó en esta investigación para hacer las mediciones del halo de inhibición será la regla vernier y los valores serán expresados en milímetros (mm).

3.6 Procedimientos

3.6.1 Prueba Piloto.

El estudio piloto fue realizado con la intención de elegir las muestras adecuadas (preparación de las concentraciones y preparación de la cepa), además de hallar el tamaño de muestra para la ejecución de la presente investigación.

En la primera muestra piloto se trabajó con dos tipos de extractos de *Solanum tuberosum* “Tocosh”: extracto acuoso al 10%, 25%, 50% y 80% de concentración (ver Anexo 4) y extracto hidroalcohólico (al 100% de concentración). Se empleó como grupo de control positivo a la Clorhexidina al 0.12%. Se trabajaron un total de 8 placas Petri cultivadas con *Streptococcus mutans* en el medio agar BHI. Cuatro de las placas Petri fueron sometidas a la acción de nuestras unidades de estudio a través de discos de sensibilidad de 5mm de diámetro (elaboradas con papel filtro Whatman N°3, esterilizados en autoclave antes de ser cargados con los extractos y la Clorhexidina) y a las otra cuatro se les hicieron pozos con un sacabocados de 6mm de diámetro, para luego depositar dentro de ellos los extractos y la clorhexidina. La lectura se realizó a las 24 horas mostrando resultados no concluyentes, se sospechó de una contaminación por la carga microbiana del extracto acuoso, por lo que se decidió someter el extracto acuoso a un filtrado bacteriano antes de ser utilizado en la segunda prueba piloto.

En la segunda prueba piloto se procedió a trabajar con el mismo protocolo, pero con el agregado de que ahora el extracto acuoso fue pasado por un filtro bacteriano minutos antes de ser colocados en las placas petri. Se esperó 24 horas para hacer la nueva lectura. Se observó que aún había señales de contaminación, con la diferencia de que esta vez se podían ver ligeros halos de inhibición alrededor de los pozos hechos con sacabocados que contenían a la clorhexidina y al extracto hidroalcohólico. Aquí se

decidió realizar una tercera prueba piloto donde se trabajaría únicamente con el extracto hidroalcohólico y la clorhexidina.

En la tercera prueba piloto se diluyó el extracto hidroalcohólico con agua destilada hasta obtener dos concentraciones más: 50% y 25%. Se prepararon 5 placas petri con cultivo de *Streptococcus mutans* nuevamente y en cada una de ellas se colocaron 3 discos de sensibilidad con cada una de las concentraciones de extracto hidroalcohólico (25%, 50% y 100%) y tres pozos para las mismas concentraciones, los cuales fueron colocados de manera equidistante en cada placa petri y en el centro colocamos a nuestro control positivo (clorhexidina al 0.12%). La lectura se realizó a las 24 horas obteniendo los resultados positivos esperados. Se observaron halos de inhibición alrededor los pozos que contenían los extractos hidroalcohólicos y la clorhexidina.

Como resultado de este tercer piloto se decidió proceder con la ejecución de la investigación, con un tamaño de muestra ya establecido y con un protocolo a seguir con datos ya estandarizados, como la cantidad de mililitros de agar que debía contener cada placa y la cantidad de microlitros que debe contener cada pozo hecho por el sacabocado en el cultivo de *S.M.*

3.6.2 Procedimiento de la obtención del extracto de *Solanum tuberosum*

“Tocosh”.

La muestra proporcionada al Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia vegetal fue obtenida del Mercado Real Plaza APROMEC Vitarte, la cual fue almacenada en un recipiente plástico con un peso de muestra de 2 kilogramos.

La muestra fue trabajada directamente sin secar ya que es un producto fermentado. Se preparó una solución hidroalcohólica de grado 60 a partir de alcohol etílico de grado 96 y agua biodestillada.

La muestra fue colocada en 2 recipientes de vidrio de 20 litros de capacidad (balón de vidrio de base plana); manteniendo la proporción 1:10 de muestra/volumen de solución hidroalcohólica (1kg de muestra en 10 litros de solución), en un lapso de tiempo de 8-10 días. Diariamente se procedió a hacer movimientos de homogenización.

Al décimo día se procedió a filtrar. El filtrado fue recibido en beakers de capacidad de 5 litros, los que se colocaron a baño maría a temperatura de 40°C hasta la evaporación del solvente.

El extracto fue obtenido por raspado del beaker, pesado, transvasado y rotulado en un recipiente de vidrio, almacenado a 8°C hasta su entrega. (Anexo 3)

3.6.3 Procedimiento microbiológico

Obtención de la cepa. Las cepas utilizadas en el ensayo de la actividad antimicrobiana corresponden a las American Type Culture Collection (ATCC), la cual es de referencia internacional: *Streptococcus mutans*, con el código ATCC® 25175 TM Lot 266-26-4/ 2020-02-290266 P del Laboratorio Gen Lab del Perú S.A.C. (Anexo 5)

El Cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal. Antes de realizar el cultivo de la cepa, esta fue reactivada debido a que se encontraba a -80°C, para lo cual, se sometió a un paso de reactivación que fue 48 horas antes del experimento y para luego permanecer conservadas a 37°C.

Se prepararon un total de 20 placas de medio Brain Heart Infusion (BHI) con 15ml de medio en cada una de ellas. Posteriormente se realizó el sembrado selectivo mediante la técnica del hisopado sobre el medio de cultivo Agar BHI.

Para la preparación de los orificios donde se depositó el extracto de Tocosh (ET) y la clorhexidina, se utilizó un sacabocados de 6mm de diámetro. En cada placa cultivada se realizaron 5 pozos distribuidos de una manera equidistante, estos contenían 35µl de ET

al 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente y como prueba de control se utilizó 35µl de clorhexidina al 0.12% que fueron colocados inmediatamente para el enfrentamiento bacteriano en los medios de cultivo. Luego de eso se dejaron las 20 placas en la incubadora a 37° y a las 24 hrs se procedió a realizar la lectura.

El análisis de la actividad antimicrobiana fue determinado por la formación del halo inhibitorio alrededor de los orificios. La medición fue realizada con una regla vernier, la cual nos determinó la cantidad en milímetros del diámetro del halo de inhibición.

3.7 Análisis de datos

Se elaboraron tablas de resumen descriptivo (media, desviación estándar, mediana, máximo, mínimo) para describir el halo inhibitorio por grupo de estudio. Se construyeron las graficas de barras con sus respectivas barras de error para definir los intervalos.

Para la prueba de hipótesis de diferencia de medias, se utilizó la prueba Anova de un factor con distribución F a través del análisis de varianza para comparar el halo inhibitorio entre los grupos de estudio con un nivel de significancia de 0.05 y 80% de potencia de prueba

Se utilizó el programa Stata V15.0 para el análisis estadístico de los datos.

3.8 Consideraciones éticas

Se solicitó aprobación previa para la ejecución del proyecto de investigación por parte de la Oficina de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Federico Villarreal, así mismo se solicitó el permiso para el uso de los laboratorios de Microbiología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la misma. Todos los derechos y

constancias de la ejecución y utilización de la investigación fueron correctamente autorizados y anexados a la investigación. (Anexo 1 y 2)

Se desliga todo conflicto de intereses de las marcas y/o empresas comerciales que generan la clorhexidina, puesto que, los gastos fueron autofinanciados.

IV. Resultados

Se observó que el promedio del halo inhibitorio se incrementa, a medida que la concentración del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” aumenta, encontrando así que el extracto al 100% muestra el halo inhibitorio más grande con un promedio de $33.15\text{mm}\pm 2.21\text{mm}$ frente al *Streptococcus mutans* Cepa ATCC 25175, mientras que el menor fue el extracto al 25% con un halo inhibitorio promedio de $20.20\text{mm}\pm 1.88\text{mm}$. (Ver Tabla 1 y Fig. 1)

Al evaluar el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans*, se encontró que este formaba un halo inhibitorio promedio de 26 mm con una desviación estándar de 2.57. (Ver Tabla 2 y Fig. 2)

Al comparar el promedio del halo inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% y extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans* Cepa ATCC 25175, se observó mayor halo de inhibición en el grupo del extracto hidroalcohólico al 100% con un promedio de $33.15\text{ mm}\pm 2.20\text{mm}$; la clorhexidina al 0.12% formó un halo inhibitorio promedio de $26.00\text{mm}\pm 2.575\text{mm}$ y el diámetro más bajo se obtuvo con el extracto hidroalcohólico al 25% con $20.20\text{mm}\pm 1.88\text{mm}$, siendo estas diferencias altamente significativas ($p < 0.001$). (Ver Tabla 3 y Fig. 3)

Al realizar las comparaciones por pares de grupos, se halló diferencias significativas entre todos ($P < 0.001$), excepto entre la clorhexidina al 12% y extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 50% ($p > 0.05$). (Ver Tabla 4 y Fig. 4)

Tabla 1

Valores descriptivos del halo inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

Extracto	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
AI 25%	20	20.20	1.88	20	17	24
AI 50%	20	26.60	2.09	27	23	30
AI 75%	20	29.75	1.33	30	28	32
AI 100%	20	33.15	2.21	34	30	36

D.S.: Desviación estándar

Interpretación: Se observa que el promedio del halo inhibitorio se incrementa, a medida que la concentración del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” aumenta, encontrando así que el extracto al 100% muestra el halo inhibitorio más grande con un promedio de 33.15mm±2.21mm frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

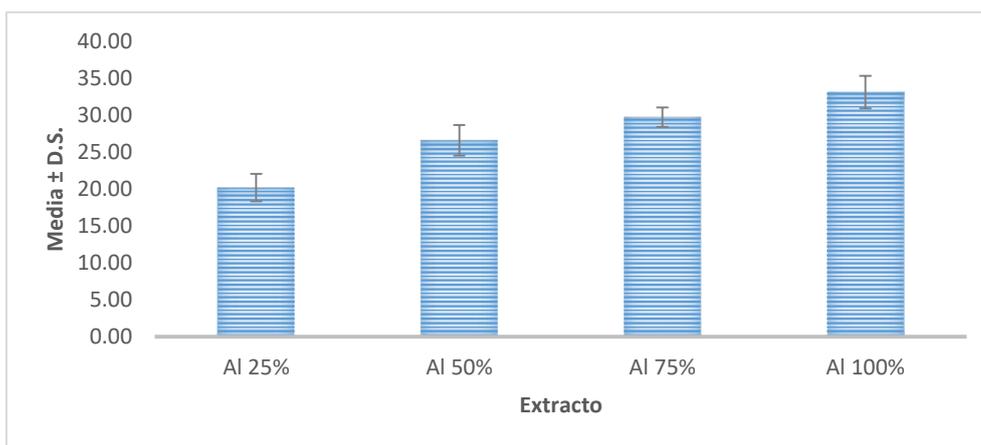


Figura 1. Distribución de los valores del halo inhibitorio usando extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” frente al *Streptococcus mutans*.

Tabla 2.

Halo inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% frente al Streptococcus mutans Cepa ATCC 25175

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Clorhexidina	20	26.00	2.575	25.5	21	30

D.S.: Desviación estándar

Interpretación: Al evaluar el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans*, se encontró que este formaba un halo inhibitorio promedio de 26 mm con una desviación estándar de 2.57.

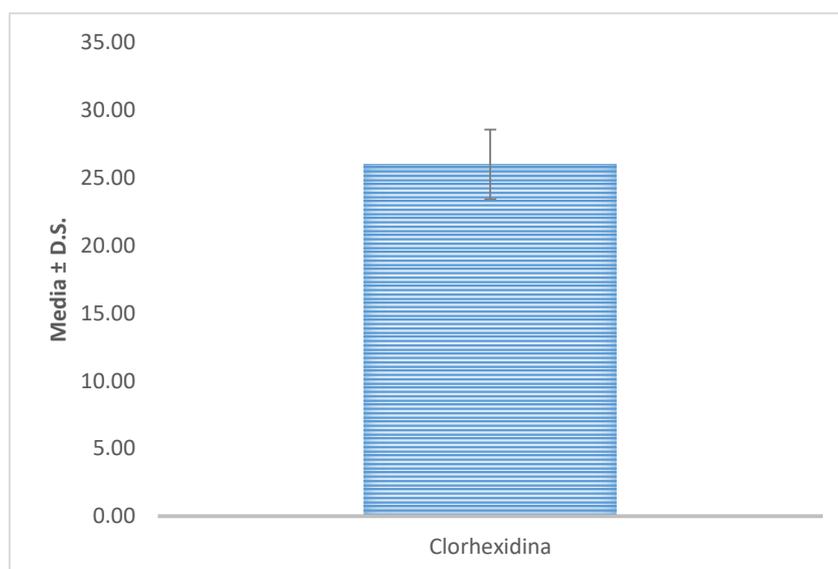


Figura 2. Distribución de los valores del halo inhibitorio usando clorhexidina al 0.12% frente al Streptococcus mutans.

Tabla 3.

Comparación del halo inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Solanum tuberosum “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12% frente al Streptococcus mutans cepa ATCC 25175

Grupo	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo	F ^a	p-valor
Clorhexidina	20	26.00	2.575	25.5	21	30		
Al 25%	20	20.20	1.881	20	17	24		
Al 50%	20	26.60	2.088	27	23	30	109.44	0.000*
Al 75%	20	29.75	1.333	30	28	32		
Al 100%	20	33.15	2.207	34	30	36		

^aValor de prueba Anova de un factor; * Altamente Significativo $p < 0.001$

Interpretación: Al comparar el promedio del halo inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% y extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans* Cepa ATCC 25175, se observó mayor halo de inhibición en el grupo del extracto hidroalcohólico al 100% con un promedio de 33.15 mm±2.20mm; el diámetro más bajo se obtuvo con el extracto hidroalcohólico al 25% con 20.20mm±1.88mm, siendo estas diferencias altamente significativas ($p < 0.001$).

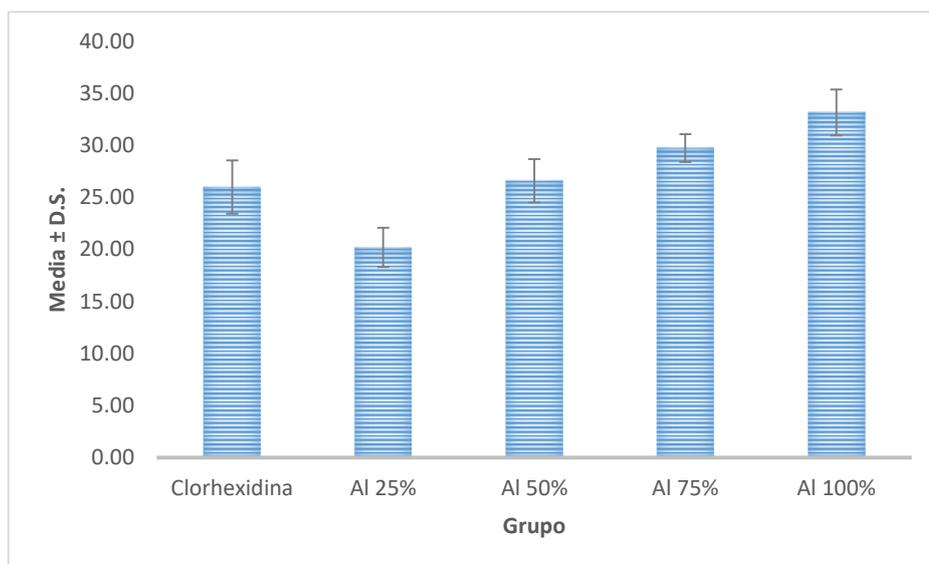


Figura 3. Comparación de los valores del halo inhibitorio usando clorhexidina al 0.12% y extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 25%, 50%, 75% y 100% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

Tabla 4.

Comparación post estimación entre los grupos de estudio mediante la prueba de Bonferroni.

Grupos	N°	Dif Media	P ^a
Clorhexidina y extracto al 100%	20	7.15	0.000*
Clorhexidina y extracto al 75%	20	3.75	0.000*
Clorhexidina y extracto al 50%	20	0.60	1.000
Clorhexidina y extracto al 25%	20	-5.80	0.000*
Extracto al 100 y 75%	20	-3.40	0.000*
Extracto al 100 y 50%	20	-6.55	0.000*
Extracto al 100 y 25%	20	-12.95	0.000*
Extracto al 75 y 50%	20	-3.15	0.000*
Extracto al 75 y 25%	20	-9.55	0.000*
Extracto al 50 y 25%	20	-6.40	0.000*

^aBasado en el test post hoc de Bonferroni; * Altamente Significativo $p < 0.001$

Interpretación: Se plantea la hipótesis nula que no existe diferencia de medias del halo inhibitorio entre grupos de estudio. Al realizar las comparaciones por pares de grupos, se halló diferencias significativas entre todos ($P < 0.001$), excepto entre la clorhexidina al 12% y extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” al 50% ($p > 0.05$).

V. Discusión de resultados

Actualmente, se están investigando nuevas alternativas de productos naturales para solucionar problemas médicos y odontológicos. Una nueva alternativa terapéutica en nuestro país es el uso de la especie *Solanum tuberosum* “Tocosh”, producto oriundo y de uso tradicional en las zonas andinas del Perú. Múltiples estudios demuestran sus importantes propiedades medicinales, sin embargo aún no se había podido demostrar su efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans*, bacteria que cumple un importante papel en la patogénesis de la caries dental.

En el Perú la caries dental es una de las enfermedades de mayor prevalencia y está asociada a diferentes factores etiológicos, uno de ellos es la deficiente salud bucal durante los primeros años de vida de las personas, ya sea producto de la limitada accesibilidad a los servicios de salud, así como a las inadecuadas prácticas en prevención de enfermedades bucales.

La geografía de nuestro país hace que las condiciones de prestación de servicio en el sector salud sea de manera variable de acuerdo a la región en la que se encuentre, una de las zonas que se ve desfavorecida por este problema es la altoandina, por lo que es necesario explotar sus propios recursos con fines terapéuticos.

Si bien es cierto, aún no hay investigaciones que señalen que el uso de *Solanum tuberosum* “Tocosh” tenga alguna repercusión positiva en el control de bacterias de la cavidad bucal.

Los investigadores que trabajaron con este recurso, evaluaron su efecto antibacteriano sobre diferentes microorganismos que habitan en el ser humano, tales como el *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas* y *Klebsiella pneumoniae*.

López (2017) realizó una investigación para evaluar si existe un efecto inhibitorio de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (SA), comparándolo con vancomicina y oxacilina. En este estudio experimental *in vitro* se utilizó un extracto acuoso a diferentes concentraciones y se determinó que este elemento si posee efecto inhibitorio sobre cepas de SA, la cual es una bacteria habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos. Los resultados de esta investigación coinciden con la nuestra, ya que también se demostró que el *Solanum tuberosum* “Tocosh” posee un efecto inhibitorio en el crecimiento de las cepas bacterianas, a pesar que se trabajó con una cepa diferente y con otra modalidad de preparación del extracto.

Arratea y Mamani (2017) realizaron un estudio experimental con la finalidad de determinar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (SA) de manera *in vitro*. Se encontró que frente a la cepa de SA el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* tiene actividad antibacteriana denominada sensible según CLSI y sumamente sensible para Duraffourd, pero cuyos valores no llegan a ser mayores que el de la cefalexina (grupo de control positivo). Estos resultados coinciden con los nuestros ya que en nuestra investigación se demostró también que extracto de *Solanum tuberosum* tiene efecto antibacteriano.

Pesantes (2015) realizó un estudio experimental *in vitro* en Perú, que tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) sobre cepas de *Escherichia coli* (EC) comparándolo con ceftriaxona y gentamicina. Esta bacteria habita principalmente en el tracto gastrointestinal y a diferencia del *Streptococcus mutans*, esta es una bacteria gram negativa. Se concluyó que si existe acción antibacteriana de *Solanum tuberosum* frente a cepas de EC, este efecto es moderadamente sensible frente a la ceftriaxona y mayor al obtenido con la gentamicina,

lo cual hace evidente que si resulto actuar de mejor manera que uno de los medicamentos más usados en el medio para su control bacteriano.

Amanpour, Abbasi, Neyris y Asadi (2015) realizaron un estudio experimental *in vitro* en Irán, con el objetivo de investigar los efectos antibacterianos del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* sobre *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* y *Klebsiella pneumoniae*. Se concluyó que el extracto etanólico de la cáscara de *Solanum tuberosum* posee propiedades antibacterianas, además de determinar que poseen compuestos fenólicos (flavonas y antocianinas) los cuales son conocidos por sus acciones antibacterianas, antivirales y antifúngicas, siendo mayores en bacterias Gram positivas (*S. aureus*) y sin tener efecto frente a *K. neumoniae*. Los resultados de esta investigación coinciden con la nuestra, ya que demuestra la existencia de actividad antibacteriana con mayor fuerza sobre Gram positivos, como queda demostrado en la investigación de Amanpour *et al.*, a pesar de haberse trabajado sólo con la cáscara del *Solanum tuberosum*, mientras que en la nuestra usamos también la pulpa.

VI. Conclusiones

La presente investigación determinó que sí existe un efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” a distintas concentraciones sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Los resultados demuestran que el promedio del halo inhibitorio se incrementa, a medida que la concentración del extracto hidroalcohólico aumenta, encontrando así que el extracto al 100% muestra el halo inhibitorio más grande y el menor fue el extracto al 25% frente al *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175.

El efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans*, quedó evidenciado en el halo inhibitorio que formó.

Los extractos hidroalcohólicos al 75% y 100% tuvieron una mayor actividad antibacteriana que la clorhexidina, evidenciada en el tamaño del halo inhibitorio formado por cada uno de estos.

El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 50% de *Solanum tuberosum* “Tocosh” no tuvo diferencias significativas con la clorhexidina. Mientras que el extracto al 25% formó un halo inhibitorio menor que el de nuestro grupo control positivo.

VII. Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios “*in vivo*” para valorar la efectividad y la toxicidad que pueden proporcionar los componentes activos del *Solanum tuberosum* “Tocosh” a fin de comprobar si los resultados “*in vitro*” son similares.

Se sugiere evaluar la efectividad el extracto hidroalcohólico de *Solanum tuberosum* “Tocosh” frente a otras bacterias que habitan en la cavidad bucal.

Se recomienda realizar estudios similares utilizando otros tipos de extractos, como el etanólico, para evaluar si hay resultados similares.

Buscar el sinergismo con otras sustancias naturales que puedan potencializar el efecto antibacteriano de nuestro extracto.

Realizar investigaciones en las que se use este extracto como principio activo para la elaboración de sustancias antisépticas de la cavidad bucal.

VIII. Referencias

- Amanpour, R., Abbasi, S., Neyriz, M. y Asadi, M. (2015). Antibacterial effects of *Solanum tuberosum* peel ethanol extract in vitro. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 4(2), 45-48. Recuperado de <http://eprints.skums.ac.ir/id/eprint/4749>
- Arratea, B. y Mamani, Y. (2017). *Actividad antibacteriana del extracto acuoso Solanum tuberosum (papa fermentada) y aceite esencial Thymus vulgaris (tomillo), frente a cepa Staphylococcus aureus, Estudio in vitro* (Tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilazo de la Vega, Lima, Perú.
- Azevedo, R. (1985). Detection of streptococcus mutans strains producers of bacteriocin like substances (mutacin). *Rev Fac Odontol Ribeirao Preto*, 22(2), 69-74. doi: 10.1016/0003-9969(75)90131-4
- Barry, A., Amsterdam, D., Coyle, M., Gerlach, E. y Thornsberry, C. (1979). Simple Inoculum Standardizing System for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(6), 910-917. Recuperado de <https://jcm.asm.org/content/jcm/10/6/910.full.pdf>
- Bascones, A. y Morantes, S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 18(1), 31-59. Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852006000100004
- Cañigüeral, S., Dellacassa, E. y Baldoni, A. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Acta Farm. Bonaerense*, 22(3), 265-278. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Salvador_Canigueral/publication/

- Cañigüeral, S., Vila, R. y Wichtl, M. (1998). *Plantas Medicinales y drogas vegetales*.
Milan, España: Editorial OEMF.
- Cárdenas, G. (2009, diciembre). La papa como ventaja competitiva. *Revista del Instituto de Investigaciones económicas Pensamiento Crítico*. Recuperado de
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/econo/article/view/9346>
- Case, D. (1977). Safety of Hibitane . Laboratory experiments. *Journal of Clinical Periodontology*, 4(5), 66-72. doi: 10.1111/j.1600-051X.1977.tb00052.x
- Duque, J., Hidalgo, I. y Pérez, J. (2006). Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Revista Cubana de Estomatología*, 43(1), 01-12.
Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007
- Edlund, A., Tasha, M., Boehm, T. y Pride, D. (2015). Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *Journal Oral of Microbiology*, 7(1), 01-12. doi: 10.3402/jom.v7.27423.
- El Tocosh (3 de febrero de 2014). *Diario Perú primero*. Recuperado de:
<http://diarioperuprimerohuacho.blogspot.pe/2014/02/salud.html>.
- Fonseca, C., Huarachi, E., Chura, W. y Cotrado, G. (2008, enero). Guía de las Buenas Prácticas de Procesamiento para la producción artesanal de tunta. *Dirección de Promoción Agraria Puno*. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/jorgealonso24/gua-de-las-buenas-prcticas-de-procesamiento-para-la-produccion-artesanal-de-la-tunta>
- Fordal, O. y Turnbull, R. (1986). A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *The Journal of the American Dental Association*, 112(6), 863-869. doi: 10.14219/jada.archive.1986.0118

- Gamboa, F., Herazo, B. y Martínez, M. (2004). Control microbiológico sobre *Streptococcus mutans* y situación acidogénica. *Revista de la facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana*, 9(1), 45-55. Recuperado de <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/5034/3884>
- García, C. (2006). *Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de Staphylococcus aureus con resistencia múltiple* (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.
- Herazo, B. (1993). *Clínica del sano en odontología, segunda edición*. Bogotá, Colombia: ECOE Ediciones.
- Iwu, M., Duncan, A. y Okunji, C. (1999). New antimicrobials of plant origin. *Perspectives on new crops and new uses*, 4(1), 457-462. Recuperado de <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1999/pdf/v4-457.pdf>
- Lechuga, H. y Ramírez, H. (2013). Estudio para la instalación de una planta productora de mazamorra de tocosh con maca, quinua y leche. *Rev. Ingeniería Industrial*, 31(1), 115-140. Recuperado de <http://repositorio.ulima.edu.pe/handle/ulima/2710>
- Lipman, M. (Ed.).(1993). *Martindale: The Pharmaceutical Press* (30th ed). Aberdeen, Escocia: J. E. F. Reynolds.
- Lopez, Y. (2017). *Efecto inhibitorio in vitro de Solanum tuberosum (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de Staphylococcus aureus* (Tesis de pregrado). Universidad privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú.
- Manrique, K. y Fonseca, C. (2017). Chuño blanco, tunta o moraya: un proceso natural de conservación. *Leisa Revista de Agroecología*, 20(3), 23-31. Recuperado de <http://leisa-al.org/web/index.php/volumen-20-numero-3/2094-chuno-blanco-tunta-o-moraya-un-proceso-natural-de-conservacion>.

- Mayta, F. y Sacsquispe, S. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Revista de Estomatología Herediana*, 20(1), 19-24.
- Medina, R., Moreno, L., Velasco, M. y Gutierrez S. (2005). Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 “in vitro”. *Grupo de Desarrollo Académico en Microbiología Oral*, 3(3), 25-30. doi: 10.22490/24629448.15
- Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. (1996). *Composición de Solanum Tuberosum. Perú*. Recuperado de www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf
- Ojeda, J., Oviedo, E. y Salas, L. (2013). *Streptococcus mutans* y caries dental. *Revista CES Odontología*, 26(1), 44-56. Recuperado de <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/viewFile/2684/1859>
- Organización Mundial de la Salud de Ginebra (2002). *Estrategias de la OMS sobre medicina Tradicional*. Recuperado de <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2299s/s2299s.pdf>.
- Pereira, H. (2009, enero). Fitoterapia na Odontologia. *Revista Brasileira de Odontologia*. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Maria_Fulgencia/publication/260768406_Phytotherapics_in_Odontology_ethnobotanical_study_in_Manauas
- Pesantes P. (2015). *Efecto antibacteriano in vitro de Solanum tuberosum (papa fermentada) en cepas de Escherichia coli comparado con gentamicina y ceftriaxona*. (Tesis de pregrado). Universidad privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.

- Ponce, R., Sandoval, V., Callohuari, R. y Mundaca, L. (2016). Tratamiento regenerativo de la mucosa gástrica con la mazamorra de tocosh de papa, en animales de experimentación. *Revista Theorema*, 3(4), 91-97.
- Ramirez, L. y Marin, D. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Rev. Scientia et Technica*, 15(42), 263-268.
- Sandoval, M., Tenorio, J., Tinco, A., Loli, R. y Calderón S. (2015). Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* 'papa' en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *Rev. Anales de la Facultad de Medicina UNMSM*, 76(1), 15-20. doi: 10.15381/anales.v76i1.11070
- Schiött, C. (1970). The effect of chlorhexidine mouthrinse on human oral flora. *Journal Periodont Reserch*, 5(1), 84-89. doi: 10.1111/j.1600-0765.1970.tb00697.x
- Segura, B. (2014). *Cadena de valor de papas nativas (Solanum andigenum sp) en la provincia de Jauja, Perú* (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.
- Soto, M., Ruesta, J. y Merejildo, R. (2014). Capacidad antioxidante in vitro de cuatro variedades de tubérculos de *solanum tuberosum* L. "Papa" (cruda y cocida, con y sin cáscara) frente al 2, 2-Difenil-1-picrilhidrazil. *Revista Farmaciencia*, 6(2), 243-259. Recuperado de <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/651>
- Vilca, L. (2014). *Evaluación de la concentración de penicillium en el tocosh de papa (solanum tuberosum l) de la variedad yungay en diferentes tiempos de fermentación*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica, Perú.

Yankell, S., Moreno, O., Soffin, A., Lowary, R. y Gold, W. (1982). Effects of chlorhexidine and four antimicrobial compounds on plaque, gingivitis and staining in beagle dogs. *Journal of Dental Research*, 61(9), 1089-1093.

Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6763045>

IX. Anexos

Anexo 1: Permiso de ejecución de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal

 <p>Universidad Nacional Federico Villarreal FACULTAD DE ODONTOLOGÍA</p>
<p>"AÑO DEL DIÁLOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"</p> <hr/>
<p>OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS</p>
<p><u>CONSTANCIA</u></p>
<p>LA OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL</p>
<p>DEJA CONSTANCIA:</p>
<p><i>Que el presente, tema: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL Solanum Tuberosum "TOCOSH" Y CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE Streptococcus Mutans CEPA ATC 25175", del Plan de Tesis de la Egresada, ENCISO YLLA SILVANA DANA E se encuentra APROBADO, según (R.R. N°3518-2006-UNFV - Cap. IV. Art. 14) para su ejecución y dar término, para la obtención del Título Profesional de Cirujano Dentista, de acuerdo a las pautas y correcciones respectivas.</i></p>
<p><i>Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.</i></p>
<p>Pueblo Libre, 1° de junio de 2018</p>
<p>  Mg. CARMEN ROSA HUAMANI PARRA JEFA (e) OFICINA DE GRADOS y TÍTULOS</p>
<p>N° 028-2018 CRHP/LVB</p>

Anexo 2. Carta de presentación dirigida a la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la UNFV



Universidad Nacional
Federico Villarreal

"AÑO DEL DIÁLOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS

Pueblo Libre, 24 de setiembre de 2018

Dr.
FREDY VIRGILIO SALINAS MELÉNDEZ
DECANO - FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
Y MATEMÁTICA

Atención : Dra. GISELA YUPANQUI SICCHA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Presente .-

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle a la Bachiller **ENCISO YLLA, SILVANA DANAÉ**, quien se encuentra realizando su trabajo de tesis titulado:

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL *Solanum Tuberosum* "TOCOSH Y CHORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus Mutans* CEPA ATC 25175

En tal virtud, mucho agradeceré le brinde las facilidades del caso a la Srta. Enciso para la recopilación de datos, lo que le permitirá desarrollar su trabajo de investigación.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para renovarle los sentimientos de mi especial consideración.

Atentamente,



Mg. **MARTÍN GLICERIO AÑAÑOS GUEVARA**
DECANO



Se adjunta: Protocolo de Tesis

051-2018

CRHP/LVB

Calle San Marcos N° 351 - Pueblo Libre -
Correo electrónico: gradosytitulos@fo.unfv.edu.pe

Telef.: 7480888 - 8335

Anexo 3: Informe del procedimiento de preparación del Extracto hidroalcohólico de Solanum Tuberosum “Tocosh”



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LABORATORIO DE ANATOMÍA Y FARMACOGNOSIA VEGETAL

INFORME N° DI001-1218

PROCEDIMIENTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO

La muestra proporcionada denominada Tocosh, se presentó en un recipiente de plástico con un peso de muestra de 2 kilogramos.

El Tocosh, togosh o tocos se obtiene a partir de a la pulpa de papa fermentada.

La muestra fue trabajada directamente sin secar ya que es un producto fermentado. Se preparó una solución hidroalcohólica de grado 60 a partir de alcohol etílico de grado 96 y agua bidestilada.

La muestra fue colocada en 2 recipientes de vidrio de 20 litros de capacidad (balón de vidrio de base plana); manteniendo la proporción 1:10 de muestra/volumen de solución hidroalcohólica (1 kilo de muestra en 10 litros de solución), en un lapso de tiempo de 8-10 días, diariamente se procedió a realizar movimientos de homogenización.

Al décimo día se procedió a filtrar y el filtrado fue recibido en beakers de capacidad de 5 litros, los que se colocaron a baño maría a Temperatura de 40°C hasta evaporación del solvente u obtención de masa blanda.

El extracto fue obtenido por raspado del beaker, pesado, transvasados y rotulados en recipientes de vidrio y almacenados a temperatura de 8°C hasta su entrega.

El extracto preparado, cuyo proceso explicado, ha seguido el procedimiento señalado, corresponde a la muestra proporcionada por la solicitante, quien dio conformidad a su preparación.

Lima, 12 de diciembre de 2018


Mg. Domingo Iparraguirre León
C.B.P. 2219



Av. Venezuela cdra. 34 s/n, Ciudad Universitaria
Cercado de Lima, Lima-Perú

Teléfono: 6197000 anexo 1556

Anexo 4: Informe del procedimiento de preparación del Extracto acuoso de Solanum Tuberosum “Tocosh”



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LABORATORIO DE ANATOMÍA Y FARMACOGNOSIA VEGETAL

INFORME N° DI002-1218

PROCEDIMIENTO DEL EXTRACTO ACUOSO

La muestra proporcionada en un recipiente de plástico y denominada Tocosh presentó un peso aproximado de 1 kilogramo; previamente al procesamiento la muestra fue refrigerada por 48 horas y bañada en alcohol de 96 °C, luego se procedió a volatilizar el alcohol colocando la muestra a baño maría a 50°C/1 Hora.

La muestra pretratada según considerando señalado, se repartió en cuatro recipientes en cantidades que permitan obtener cuatro concentraciones, se le adiciona agua bidestilada en cantidad suficiente para sumergir la muestra y luego ser sometida a baño maría a 67°C ± 1°C durante 4 horas cada muestra, se deja enfriar y se procede a filtrar. Los filtrados fueron recibidos en materiales de vidrio y refrigerados hasta su entrega. La viabilidad de dicho filtrado a tiempos mayores de no empleo puede ser susceptible de deterioro o pérdida o transformación de lo obtenido. Se sugiere mantener en refrigeración y utilizar antes de dos semanas preferentemente. Los filtrados corresponden a la muestra proporcionada por la solicitante quien fue informada del procedimiento y dio su conformidad a la preparación.

Lima, 18 de diciembre de 2018

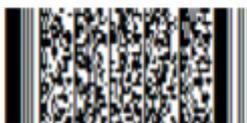
Mg. Domingo Parraguire Ledn
C.B.P. 2219



Av. Venezuela cdra. 34 s/n, Ciudad Universitaria
Cercado de Lima, Lima-Perú

Teléfono: 6197000 anexo 1556

Anexo 5: Recibo de compra de la Cepa de Streptococcus Mutans ATCC 25175

 <p>Page 1 of 1</p>	<p>Gen Lab del Perú S.A.C Jr. Capac Yupanqui N°. 2434 Lince - Lima - Perú Central Telefónica (51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501 Email : ventas@genlabperu.com Web Site : www.genlabperu.com</p>	<p>RUC N°:20501262260 FACTURA ELECTRONICA F001-001174</p>														
	<p>Fecha emisión : 27/08/2018 Orden Compra: Fecha Vcto : 27/08/2018 Guía de Remisión : Cliente: UNIVERSIDAD NAC. FEDERICO VILLARREAL N° Pedido : 020263 Dirección: CAL.CARLOS GONZALES NRO. 285 RES. SAN MIGUEL SAN MIGUEL - LIMA - LIMA - Peru RUC : 20170934289 Tipo Movimiento : ANTICIPOS Lugar de destino :</p>															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Código</th> <th>Descripción</th> <th>Cant</th> <th>U/M</th> <th>Precio Unit.</th> <th>Dscto</th> <th>Sub-Total</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>H05666-A</td> <td>KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™</td> <td>1</td> <td>UND</td> <td>278.18</td> <td>0.00</td> <td>278.18</td> </tr> </tbody> </table>			Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total	H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	278.18	0.00	278.18
Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total										
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	278.18	0.00	278.18										
<p>TRESCIENTOS VEINTIOCHO CON 25/100 SOLES</p>  <table border="1"> <tr> <td>Anticipo</td> <td></td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>Op. Gravada S/</td> <td></td> <td>278.18</td> </tr> <tr> <td>IGV 18%</td> <td></td> <td>50.07</td> </tr> <tr> <td>Importe Total S/</td> <td></td> <td>328.25</td> </tr> </table>			Anticipo		0.00	Op. Gravada S/		278.18	IGV 18%		50.07	Importe Total S/		328.25		
Anticipo		0.00														
Op. Gravada S/		278.18														
IGV 18%		50.07														
Importe Total S/		328.25														
<p>Representacion Impresa de la Factura Electrónica Consulte : http://cpe.genlabperu.com</p>																

Anexo 6: Ficha de recolección de datos elaborada por el investigador

PLACA PETRI	CLORHEX. AL 0.12%	EXTRACTO AL 100%	EXTRACTO AL 75%	EXTRACTO AL 50%	EXTRACTO AL 25%
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Anexo 7. Fotografías de la elaboración del extracto de Solanum Tuberosum “Tocosh”



Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal de la UNMSM



Extracto Hidroalcohólico de Solanum Tuberosum “Tocosh”



Extracto Acuoso de Solanum Tuberosum “Tocosh”

Anexo 8. Preparación del medio de cultivo Agar BHI



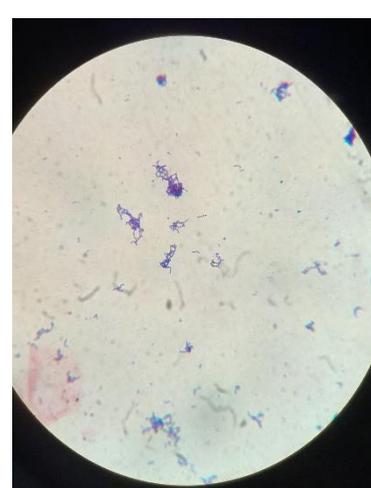
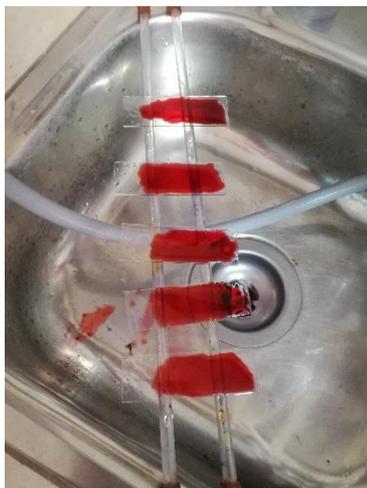
Distribución de caldo BHI en tubos para proceder con la activación de la Cepa ATCC 25175 de *Streptococcus Mutans*

Anexo 9. Activación de la Cepa de Streptococcus Mutans

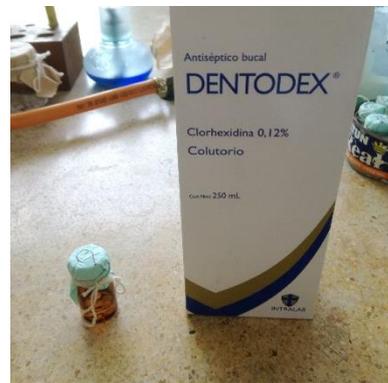


Se dejaron los dos tubos con caldo BHI en la incubadora. A las 48 hrs se observó en uno de los tubos evidencia de presencia de colonias de Streptococcus mutans

Anexo 10. Identificación de Streptococcus Mutans en Agar Mitis Salivarius, tinción Gram y luego vista microscópica.



Anexo 11. Prueba piloto N°1.



Resultado de la primera prueba piloto: Datos no concluyentes.
Se sospecha de una contaminación por la carga bacteriana del extracto acuoso.

Anexo 12. Prueba piloto N°2.



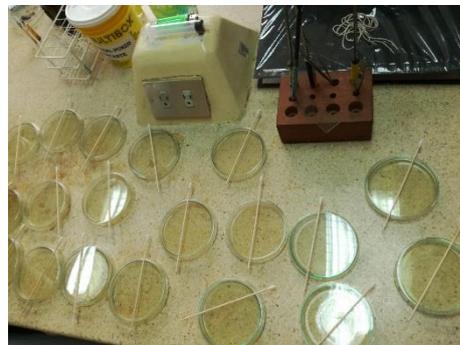
Aún se observan señales de contaminación, con la diferencia de que ahora hay ligeros halos de inhibición alrededor de los orificios hechos con sacabocados que contenían a la clorhexidina y al extracto hidroalcohólico.

Anexo 13. Prueba piloto N°3.



En el tercer piloto se obtuvieron los resultados positivos esperados. Se observaron halos de inhibición alrededor los orificios que contenían los extractos hidroalcohólicos y la clorhexidina.

Anexo 14. Ejecución del procedimiento microbiológico



Luego se procedió a hacer la lectura a las 24 horas, usando un vernier y registrando los datos en una ficha de recolección.

Anexo 15. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	JUSTIFICACIÓN	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICAD.	VALOR	ANÁLISIS ESTADIST.
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Solanum Tuberosum</i> "Tocosh" frente a <i>Streptococcus Mutans</i> Cepa ATC 25175?	<p>General:</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Solanum tuberosum</i> "Tocosh" al 25%, 50%, 75%, 100% y la clorhexidina al 0.12% frente al <i>Streptococcus mutans</i> cepa ATCC 25175.</p>	<p>Pretender conocer e investigar la actividad antibacteriana del extracto de <i>Solanum tuberosum</i> "Tocosh" y así aportar bases científicas para el uso de este como terapia alternativa en el control de las enfermedades bucales en las que participe el <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>H1: Dado que el extracto de <i>Solanum tuberosum</i> "Tocosh" tiene comprobada acción antibacteriana sobre los Gram positivos, es probable que posea un efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> cepa ATC 25175, comparado con la clorhexidina al 0.12%.</p>	V. INDEPENDIENTE			<p>Se elaborarán tablas de resumen descriptivo (media, desviación estándar, mediana, máximo, mínimo) para describir el halo inhibitorio por grupo de estudio. Se construirán las graficas de barras con sus respectivas barras de error para definir los intervalos.</p>
	<p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar <i>in vitro</i> el diámetro del halo inhibitorio del extracto de <i>Solanum tuberosum</i> "Tocosh" al 25%, 50%, 75% y 100% frente al <i>Streptococcus mutans</i> cepa ATCC 25175. - Evaluar <i>in vitro</i> el diámetro del halo inhibitorio de la clorhexidina al 0.12% frente al <i>Streptococcus mutans</i> cepa ATCC 25175. - Comparar el promedio del diámetro de halo de inhibición entre los grupos de estudio. 			<p>Concentración del extracto de <i>Solanum Tuberosum</i> "Tocosh"</p>	<p>25%</p> <p>50%</p> <p>75%</p> <p>100%</p>	<p>Expresado en mg/ml</p>	
				V. DEPENDIENTE			<p>Para la prueba de hipótesis de diferencia de medias, se utilizará la prueba Anova de un factor con distribución F a través del análisis de varianza para comparar el halo inhibitorio entre los grupos de estudio con un nivel de significancia de 0.05 y 80% de potencia de prueba. Se utilizará el programa Stata V15.0 para el análisis estadístico de los datos.</p>
				<p>Actividad antibacteriana</p>	<p>Tamaño del diámetro del halo de inhibición</p>	<p>Expresado en mm</p>	