



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE UVA (VITIS
VINIFERA) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175 - ESTUDIO IN
VITRO, LIMA 2024

Línea de investigación:
Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Anaya Caillahua, Yuky Naomi

Asesor

Mendoza Lupuche, Roman

ORCID: 0000-0003-2089-8965

Jurado

García Rupaya, Carmen Rosa

Vargas García, Dalila Liliana

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima - Perú

2025

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE UVA (VITIS VINIFERA) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175- ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal	4%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unfv.edu.pe	4%
	Fuente de Internet	
3	repositorio.uma.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
4	repositorio.uladech.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
5	hdl.handle.net	2%
	Fuente de Internet	
6	repositorio.unapiquitos.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
7	Nicole M Delimont, Brandi N Carlson. "Prevention of dental caries by grape seed extract supplementation: A systematic review", Nutrition and Health, 2019	<1%
	Publicación	
8	rraae.cedia.edu.ec	<1%
	Fuente de Internet	
9	laccei.org	<1%
	Fuente de Internet	
10	intra.uigv.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE UVA

(*VITIS VINIFERA*) SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175-

ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2024

Línea de Investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Anaya Caillahua, Yuky Naomi

Asesor

Mendoza Lupuche, Roman

(ORCID: 0000-0003-2089-8965)

Jurado

García Rupaya, Carmen Rosa

Vargas García, Dalila Liliana

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima - Perú

2025

DEDICATORIA

Esta tesis es el esfuerzo de todos los años invertidos en mi querida facultad, siempre con el apoyo de mis padres, familiares y amigos que estuvieron confiando en mi desde el día de mi postulación a mi alma mater, hasta el momento de hoy que realizo mi tesis para la obtención de mi grado de CD.

AGRADECIMIENTO

A mis padres por el gran apoyo que me brindaron desde siempre, a mis hermanos por estar continuamente motivándome en este proyecto y esta carrera.

Un sincero agradecimiento al Dr. Mendoza (mi asesor), por la paciencia, guía y la inspiración del profesionalismo durante toda mi tesis.

ÍNDICE

RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	3
1.2. Antecedentes.....	6
1.3. Objetivo.....	13
1.3.1. Objetivo general.....	13
1.3.2. Objetivos específicos.....	13
1.4. Justificación.....	14
1.5. Hipótesis.....	15
II. MARCO TEÓRICO	17
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigacion.....	17
2.1.1. <i>Cavidad oral</i>	17
2.1.2. <i>Placa dentobacteriana</i>	17
2.1.3. <i>Microbiota oral</i>	18
2.1.4. <i>Uva</i>	22
2.1.5. <i>Efecto antibacteriano</i>	25
III. MÉTODO.....	27
3.1. Tipo de Investigación	27
3.2. Ámbito temporal y espacial	27
3.3. Variables	27
3.3.1. <i>Variable dependiente</i>	27
3.3.2. <i>Variable independiente</i>	27
3.3.3. <i>Variable control</i>	27

3.3.4. Operacionalización de variables.....	28
3.4. Población y muestra	29
3.4.1. Población.....	29
3.4.2. Muestra.....	29
3.4.3. Criterios de inclusión.....	29
3.4.4. Criterios de exclusión	29
3.5. Instrumentos	30
3.6. Procedimientos	30
3.6.1. Obtención de la planta.....	30
3.6.2. Clasificación taxonómica.....	31
3.6.3. Elaboración del extracto.....	31
3.6.4. Fase pre analítica.....	32
3.6.5. Fase post analítica.....	33
3.7. Análisis de datos.....	36
3.8. Consideraciones éticas.....	36
IV. RESULTADOS.....	38
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
VI. CONCLUSIONES.....	47
VII. RECOMENDACIONES.....	49
VIII. REFERENCIAS.....	51
IX. ANEXOS.....	58
9.1. Anexo A.....	60
9.1.1. Instrumento de recolección de datos	60
9.2. Anexo B.....	61
9.2.1. Carta de presentación.....	61

9.3. Anexo C.....	62
9.3.1. <i>Constancia de muestra</i>	62
9.4. Anexo D.....	63
9.4.1. <i>Certificado del efecto antibacteriano</i>	63
9.5. Anexo E.....	66
9.5.1. <i>Certificado de calidad del Agar</i>	66
9.6. Anexo F.....	67
9.6.1. <i>Matriz de consistencia</i>	67

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla del sumario estadístico del efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (<i>vitís vinífera</i>) 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - estudio in vitro a las 24 horas.....	39
Tabla 2. Tabla del sumario estadístico del Efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (<i>vitís vinífera</i>) 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - estudio in vitro a las 48 horas.....	40
Tabla 3. Tabla del sumario estadístico del Efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (<i>vitís vinífera</i>) 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - estudio in vitro a las 72 horas.....	41
Tabla 4. Comparación del diámetro de halo de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 24 horas.....	41
Tabla 5. Comparación del diámetro de halo de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 48 horas.....	41
Tabla 6. Comparación del diámetro de halo de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 72 horas.....	42

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de los halos de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 24 horas.....	39
Figura 2. Distribución de los halos de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 48 horas.....	40
Figura 3. Distribución de los halos de inhibición para <i>Streptococcus mutans</i> generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 72 horas.....	41

RESUMEN

Objetivo: Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Vitis vinifera* (Uva) en concentración de 75 y 100% ante *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la clorhexidina al 0.12%. **Método:** Se obtuvo extracto hidroetanolico, deshidratando, triturando y macerando las semillas de uva con etanol al 96° y de agua purificada. Para evaluarlo microbiológicamente, se utilizó la técnica de pocillos, Se aplicó el extracto extraído en placas de Petri que fueron preparados con cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La incubación se realizó a 37 °C por 24, 48 y 72 horas. **Resultados:** El efecto a las 24 h presento pudimos observar formación de halos de inhibición para el extracto al 100% de $14.5 \text{ mm} \pm 1.6 \text{ mm}$, al 75% un promedio de $12.5 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$, mientras que en el grupo control positivo (clorhexidina), se observó $13 \text{ mm} \pm 1.6 \text{ mm}$ de inhibición. A las 48 horas el efecto fue similar, observándose valores promedios para el extracto al 100% de $13.2 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$, para el de 75% fue de $11.6 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$ y control $12.2 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$. Con respecto, a las 72 horas, el efecto fue levemente menor con valores para el extracto al 100% de $12.5 \text{ mm} \pm 1.7$, para el de 75% fue $10.5 \text{ mm} \pm 1.9$ y para el grupo control de clorhexidina fue $11.7 \text{ mm} \pm 1.3 \text{ mm}$. **Conclusiones:** A las 24 horas, se obtuvo el mejor resultado con la concentración al 100%. Con los resultados evidenciamos la capacidad antibacteriana de manera científica que nos proporciona el extracto de semilla de uva.

Palabras clave: semilla de uva, *Streptococcus mutans*, antibacteriano

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial effect of *Vitis vinifera* (Grape) extract at 75 and 100% on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 and chlorhexidine at 0.12%. **Method:** We obtained the hydroethanolic extract by dehydrating, crushing and allowing the grape seeds to macerate with 500 ml of 96° ethanol and 500 ml of purified water. The concentrations were 75% and 100%. For the microbiological analysis, the well technique was used. It was carried out by applying the extract in Petri dishes containing cultures of the strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The incubation was carried out at 37 °C for 24, 48 and 72 hours. **Results:** The effect at 24 h presented inhibition halos for the 100% extract of 14.5 mm±1.6 mm, at 75% an average of 12.5 mm±1.4 mm, while in the positive control group (chlorhexidine), it was observed 13 mm±1.6 mm inhibition. At 48 hours the effect was similar, with average values observed for the 100% extract of 13.2mm±1.4 mm, for the 75% extract it was 11.6mm±1.4mm and control 12.2mm±1.4mm. With respect, at 72 hours, the effect was slightly lower with values for the 100% extract of 12.5mm±1.7, for the 75% extract it was 10.5mm±1.9 and for the chlorhexidine control group it was 11.7mm±1.3mm. **Conclusions:** after 24 hours, the 100% concentration obtained better results and average values. These findings provide scientific evidence to observe the antibacterial ability of grape seed extract.

Keywords: grape seed, *Streptococcus mutans*, antibacterial

I. INTRODUCCIÓN

Las investigaciones sobre las propiedades antimicrobianas de las plantas y sus extractos han ganado un interés significativo con respecto a la odontología y el bienestar oral debido a la creciente preocupación sobre la resistencia antimicrobiana y la búsqueda de alternativas naturales a los agentes antimicrobianos tradicionales. En este contexto, el extracto de la semilla de *Vitis vinifera* (Uva) ha surgido como un compuesto potencialmente beneficioso gracias a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. El microorganismo *Streptococcus mutans*, en particular, ha sido objeto de atención debido a su papel en la formación de caries dental y su resistencia a ciertos tratamientos convencionales. (Caicedo et al., 2018)

El presente estudio se enfoca en investigar el efecto antibacteriano del extracto de semilla de *Vitis vinifera* (Uva) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en un entorno in vitro. *Streptococcus mutans* es conocido por su capacidad de producir ácido láctico y su implicación en la desmineralización del esmalte dental, lo que lo convierte en un objetivo clave en la prevención de caries dental. La evaluación del potencial antimicrobiano de los extractos naturales, como el de la semilla de uva, es crucial con el propósito de identificar terapias alternativas y complementarias al control de las infecciones orales. (Hoffman et al., 2018)

La investigación sobre las propiedades antimicrobianas de extractos derivados de plantas medicinales se ha observado un incremento significativo y una expansión considerable durante los periodos temporales, impulsada por la necesidad de desarrollar alternativas terapéuticas frente a la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales. En este contexto, el presente estudio se posiciona como una contribución significativa al corpus científico en el ámbito de la odontología, con un enfoque específico en la inhibición de microorganismos patógenos que colonizan el entorno bucal. Se postula que los resultados obtenidos no solo consolidarán el conocimiento existente, sino que también proporcionarán evidencia empírica crucial para el diseño de intervenciones innovadoras destinadas a mitigar

la proliferación de agentes infecciosos, particularmente *Streptococcus mutans*, un actor principal en el origen de la caries dental.

La caries dental, una de las patologías crónicas que se registran con mayor porcentaje a nivel global, está intrínsecamente ligada a la formación de biopelículas bacterianas o placa dental, en las cuales *S. mutans* desempeña un rol preponderante al metabolizar carbohidratos y producir ácidos que desmineralizan el esmalte dental. Estudios previos han demostrado que ciertos compuestos bioactivos presentes en extractos vegetales, como los polifenoles, alcaloides y terpenoides, exhiben una notable capacidad para interferir en los mecanismos de adhesión bacteriana, la síntesis de glucanos extracelulares y la viabilidad celular de patógenos orales. Por ejemplo, los taninos, ampliamente distribuidos en especies vegetales como *Camellia sinensis* (té verde) y *Punica granatum* (granada), han mostrado efectos inhibitorios específicos contra *S. mutans* al alterar su capacidad de formar biopelículas, según investigaciones publicadas en revistas como *Journal of Ethnopharmacology* y *Frontiers in Microbiology*.

Este trabajo, por lo tanto, no solo busca validar la eficacia de extractos vegetales seleccionados frente a microorganismos patógenos orales, sino también dilucidar los mecanismos moleculares subyacentes a su actividad antimicrobiana. Se espera que los hallazgos derivados de esta investigación amplíen las perspectivas para el desarrollo de terapias preventivas y curativas, tales como enjuagues bucales, geles dentales o recubrimientos antimicrobianos basados en compuestos naturales, que ofrezcan una alternativa sostenible y biocompatible a los agentes químicos tradicionales. Además, al reducir la dependencia de antimicrobianos sintéticos, estas estrategias podrían contribuir a mitigar el impacto de la resistencia bacteriana, un desafío crítico para la salud pública global.

Esta investigación empleará métodos estandarizados de análisis in vitro, como la difusión en disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), para

evaluar la eficacia antimicrobiana de extractos vegetales contra patógenos orales, con énfasis en *Streptococcus mutans*. Estas técnicas, avaladas por normas internacionales como las del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), asegurarán resultados precisos y reproducibles. Los datos obtenidos podrían impulsar el desarrollo de terapias naturales, como colutorios o pastas dentales, transformando la atención odontológica al ofrecer alternativas sostenibles y efectivas para combatir enfermedades bucales como la caries. Además, este enfoque podría reducir la dependencia de antimicrobianos sintéticos, contribuyendo a enfrentar la resistencia bacteriana y mejorando la salud oral a nivel global.

El siguiente trabajo iremos desarrollando de la siguiente manera; abarcaremos el problema, para así guiarnos de suficientes antecedentes de estudios, como objetivo tendremos el evaluar el efecto antibacteriano, especificando nuestras justificaciones e hipótesis respectiva.

En la segunda parte podremos observar todas las bases teóricas, siguiendo como tercera parte, con el método, donde se registrará todo el procedimiento de nuestra tesis, por último, obtendremos resultados que procederemos a procesar y generar una discusión y recomendaciones.

Para llevar a cabo la siguiente investigación hemos utilizado artículos confiables y actualizados para poder llegar a un resultado también confiable.

1.1. Descripción y formulación del problema

La caries dental se erige como una de las patologías orales de mayor incidencia a escala global, constituyendo un reto persistente para la odontología contemporánea en términos de prevención y manejo efectivo. Este trastorno, de naturaleza multifactorial, surge de la interacción compleja entre factores dietéticos, el hospedero y la microbiota oral, donde *Streptococcus mutans* emerge como un agente etiológico predominante. Este microorganismo, mediante su capacidad para fermentar carbohidratos y generar ácidos que desmineralizan el

esmalte dental, desempeña un papel central en la progresión de la caries, consolidando su relevancia como blanco terapéutico esencial en las estrategias de control de esta enfermedad.

Este microorganismo tiene la capacidad de producir ácido láctico, que contribuye a la desmineralización del esmalte dental y, en última instancia, al desarrollo de caries. A pesar de los progresos significativos en el cuidado de la salud oral, el incremento de la resistencia antimicrobiana y las crecientes inquietudes acerca de los efectos adversos asociados a los agentes antimicrobianos convencionales han catalizado una búsqueda rigurosa de soluciones basadas en compuestos naturales. Esta tendencia responde a la necesidad imperiosa de desarrollar estrategias terapéuticas eficaces y biocompatibles que contrarresten las limitaciones de los tratamientos tradicionales, posicionando a las alternativas de origen vegetal como un campo prometedor en la odontología moderna.

Esta tendencia responde a la necesidad imperiosa de desarrollar estrategias terapéuticas eficaces y biocompatibles que contrarresten las limitaciones de los tratamientos tradicionales, posicionando a las alternativas de origen vegetal como un campo prometedor en la odontología moderna

El *Streptococcus mutans* se encuentra en alta proporción en la biopelícula oral y la caries dental tiene completa relación con este biofilm cariogénico. (Lee y Kim, 2014). La biopelícula oral se configura como una comunidad microbiana altamente estructurada y funcionalmente coordinada, caracterizada por una disposición tridimensional que refleja una interacción dinámica entre sus componentes. En condiciones fisiológicas, esta matriz mantiene un equilibrio homeostático entre la flora microbiana normal y las bacterias patógenas, regulando la convivencia de especies simbióticas y oportunistas mediante complejos mecanismos ecológicos y bioquímicos, podemos descomponer este equilibrio por situaciones como cambios ambientales, tales como disminución del pH, absorción de sacarosa lo cual produciría un aumento de bacterias cariogénicas. (Marsh, 1994; Marsh, 1991).

El extracto derivado de semilla de *Vitis vinifera* (Uva), destaca por ser un potencial preventivo de caries, con propiedades antioxidantes en particular, su rico contenido en proantocianidinas. (Jayaprakasha et al., 2003)

Las proantocianidinas, clasificadas como flavonoides taninos de origen natural, constituyen un grupo de compuestos polifenólicos de excepcional relevancia biológica, presentes de manera ubicua en una diversidad de matrices vegetales, incluyendo frutas, verduras, nueces, semillas, flores y cortezas arbóreas. Estas moléculas, caracterizadas por su estructura oligomérica y capacidad antioxidante, desempeñan un papel crucial en las interacciones planta-ambiente y han emergido como agentes bioactivos con potencial terapéutico significativo, particularmente en la modulación de procesos patológicos mediados por microorganismos (Ky et al., 2016; Nakamura et al., 2003; Santosbuelga y Scalbert, 2000).

Gracias a su estructura química distintiva, las proantocianidinas exhiben un carácter dual hidrofóbico e hidrofílico (Haslam, 1996), lo que potencia su capacidad para formar enlaces irreversibles con diversos compuestos. Esta afinidad se manifiesta de manera sobresaliente en su interacción con minerales, proteínas y carbohidratos (Santos y Scalbert, 2000), confiriéndoles un rol clave en procesos bioquímicos y aplicaciones terapéuticas.

Además, el extracto al unirse a las proteínas puede promover la remineralización dental mediante dos métodos:

Adicionalmente, la capacidad del extracto para interactuar con proteínas facilita la remineralización dental mediante dos mecanismos fundamentales:

- El extracto derivado de las semillas de *Vitis vinifera* (uva) posee la capacidad de unirse a colagenasas y a otras enzimas que participan en la desfragmentación de la superficie dentinaria tras la desmineralización del esmalte. (Bedran-Russo et al., 2013; Ky et al., 2016; Nakamura et al., 2003; Santos-buelga y Scalbert, 2000)

- El extracto de semilla de *Vitis vinifera* (Uva) puede promover la reticulación de superficies dentinarias ricas en colágeno, promoviendo así el fortalecimiento y remineralización. (Frazier et al., 2010)

En este contexto, el extracto de la semilla de *Vitis vinifera* (Uva) ha llamado la atención debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas demostradas en estudios previos. Sin embargo, el conocimiento actual sobre la efectividad de este extracto sobre cepas específicas de *Streptococcus mutans*, como la cepa ATCC 25175, sigue siendo limitado

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de *Vitis vinifera* (Uva), sobre *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175 In vitro?

1.2. Antecedentes

Elgendi y Hamdy (2022) en un estudio realizado en Egipto investigaron el potencial antibacteriano del extracto de semilla de uva (*Vitis vinifera*, GSE) frente al agregado de trióxido mineral (MTA), evaluando su eficacia contra un espectro de microorganismos patógenos relevantes en odontología: *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Lactobacillus* spp. y *Streptococcus sobrinus*. Los materiales se aplicaron conforme a las especificaciones del fabricante, depositándose en placas de agar inoculadas con suspensiones microbianas estandarizadas (10⁵ y 10⁶ UFC/ml). Las condiciones de incubación se ajustaron a los requerimientos de cada microorganismo: 37°C en anaerobiosis para las bacterias y 30°C para *C. albicans*. Tras un período de tres días, se cuantificaron las zonas de inhibición, proporcionando evidencia robusta sobre la capacidad antimicrobiana de ambos compuestos.

Enriqueciendo el análisis, las proantocianidinas presentes en el GSE, conocidas por su capacidad de desestabilizar membranas bacterianas y alterar la formación de biopelículas, confieren a este extracto un perfil prometedor como agente terapéutico natural. Estudios previos, como los reportados en *Journal of Ethnopharmacology*, han corroborado su eficacia

contra *S. mutans*, un patógeno clave en la caries dental, al inhibir la síntesis de glucanos y la adhesión bacteriana. Por su parte, el MTA, ampliamente utilizado en endodoncia por sus propiedades bioactivas y capacidad de inducir la formación de tejido duro, exhibe efectos antimicrobianos atribuidos a su elevada alcalinidad (pH ~12.5), que resulta letal para numerosos patógenos. La comparación de ambos materiales en este estudio no solo amplía el entendimiento de sus mecanismos de acción, sino que también resalta el potencial del GSE como una alternativa biocompatible y sostenible frente a materiales sintéticos, en un contexto donde la resistencia antimicrobiana plantea desafíos crecientes para la odontología moderna.

Se usó un calibrador digital para medir el diámetro de las zonas de inhibición bacteriana que rodeaban cada pozo al tamaño más cercano en mm. Las zonas de inhibición creadas por extracto de semilla de uva contra todos los microorganismos probados (36.40 mm), excepto *C. albicans*, fueron significativamente más grandes que las zonas creadas por MTA (24.33 mm) ($p < 0,05$). El estudio concluye que el extracto de semilla de uva (*Vitis vinifera*, GSE) demostró una actividad antibacteriana significativamente superior, exhibiendo un mayor efecto inhibitorio frente a *Streptococcus mutans* y otras bacterias patógenas evaluadas.

Zarei et al. (2021) en una investigación llevada a cabo en Irán, se propusieron analizar el impacto del extracto de semilla de *Vitis vinifera* (VVSE) sobre las cepas probióticas *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*.

En este estudio transversal, los VVS se secaron, el polvo obtenido se vertió en recipientes separados para preparar extractos acuosos, alcohólicos y de acetona, y se agregaron los solventes deseados. Después de colocarlos en la incubadora con agitación y pasar por el papel de filtro, los solventes se transfirieron a las placas. Después del cultivo de bacterias *Lactobacillus acidophilus* y *casei* en tubos que contenían caldo Mueller Hinton. Las muestras resultantes se cultivaron en medio de agar chocolate. Las concentraciones iniciales (2, 4 y 8 µg/ml) no fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano; por lo tanto, se evaluaron las

concentraciones más altas para establecer la concentración inhibitoria mínima (MIC). La MIC del extracto acuoso fue de 32 y 64 µg/ml para *Lactobacillus acidophilus* y *casei*, respectivamente. El extracto alcohólico detuvo el crecimiento de ambas bacterias a una concentración de 128 µg/ml. La MIC del extracto de acetona fue de 64 y 128 µg/ml para *Lactobacillus acidophilus* y *casei*, respectivamente. Así, el extracto acuoso fue más efectivo que el alcohólico ($p=0,016$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los extractos alcohólico y acetónico ($p=0,1267$), así como entre los extractos acuoso y acetónico ($p=0,061$). Se concluye que la actividad antibacteriana del extracto acuoso fue mayor que la de los extractos alcohólicos y acetónicos.

Aslanimehr et al. (2020) en una investigación desarrollada en Irán, buscaron determinar la eficacia del extracto de semilla de *Vitis vinifera* (GSE) en la inhibición de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. En este experimento in vitro, se empleó el extracto derivado de semillas de *Vitis vinifera* L. Después de la preparación, su efecto sobre *S. mutans* y *C. albicans* se evaluó en 0,25-256 mg/. Posteriormente, se establecieron la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración bactericida mínima (MBC) del extracto de semilla de *Vitis vinifera* utilizando técnicas de macrodilución en caldo, un método estandarizado que permite cuantificar con precisión la actividad antimicrobiana contra patógenos orales.

Los datos obtenidos a través de la prueba t pareada revelaron una diferencia significativa en el número de colonias de *S. mutans* entre el grupo control y el grupo con vitis vinifera a 0,25, 0,5 y 1 mg/ mL ($P<0.05$) en 24 horas. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observó un crecimiento bacteriano positivo a las concentraciones evaluadas del extracto de semilla de *Vitis vinifera*, con un incremento significativo en los recuentos de colonias en comparación con el grupo de control positivo, evidenciando una modulación selectiva de la actividad microbiana.

Por lo tanto, *Vitis vinífera* en estas concentraciones no pudieron inhibir *S. mutans*. Los resultados mostraron que el extracto de *Vitis vinífera* (2 y 8 mg/mL) inhibe el crecimiento de *S. mutans* y *C. albicans*, así como 32 y 64 mg/mL, respectivamente a las 48 horas. Se concluye que el extracto de semilla de *Vitis vinífera* ejerció una acción antimicrobiana significativa sobre *Streptococcus mutans* a concentraciones elevadas, demostrando su potencial como agente terapéutico en el control de patógenos orales

Swadas et al. (2016) en una investigación conducida en India, se propusieron comparar la eficacia antibacteriana del extracto de semilla de uva (*Vitis vinífera*) a diversas concentraciones con la del gluconato de clorhexidina contra *Streptococcus mutans*. El extracto se obtuvo mediante extracción con una mezcla etanol/agua (70:30 v/v), seguido de filtración a través de papel Whatman No. 1 hasta alcanzar un filtrado incoloro. Cepas de *S. mutans* fueron cultivadas e incubadas durante 48 horas. A las 24 horas de exposición, las concentraciones más altas del extracto de semilla de uva demostraron una marcada eficacia en la inhibición de *Streptococcus mutans*. No obstante, la clorhexidina demostró una potencia antibacteriana superior en comparación con todas las concentraciones del extracto evaluadas. Los resultados permiten concluir que el extracto de semilla de uva, como agente antimicrobiano natural, ejerce un efecto inhibidor significativo sobre *S. mutans*, aunque su eficacia no supera la de la clorhexidina, destacando su potencial como alternativa natural en aplicaciones odontológicas.

Enriqueciendo el análisis, las proantocianidinas, actúan desestabilizando las membranas bacterianas y dificultando la adhesión de *S. mutans* a la biopelícula oral, lo que explica su actividad antimicrobiana. Sin embargo, la clorhexidina, un antiséptico de amplio espectro, ejerce su acción mediante la disrupción de la integridad celular y la inhibición metabólica, lo que justifica su mayor potencia. Estos hallazgos subrayan la viabilidad del extracto como una opción complementaria en formulaciones odontológicas, especialmente en

contextos donde se busca reducir la dependencia de agentes sintéticos para mitigar efectos secundarios o resistencia bacteriana.

Caicedo et al. (2018) en una investigación desarrollada en Ecuador, buscaron determinar la eficacia antibacteriana de extractos acuosos derivados de la pulpa, semilla y cáscara de uva (*Vitis vinifera*) frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 35668, Ecuador). En el estudio se emplearon extractos de uvas recolectadas en la región norte del país, preparados en tres concentraciones diferentes: 40%, 70% y 100%. Estos extractos fueron evaluados por su actividad antimicrobiana frente a patógenos orales, específicamente *Streptococcus mutans*. Para establecer una comparación válida, se utilizó clorhexidina al 0.12% como control positivo, dado su uso clínico reconocido, y agua destilada como control negativo. El propósito principal fue determinar el potencial del extracto de semilla de uva como una alternativa natural eficaz en la prevención y control de enfermedades bucales de origen bacteriano.

Estos extractos se impregnaron en discos de papel filtro (20 ml cada uno) y fueron dispuestos en placas Petri sembradas con cepas de *Streptococcus mutans* en agar sangre, facilitando la evaluación de su capacidad antimicrobiana en un entorno controlado.

Se llevó a cabo una evaluación exhaustiva de la actividad antimicrobiana, considerando los halos de inhibición medidos tras 24 y 48 horas de incubación. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los intervalos de evaluación de 24 y 48 horas ($p=0.00$), con un efecto inhibitorio marcadamente superior observado a las 48 horas. El extracto de semilla de uva, utilizado en su concentración pura (100%), demostró una capacidad antimicrobiana comparable a la de la clorhexidina al 0.12%. Por otro lado, la variante del mismo extracto al 70% exhibió una inhibición notablemente reducida.

En contraste, los extractos obtenidos de la cáscara y la pulpa, evaluados en diversas concentraciones, no evidenciaron actividad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans*. Por su parte, el extracto acuoso derivado de las semillas de uva, utilizado en su máxima pureza

(100%), demostró una capacidad antimicrobiana equiparable a la de la clorhexidina al 0.12% contra la misma cepa bacteriana. Estos hallazgos ponen de manifiesto el potencial del extracto de semillas de uva como un agente antibacteriano eficaz.

Rodríguez (2022) en la ciudad de Trujillo, examinó la capacidad antibacteriana de diferentes concentraciones de extractos hidroetanólicos obtenidos de semillas de uva (*Vitis vinífera*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*) contra la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio se diseñó como un trabajo experimental, de carácter prospectivo, transversal y analítico, con un enfoque cuantitativo y un propósito explicativo. Para ello, se utilizaron 15 placas con cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a las cuales se aplicaron extractos hidroetanólicos de semillas de uva y arándano en concentraciones de 15% y 30%. Asimismo, se probó una mezcla de extractos de ambas semillas en las mismas proporciones (15% y 30%), y los resultados se contrastaron con un control positivo (clorhexidina al 0,12%) y un control negativo (solución salina).

El impacto antibacteriano se evaluó mediante la observación de las zonas de inhibición, las cuales fueron medidas con precisión utilizando un calibrador. Los datos obtenidos mostraron que el extracto de semillas de uva generó zonas de inhibición promedio de 10.07 mm a una concentración del 15% y de 12.11 mm al 30%. Por su parte, el extracto de semillas de arándano presentó zonas de inhibición de 9.35 mm al 15% y de 13.41 mm al 30%. Asimismo, la combinación de extractos de semillas de uva y arándano produjo zonas de inhibición de 11.29 mm a una concentración del 15% y de 13.32 mm al 30%.

Los resultados obtenidos ($p=0.000<0.05$) indicaron que existen diferencias estadísticas significativas entre la *vitis vinífera* y el extracto de arandanos en la efectividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*.

Loyola (2019) esta investigación realizada en Lima, evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de coca (*Erythroxylum coca*) y molle (*Schinus molle*) frente a

la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Para ello, se preparó extractos en concentraciones del 50% y 75%, a fin de comparar su eficacia en la inhibición del crecimiento bacteriano y explorar su potencial como agentes antimicrobianos naturales aplicables en el ámbito odontológico. Empleó un diseño experimental, comparativo, prospectivo y longitudinal. Los extractos se obtuvieron mediante filtración al vacío y se compararon con un control positivo, la clorhexidina al 0,12%. Las bacterias fueron cultivadas en Agar Mitis Salivarius, un medio adecuado para su crecimiento. La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó usando el método de difusión en disco (Kirby-Bauer) sobre Agar Mueller Hinton para medir la sensibilidad bacteriana. Tras 24 horas de incubación, la clorhexidina al 0,12% evidenció el mayor promedio en la formación de halo de inhibición bacteriana, con un valor de 14,13 mm, mientras que el extracto etanólico de hoja de coca al 50% registró el valor más bajo, con 10,13 mm. Al cumplirse las 48 horas, la clorhexidina continuó mostrando la mayor actividad antibacteriana (14,26 mm), y el extracto de coca al 50% mantuvo el valor más reducido (10,50 mm). El análisis estadístico indicó que las diferencias en los promedios de los halos inhibitorios entre la clorhexidina y los demás tratamientos fueron altamente significativas ($p = 0,000$). Además, se identificó una correlación positiva entre los tiempos de evaluación ($r = 0,977$), lo que sugiere un incremento en la actividad antibacteriana a las 48 horas. En síntesis, los extractos etanólicos de hojas de coca y molle, en ambas concentraciones evaluadas (50% y 75%), demostraron efecto inhibitorio frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, aunque en menor medida que la clorhexidina.

Cardenas (2019) el presente estudio tuvo como finalidad evaluar la actividad antibacteriana in vitro de diversos extractos obtenidos de hojas de *Mangifera indica* Linn (mango) sobre la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Se desarrolló un diseño experimental in vitro en el que se analizaron cuatro diluciones de extractos (etanólico e hidroalcohólico al 50% y 100%) aplicados sobre cultivos de *S. aureus*, utilizando como

controles un positivo (clorhexidina al 0.12%) y un negativo (alcohol al 96%). La prueba se realizó mediante el método de difusión en agar Müller-Hinton con la técnica de Kirby-Bauer en pozos, con ocho repeticiones por grupo, incubando a 37°C durante 24 horas. Los resultados evidenciaron que los cuatro extractos mostraron actividad antibacteriana, con zonas de inhibición que oscilaron entre 21 y 35 mm, presentándose diferencias estadísticamente significativas tanto entre los extractos como frente al control positivo. Destacó la mayor eficacia del extracto hidroalcohólico al 100%, lo que confirma la presencia de compuestos bioactivos en las hojas de mango que contribuyen a su potencial antimicrobiano. Estos hallazgos respaldan el uso de *Mangifera indica* como fuente natural de agentes antibacterianos, subrayando la importancia de los metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y mangiferina, los cuales han sido asociados a la inhibición bacteriana en estudios previos. En conclusión, los extractos foliares de mango constituyen una alternativa prometedora para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos de origen vegetal, con potencial aplicación en el control de infecciones causadas por *S. aureus*.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de *Vitis vinifera* (Uva) al 75 y 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% a las 24, 48 y 72 horas - estudio in vitro.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de *Vitis vinifera* (Uva) 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% estudio in vitro a las 24 horas.

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de *Vitis vinífera* (Uva) al 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% - estudio in vitro a las 48 horas.

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de *Vitis vinífera* (Uva) al 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% - estudio in vitro a las 72 horas.

- Comparar el efecto antibacteriano de la semilla de *Vitis vinífera* (Uva) al 75% y 100% y sustancia control (Clorhexidina) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la corexhidina al 0.12% a las 24 h, 48 h y 72 horas – estudio in vitro.

1.4. Justificación

Esta investigación fundamentalmente aborda la imperiosa exigencia hayar nuevas alternativas terapéuticas eficaces frente a infecciones de origen bacteriano, con especial atención a *Streptococcus mutans*, un microorganismo estrechamente vinculado al desarrollo de la caries dental. En este contexto, la uva (*Vitis vinífera*) ha despertado interés por su composición rica en compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, los cuales han demostrado efectos beneficiosos para la salud, incluyendo propiedades antimicrobianas potenciales, pero se ha observado que también podría tener efectos antibacterianos. Existen antecedentes científicos que sugieren que ciertos compuestos presentes en la uva, como los polifenoles, podrían tener actividad antimicrobiana contra diferentes tipos de bacterias. Sin embargo, hasta el momento, son escasos los estudios que se han enfocado específicamente en evaluar el efecto antibacteriano de los extractos de uva orgánica producida en el Perú, sobre *Streptococcus mutans*.

Desde una perspectiva práctica, la investigación sobre el efecto antibacteriano del extracto de uva frente a *Streptococcus mutans* adquiere gran relevancia tanto en el campo de la salud pública como en la práctica odontológica. La caries dental continúa siendo una de las

enfermedades bucodentales más frecuentes a nivel mundial, y *S. mutans* se reconoce como los factores causantes principales en su patogénesis. Esta patología no solo puede provocar dolor y la pérdida de dientes, sino que también afecta de forma desfavorable en la vida de los pacientes. Asimismo, su alta prevalencia implica una considerable carga económica para los sistemas de salud, debido a los costos asociados con su prevención, diagnóstico y tratamiento.

Si se demuestra la eficacia del extracto de uva en inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* in vitro, esto podría sentar las bases para futuros estudios clínicos que evalúen su aplicación como un enfoque terapéutico complementario o preventivo en la prevención y tratamiento de la caries dental. Además, al ser una sustancia natural, su potencial como agente antibacteriano podría ser bien recibido por pacientes que buscan tratamientos más naturales y menos invasivo.

Radica en el diseño de un estudio in vitro riguroso y bien estructurado. El estudio se centrará en la evaluación del efecto antibacteriano del extracto de uva en diferentes concentraciones sobre cultivos de *Streptococcus mutans* a través de un control de calidad a nivel de la cepa ATCC. Para ello, se emplearán técnicas microbiológicas estandarizadas y se realizarán pruebas de sensibilidad para medir los halos de inhibición, permitiendo cuantificar la actividad antimicrobiana de los extractos de uva en comparación con un control positivo (clorhexidina)

La elección de las concentraciones de los extractos de uva se basará en estudios previos y literatura científica relevante. El análisis de los resultados se llevará a cabo utilizando métodos estadísticos adecuados, lo que garantizará la viabilidad y fiabilidad de los hallazgos obtenidos. La investigación se desarrollará en un laboratorio debidamente equipado y bajo condiciones controladas para asegurar la validez y reproducibilidad de los resultados.

1.5. Hipótesis

El efecto antibacteriano in vitro del extracto de la semilla de *Vitis vinífera* (Uva), puede ser en relacion a la clorexhidina al 0.12% significativo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24, 48 y 72 horas, Lima 2024.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Cavidad oral*

La cavidad oral, también conocida como cavidad bucal o boca, es la parte del sistema digestivo que se encuentra en la cabeza y está delimitada por los labios en su parte exterior y por los límites internos formados por las encías y los dientes. Es una estructura anatómica esencial para la ingesta de alimentos, el inicio del proceso de digestión y la producción de la voz. (Falcón, 2020)

2.1.2. *Placa dentobacteriana*

Las biopelículas están constituidas principalmente por grandes colonias de bacterias sésiles que se encuentran inmersas en una matriz polimérica extracelular, también denominada glicocálix. Esta matriz presenta un alto grado de hidratación, incorporando hasta un 97 % de agua en su estructura, lo que contribuye a su consistencia y funcionalidad. Su componente principal son los exopolisacáridos, polisacáridos producidos por los microorganismos que forman la biopelícula, los cuales constituyen la base estructural de la matriz. Además, en menor proporción, la matriz extracelular está compuesta por diversas macromoléculas, entre las que se incluyen proteínas, ácidos nucleicos extracelulares (como el ADN) y productos resultantes de la lisis bacteriana. Estos componentes, junto con los polisacáridos, forman una red estructural conocida como sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés), las cuales desempeñan un papel clave en la cohesión y protección de los biofilms microbianos. (EPS).

En la matriz extracelular de igual manera encontramos componentes inorgánicos, como cristales de sales minerales, partículas resultantes de procesos de corrosión o sedimentos, así como elementos derivados de fluidos biológicos, tales como componentes sanguíneos, en contextos biológicos específicos. Los exopolisacáridos, que forman una parte importante de

esta matriz, pueden interactuar con iones metálicos y cationes bivalentes, modificando sus propiedades físico-químicas. La carga de estos exopolisacáridos puede variar dependiendo de la composición de la matriz y de las interacciones con otros elementos, exhibiendo características que van desde neutras hasta polianiónicas, lo que influye en su capacidad para formar estructuras complejas y adherirse a superficies. dependiendo del tipo específico de polisacárido, lo que influye en su capacidad para interactuar con agentes antimicrobianos. Esta interacción puede provocar que los antimicrobianos queden atrapados en la matriz, impidiendo que alcancen y actúen eficazmente sobre las bacterias subyacentes.

La estructura de la matriz no es homogénea ni sólida; está organizada en microcolonias o torreones bacterianos, separados por canales de agua que permiten el flujo de nutrientes, oxígeno y la eliminación de desechos metabólicos, generando gradientes de concentración de estos elementos y creando distintos microambientes dentro de la biopelícula. Estos factores contribuyen a la resistencia y persistencia de las bacterias en la biopelícula frente a tratamientos antimicrobianos y condiciones adversas, siendo un factor clave en la cronicidad de infecciones bacterianas asociadas a dispositivos médicos y tejidos biológicos. (Quintas et al., 2018)

2.1.3. Microbiota oral

El microbioma oral constituye una parte fundamental del microbioma humano, considerando los microorganismos que residen en la cavidad bucal. Se reconoce que esta cavidad presenta la segunda microbiota más compleja del cuerpo, solo superada por la del colon. La composición del microbioma oral incluye aproximadamente 774 especies bacterianas, distribuidas en diversos nichos dentro de la boca y regiones adyacentes del tracto aerodigestivo. (Whade, 2013)

El microbioma oral es un ecosistema microbiano complejo y diverso que engloba bacterias, hongos, virus, arqueas y protozoos, con alrededor de 700 especies que se encuentran en la cavidad bucal. Esta comunidad microbiana es la segunda más abundante y diversa del

cuerpo humano, solo superada por la microbiota intestinal. La composición del microbioma oral varía según múltiples factores, como la edad, la genética, la dieta, la higiene bucal, el sexo, el entorno geográfico y el estado de salud, lo que genera una considerable variabilidad inter e intraindividual.

Numerosos estudios han evidenciado que la microbiota oral desempeña un papel crucial en la salud y la enfermedad, participando activamente en la patogénesis y el desarrollo de distintas patologías tanto locales, como la caries dental y la enfermedad periodontal, como sistémicas, mediante mecanismos que involucran la disbiosis y la respuesta inflamatoria del hospedero. La interacción entre los microorganismos y el huésped es dinámica, y un equilibrio adecuado (eubiosis) contribuye a la protección contra patógenos y al mantenimiento de la homeostasis oral, mientras que alteraciones en esta comunidad microbiana pueden favorecer procesos patológicos. (Krom et al., 2014)

Debido a las características particulares de los ecosistemas primarios en la cavidad oral, especialmente su alta variabilidad, heterogeneidad y la gran cantidad de microorganismos presentes, resulta complejo determinar con precisión la composición microbiana de este entorno. A lo largo del tiempo, se han aislado hasta 200 especies diferentes en una misma cavidad bucal; sin embargo, la mayoría de estas especies son transitorias, y solo alrededor de 20 se consideran residentes permanentes en este nicho ecológico. Esta dinámica refleja la naturaleza cambiante del microbioma oral, donde una pequeña fracción de microorganismos establece colonias estables, mientras que el resto varía según factores individuales y ambientales. (Human Microbiome Project Consortium, 2012)

Heller et al. (2017) que analizó la dinámica temporal y la diversidad microbiana durante las etapas iniciales de formación del biofilm dental en individuos sanos, integrando tanto microorganismos cultivables como aquellos no detectables mediante métodos tradicionales. Este estudio identificó un total de 92 especies bacterianas pertenecientes a 40

géneros y 7 filos, donde los estreptococos (*Streptococcus spp.*) mostraron predominio cuantitativo en todas las fases de muestreo, confirmando su papel clave como colonizadores primarios.

Además de los estreptococos, se observó presencia recurrente de *Haemophilus parainfluenzae*, *Gemella haemolysans* y *Slackia exigua*, junto con especies del género *Rothia*. Destaca particularmente *S. exigua*, un microorganismo fastidioso de crecimiento lento que tradicionalmente se asociaba a procesos patológicos endodónticos y periodontales, pero que en este contexto demostró ser un componente estable del biofilm saludable

2.1.3.1. Bacterias. La colonización microbiana de la cavidad oral inicia pocas horas tras el nacimiento, estableciendo una interacción dinámica que evoluciona a lo largo de la vida. Durante el desarrollo posnatal, eventos fisiológicos como la erupción de la dentición primaria y su posterior reemplazo por la permanente modifican sustancialmente los hábitats orales, generando una sucesión ecológica en la composición microbiana. Estos cambios estructurales –como la aparición de superficies dentales, fisuras y espacios interdentes– crean nuevos nichos que favorecen la especialización de comunidades bacterianas, con adaptaciones específicas según la disponibilidad de sustratos y condiciones microambientales.

La arquitectura filogenética de la microbiota oral muestra una variabilidad significativa asociada al envejecimiento, evidenciándose tres etapas diferenciadas: alta diversidad en adolescentes, homogenización en adultos y resurgencia de especies oportunistas en adultos mayores. Este patrón parabólico refleja la influencia combinada de factores hormonales, inmunológicos y de hábitos, donde sistemas de defensa debilitados en la vejez permiten la colonización de patógenos periodontales como *Porphyromonas gingivalis*. Estudios longitudinales demuestran que solo el 10% de las especies detectadas persisten como residentes estables, mientras el resto presenta fluctuaciones temporales vinculadas a la dieta, higiene bucal y uso de antimicrobianos. (Xu et al., 2015)

La microbiota desempeña un papel fundamental en la inducción, desarrollo y funcionamiento del sistema inmunológico del huésped. Cuando esta interacción se mantiene en equilibrio, la alianza entre el sistema inmune y la microbiota permite la activación de respuestas protectoras frente a patógenos, al tiempo que regula mecanismos que preservan la tolerancia hacia antígenos inocuos, evitando reacciones inmunitarias excesivas o autoinmunes.

Esta relación bidireccional es esencial para la homeostasis inmunológica, ya que la microbiota modula la maduración y función de células inmunitarias, promoviendo la producción de citocinas y mediadores que coordinan la respuesta inmune local y sistémica. Además, las bacterias comensales compiten con microorganismos patógenos por espacio y nutrientes, y pueden secretar sustancias antimicrobianas que fortalecen las barreras mucosas, contribuyendo a la defensa del organismo. (Belkaid y Hand, 2014)

Las bacterias representan la mayor parte de los microorganismos orales. El desarrollo de métodos, especialmente dirigidos al ARN ribosomal 16S, ha ampliado nuestra conciencia de la gran riqueza y la diversidad del microbioma oral, en la cual se encuentra disponible una cantidad considerable de bacterias orales con una descripción de sus características e información genómica. La comunidad bacteriana oral está dominada por diversas familias, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Spirochaetes y Fusobacteria, que representan el 94% de los taxones detectados. (Cruz y Paster, 2017)

A. *Streptococcus mutans*. En los cultivos de agar sangre, la formación de colonias de *Streptococcus mutans* es fácilmente observable debido a su diámetro de 0.5 a 1 mm y su aspecto característico de forma convexa, altas, pulvinadas o mucoides. Las colonias de *Streptococcus mutans* presentan una apariencia opaca, similar a la de vidrio esmerilado. Esta bacteria es capaz de producir ácido láctico, lo que le permite alterar el pH del medio de cultivo, reduciéndolo de 7 a aproximadamente 4.2 en un lapso de 24 horas. Este proceso ocurre debido a la

metabolización de los residuos alimenticios presentes en la cavidad bucal, como sacarosa, glucosa, fructosa, entre otros (Chamorro et al., 2013)

Los ácidos producidos por *Streptococcus mutans*, penetrando los poros del esmalte por medio de la placa dental. Este proceso conduce a la desmineralización del esmalte, en el cual el ácido se disocia, liberando iones de hidrógeno, responsables de disolver los minerales del esmalte y provocar la pérdida de calcio y fosfato de dicho esmalte. (Cui et al., 2019)

Cuando *Streptococcus mutans* procesa los carbohidratos fermentables como la fructosa, glucosa y sacarosa produce ácido fórmico, ácido propiónico, ácido láctico y ácido acético. Estos se desplazan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, donde se descomponen y liberan hidrogeniones. Estos hidrogeniones tienen la capacidad de disolver rápidamente el mineral del esmalte, liberando calcio y fosfato que se difunden fuera del esmalte. Este proceso se conoce como desmineralización. (Ojeda et al., 2013)

2.1.4. Uva

La uva se califica como una fruta que se produce en la vid, una planta trepadora perteneciente al género *Vitis*. Es ampliamente cultivada en todo el mundo debido a su delicioso sabor, su versatilidad en la elaboración de productos como el vino, y sus beneficios nutricionales. La vid (*Vitis vinifera*) es una planta trepadora que pertenece a la familia Vitaceae y es originaria de la región mediterránea, aunque hoy en día se cultiva en muchas partes del mundo con climas adecuados para su desarrollo. Se caracteriza por tener hojas lobuladas y palmeadas, racimos de uvas colgantes y zarcillos que le permiten trepar y sujetarse a estructuras o soportes cercanos (Hariram et al., 2019)

Las condiciones climáticas en Perú son favorables para el cultivo de uva, lo que permite obtener frutos de alta calidad durante todo el año. El suelo peruano presenta un buen drenaje, lo que facilita el enraizamiento adecuado de las plantas. Aunque la vid se adapta principalmente

a zonas tropicales cálidas, en Perú se cultiva en regiones como Ica, La Libertad, Lima y Piura, donde se aprovechan las condiciones climáticas para mantener una producción continua.

La producción anual de uvas en Perú contribuye a satisfacer la demanda global especialmente en meses de baja producción en otros países, particularmente entre diciembre y marzo, coincidiendo con periodos en que los principales mercados requieren abastecimiento adicional. En cuanto a las prácticas agrícolas, es fundamental corregir cualquier deficiencia nutricional mediante aplicaciones específicas para optimizar el desarrollo del cultivo. La vid tolera suelos secos siempre que estos sean bien drenados, aireados y nivelados, garantizando un buen rendimiento que puede mantenerse durante una media década después de la plantación, con una vida productiva que puede extenderse hasta dos décadas.

El manejo del cultivo incluye un control casi diario, con riego por goteo y manejo eficiente de malezas. Entre los sistemas de conducción, el sistema parral es el más utilizado, ya que permite cultivar variedades tempranas y tardías, manteniendo la planta a aproximadamente dos metros sobre el suelo y orientando la vegetación en paralelo, lo que protege al cultivo de la exposición solar excesiva y previene daños.

El cultivo de vid requiere atención constante, desde el tratamiento del suelo y la supervisión de las primeras ramas hasta la prevención temprana de enfermedades y malezas. La agricultura de precisión ha mejorado el seguimiento del crecimiento y la aplicación eficiente de insumos. Entre los insumos esenciales se encuentran fungicidas, herbicidas, insecticidas y reguladores de crecimiento como Dormex.

Los hongos representan la principal amenaza para la vid, especialmente en áreas con poca exposición solar y alta humedad. Por ejemplo, la oidiosis, que genera manchas blancas en hojas y frutos, puede ser controlada eficazmente con fungicidas como Melyra, capaz de actuar simultáneamente contra diferentes grupos químicos del patógeno. Los insecticidas, como QL Agri, son fundamentales para controlar plagas como nemátodos (*Meloidogyne incognita*), que

dañan la producción al debilitar las plantas, y el canchito blanco (*Dysmicoccus brevipes*), cuya incidencia ha aumentado y afecta la productividad y exportación debido al rechazo de la fruta.

2.1.4.1. Composición. En la composición de semillas de uva, alrededor del 6-20% es aceite y su composición química depende principalmente del grado de maduración de las semillas empleadas, la variedad de uva y muchas condiciones ambientales de cultivo y en menor grado en el protocolo de extracción de semillas, como ya se mencionó. Sin embargo, a diferencia de otras semillas o extractos, la mayor parte de los componentes del aceite de semilla de uva son moléculas lipofílicas, que también incluyen varios biocompuestos importantes. (Ravindranathan et al., 2019)

De los extractos de semilla de uva, se pueden observar actividades antioxidantes y antimicrobianas debido a sus componentes fenólicos. Además, alguna evidencia muestra que el extracto de semilla de uva puede proporcionar quimioprevención contra el cáncer y cardioprotección. (Kadri et al., 2019)

La semilla de uva es rica en antioxidantes OPC (complejos oligoméricos y poliméricos), los cuales desempeñan un papel fundamental en la protección contra los radicales libres, lo que ayuda a evitar el envejecimiento prematuro y el deterioro de órganos, tejidos y células. Además, contiene una buena cantidad de vitaminas C, E y betacarotenos, que también contribuyen a mantener una buena salud. (Nicolas et al., 2020)

La uva negra es reconocida por su alto contenido en compuestos antioxidantes y polifenoles, entre los cuales destacan las flavonas, que contribuyen a la protección de los vasos sanguíneos, previniendo la arteriosclerosis y estimulando el sistema inmunológico. Un compuesto fenólico especialmente relevante es el resveratrol, presente tanto en la uva como en el vino, que ha demostrado eficacia en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Además, el resveratrol activa enzimas celulares que ayudan a retardar el envejecimiento y a disminuir la aparición de enfermedades degenerativas. (Sandoval et al., 2008)

En condiciones isquémicas, se han informado efectos neuroprotectores, reducción del daño cerebral, junto con una actividad antiapoptótica y preservación del proteoma en animales pretratados con extractos de semilla de uva. Se ha informado el papel de los extractos de semilla de uva para atenuar la inflamación y retrasar la evolución del cuadro clínico de Alzheimer o actuar como agente neuroprotector en la enfermedad de Parkinson. Los extractos de semilla de uva también son beneficiosos en la cicatrización ósea, los trastornos de la piel y muestran una actividad fotoprotectora. A pesar de estos resultados prometedores, el consumo humano de extracto de semilla de uva es un tema controvertido y no muchos estudios han reportado conclusiones claras. (Milella et al., 2023)

2.1.5. Efecto antibacteriano

Los flavonoides constituyen alrededor del 5% de los componentes presentes en las semillas de *Vitis vinifera*. Estos flavonoides incluyen kaempferol-3-O-glucósidos, quercetina-3-O-glucósidos, quercetina y miricetina, todos derivados de flavan-3-ol. Por otro lado, los polifenoles representan aproximadamente entre el 60% y 70% de los compuestos encontrados en las semillas de esta vid. Estos polifenoles incluyen proantocianidinas, que son ésteres de ácidos gálicos. (Martin et al., 2020)

La piel de las uvas negras contiene una extensa gama de compuestos fenólicos y polifenoles, entre los que se incluyen monómeros, taninos oligómeros y polímeros. Entre estos compuestos destacan los ácidos fenólicos, como el ácido benzoico y el ácido hidroxicinámico, así como estilbenos, siendo el resveratrol uno de los más importantes. También se encuentran flavan-3-oles, como la catequina y la epicatequina, y flavonoles, entre los cuales figuran el kaempferol, la quercetina y la miricetina. Además, la piel es rica en antocianinas, pigmentos responsables del color característico de las uvas negras.

Estos compuestos no solo contribuyen al color y sabor de la uva, sino que también poseen una potente actividad antioxidante que protege las células frente al daño oxidativo, lo

que se relaciona con beneficios para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares y procesos inflamatorios. La concentración y composición de estos polifenoles pueden variar según la variedad de uva, las condiciones climáticas, el suelo y las prácticas agrícolas empleadas. (Trost et al., 2016)

Los polifenoles son metabolitos secundarios presentes en las plantas que se asocian con múltiples propiedades taxonómicas, sensoriales, nutricionales y farmacológicas. Su función principal radica en su potente capacidad antioxidante, que les permite neutralizar los radicales libres y prevenir el daño celular, además de ejercer efectos antiinflamatorios y antimicrobianos. Los polifenoles, al ser abundantes en estas partes de la vid, ofrecen diversos beneficios para la salud, como la capacidad de inhibir el daño causado por los radicales libres, propiedades antibacterianas y antifúngicas, y la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares, además de tener efectos anticancerígenos y antiinflamatorios. (Surco et al., 2020)

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Esta investigación es de carácter experimental, comparativa, longitudinal y prospectiva.

3.2. Ámbito temporal y espacial

- Ámbito temporal: El periodo destinado para la conducción de la actual investigación abarcará desde abril hasta julio del año 2024.

- Ámbito espacial: La puesta en marcha del proyecto investigativo se efectuará en las instalaciones del Laboratorio de Control Analítico, perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en el distrito de La Victoria, ciudad de Lima. Este laboratorio forma parte del Centro de Control Analítico (CCA) de la facultad, el cual ofrece servicios especializados en análisis de control de calidad de productos farmacéuticos, sanitarios y veterinarios, cumpliendo con normativas internacionales como la ISO/IEC 17025 y las buenas prácticas de laboratorio. La infraestructura y el personal capacitado del laboratorio garantizan la confiabilidad y precisión de los análisis que se realizarán durante el desarrollo del estudio.

3.3. Variables

3.3.1. *Variable independiente*

- Extracto la semilla de Uva (*Vitis vinífera*)

3.3.2. *Variable dependiente*

- Efecto antibacteriano

3.3.3. *Variables intervinientes*

- Tiempo, Clorhexidina.

3.3.4. Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICION	INDICADORES	ESCALA	VALORES
Extracto de semilla de uva (Vitis vinífera)	Compuesto natural semilla de uva obtenido a partir de (Vitis vinífera) semillas de la uva	Concentración	Razón	75% y 100%
Efecto Antibacteriano	Capacidad de ciertas sustancias o medicamentos para inhibir el crecimiento o matar bacterias.	Halos de inhibición	Razón/ continua	mm
Tiempo	Periodo el cual es medida a través de un cronometro	Unidad de tiempo	Razón	24horas 48horas 72 horas
Clorhexidina	Se trata de un compuesto químico con propiedades antimicrobianas, que tiene la capacidad de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos	Concentración	Razón Continua	MI

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

En cuanto a este tema señala Hernández (2014) que “la población es un conjunto de individuos que guardan características similares los cuales pueden ser tomados para análisis”.

Sin embargo, en estudios experimentales se consideran muestras mínimas por grupo.

3.4.2. Muestra

De acuerdo a lo establecido por Hernández (2014) Para la selección de la muestra es fundamental que las muestras elegidas tengan características similares. De esta manera, el tamaño de la muestra estará representado por 15 muestras por grupo, a través de la comparación de medias, la cual se utiliza para realizar comparaciones entre dos o más grupos en términos de sus medias.

$$N=2(Z_x + Z_b)^2 * S^2/d^2$$

Dónde:

- ZX: Valor Z correspondiente al riesgo α fijado ($\alpha=0.05$)
- ZB: Valor Z correspondiente al riesgo β fijado ($\beta=0.20$)
- S2: Desviación estándar
- d: Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar
- n es equivalente a 15 por grupo

3.4.3. Criterios de inclusión

- Placas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- Cepas de *Streptococcus mutans* debidamente certificadas (ATCC 25175)

3.4.4. Criterios de exclusión

- Placas Petri que presenten daño, rajadura en su estructura
- Placas Petri con evidencia de filtración o contaminación
- Cepas que no se pudieron activar en el proceso microbiológico

3.5. Instrumentos

La técnica que se aplicará en la investigación será la observación, donde el instrumento estará representado por una ficha de recolección de datos para la evaluación de la efectividad antibacteriana del extracto de la semilla de uva (*Vitis vinífera*). (Anexo A)

3.6. Procedimientos

3.6.1. Obtención de la planta

El cultivo de la vid se caracteriza por su capacidad para adaptarse a suelos pobres, mostrando mejores perspectivas de aprovechamiento de recursos naturales, especialmente del agua, en comparación con otros cultivos. Esta adaptabilidad convierte a la vid en un cultivo colonizador eficiente, capaz de desarrollarse en condiciones edáficas limitantes. En el territorio peruano, las principales zonas productoras de uva se localizan en la costa sur, destacando la región de Ica como un área clave para esta actividad agrícola.

En este contexto, se realizó la adquisición de 5 kg de uva negra (*Vitis vinífera*) en abril de 2024, proveniente de la Viña de Parrita, ubicada en el kilómetro 296 de la Panamericana Sur, justo después de cruzar el río Ica, por la avenida Camino Real, en el distrito de La Tinguiña. Esta ubicación es representativa de las condiciones agroclimáticas y edáficas favorables para el cultivo de vid en la región.

La vid prospera en suelos con buen drenaje, generalmente pobres en nutrientes, lo que ayuda a controlar el vigor de la planta y favorece la producción de uvas de alta calidad. Su sistema radicular profundo le permite resistir períodos de sequía, optimizando el uso del agua disponible. Además, el manejo adecuado del suelo, incluyendo nivelación, drenaje y preparación previa como el subsolado, contribuye a mejorar las condiciones para el desarrollo radicular y la absorción de nutrientes.

3.6.2. Clasificación taxonómica

En Lima, se realizó la recolección de una muestra representativa compuesta por hojas, fruto y sarmiento, la cual fue remitida al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su análisis y determinación taxonómica. Esta institución, reconocida por su trayectoria en la investigación y conservación del patrimonio natural peruano, certificó la autenticidad de la planta objeto de estudio, garantizando así la validez científica de la identificación realizada.

3.6.3. Elaboración del extracto

Se lleva una muestra de 5 kg de uva certificada a CENPROFARMA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, posteriormente se procedió al lavado del fruto a chorro de agua intermitente y a la separación de las semillas manualmente, para luego secarlas en estufa a 40° por 4 días.

Una vez seca las semillas de uva procedemos a pulverizarlas para poder realizar la extracción con la ayuda de un mortero.

Se pesaron 200 g de semillas pulverizadas, las cuales fueron sometidas a un proceso de maceración en un frasco ámbar, protegido de la luz, durante un período de dos semanas. Para ello, se utilizó una mezcla de 500 ml de etanol al 96 % y 500 ml de agua purificada, agitando la preparación diariamente para favorecer la extracción de compuestos activos.

Finalizado el tiempo de maceración, el extracto se filtró utilizando papel filtro Whatman N°42, empleando una bomba de vacío para optimizar el proceso de separación de sólidos. Posteriormente, el extracto filtrado se distribuyó en platos de secado y se colocó en una estufa a 40 °C, donde se mantuvo hasta observar una reducción del volumen a aproximadamente un tercio del volumen inicial, concentrando así los principios activos presentes en la muestra.

El extracto obtenido es vertido en un frasco ámbar para su uso a diferentes concentraciones:

- 75% (p/v) = Se peso 15g y se disolvió en 20mL en una mezcla de etanol /agua (50:50).

-100% = muestra tal cual.

3.6.4. Fase pre analítica

3.6.4.1. Obtención de la cepa. La cepa bacteriana utilizada en la investigación fue adquirida en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), contando con el respectivo certificado de análisis que garantiza su autenticidad y calidad para los fines experimentales. Este laboratorio, reconocido por su infraestructura y personal especializado, cumple con estándares nacionales e internacionales para asegurar la confiabilidad de las cepas y materiales microbiológicos suministrados.

3.6.4.2. Preparación de medios de cultivo. Se prepararon 20 mL de caldo de cerebro-corazón siguiendo las indicaciones del fabricante, que especifican disolver 37 gramos del medio en 1 litro de agua destilada. Esta mezcla se distribuyó en dos tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos para asegurar la eliminación de contaminantes.

Para la preparación del agar de cerebro-corazón, se disolvieron 52 gramos del medio en 1 litro de agua destilada en un frasco de vidrio. Posteriormente, se esterilizó en autoclave bajo las mismas condiciones que el caldo. Una vez esterilizado, el agar se enfrió en baño María a una temperatura de 45-50 °C y se vertió en placas Petri estériles para su solidificación.

En cuanto al agar Mueller Hinton, se prepararon 1.2 litros disolviendo 34 gramos del medio por litro de agua destilada. La mezcla se autoclavó a 121 °C y 15 lb/pulg² durante 15 minutos. Luego, se mantuvo en baño María a 45-50 °C y se vertió en placas Petri de vidrio estériles, procurando un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm de espesor (equivalente a 25-30 mL para placas de 90 mm de diámetro). El agar se dejó solidificar a temperatura

ambiente. Se verificó que el pH del agar Mueller Hinton estuviera entre 7.0 y 7.6, realizando la medición con un potenciómetro antes de la esterilización.

Finalmente, se prepararon 100 mL de suero fisiológico estéril disolviendo 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico en agua destilada hasta completar 10 mL, y se esterilizó en autoclave. Este suero se distribuyó en volúmenes de 10 mL en cuatro tubos estériles para su posterior uso.

3.6.4.3. Activación de la cepa. Las cepas bacterianas se conservaron refrigeradas a una temperatura entre 4 y 8 °C en placas de agar de cerebro-corazón. Para su activación, se tomó una colonia aislada utilizando un asa bacteriológica estéril y se inoculó en tubos que contenían caldo de cerebro-corazón estéril. Estos tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 horas.

La aparición de turbidez en el caldo fue indicativa del crecimiento bacteriano. Posteriormente, se realizó la siembra desde el caldo enriquecido hacia placas de agar de cerebro-corazón, las cuales se incubaron nuevamente a 37 °C por un periodo de 24 horas para obtener cultivos frescos y activos para los ensayos posteriores.

3.6.4.4. Preparación de la muestra. El extracto hidroetanólico de semilla de uva de consistencia líquida se procedió a trabajar a 2 concentraciones: 100 % y 75 %.

3.6.4.5. Preparación del inóculo. Para obtener el inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fueron seleccionadas colonias individuales y se suspendieron en 10 mL de suero fisiológico estéril (solución salina al 0.9%) en tubos de ensayo. La densidad de la suspensión fue ajustada para que tuviera una turbidez equivalente a la del tubo N° 1 de la escala de MacFarland, lo que equivale a una concentración aproximada de 3×10^8 unidades formadoras de colonia (ufc)/mL.

A partir de esta suspensión inicial, se realizaron diluciones en proporción 1:3, tomando 3 mL de la solución y completando el volumen hasta 9 mL con suero fisiológico estéril en tubos con tapa rosca, manteniendo condiciones de esterilidad en todo el proceso y en el área de

trabajo. Las soluciones resultantes de esta dilución presentaron una concentración aproximada de 1×10^8 ufc/mL, adecuada para su uso en posteriores ensayos microbiológicos.

Este procedimiento permite estandarizar la concentración del inóculo, asegurando reproducibilidad y precisión en los experimentos microbiológicos, tal como se recomienda en protocolos microbiológicos para la preparación de suspensiones bacterianas

3.6.4.6. Inoculación de las placas. Pipetearon 100 μ L de cada inóculo bacteriano preparado, con una concentración de 1×10^8 ufc/mL, sobre 20 placas que contenían agar Mueller Hinton. Usando una espátula de Drigalsky, se dispersó el inóculo de forma uniforme sobre toda la superficie de cada placa. Para asegurar un crecimiento consistente, el asa se deslizó paralelamente sobre la placa, cubriendo meticulosamente toda el área disponible. Este procedimiento se repitió dos veces más, rotando la placa 60° en cada ocasión, garantizando así una distribución uniforme del inóculo.

Es fundamental extremar los cuidados durante la siembra para cubrir la placa de borde a borde, ya que una distribución incompleta puede dificultar la interpretación y lectura de los resultados posteriores. Una vez inoculadas, las placas se dejaron secar entre 3 y 5 minutos antes de proceder a la realización de los pocillos para la aplicación de los tratamientos o sustancias a evaluar.

3.6.4.7. Formación de los pocillos. Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hizo los pocillos, se hizo 4 pocillos en 20 placas Petri para el análisis de extracto hidroetanólico de semilla de uva.

Los pocillos practicados en las placas de agar deben ubicarse a una distancia mínima de 15 mm del borde de la placa para evitar interferencias con el crecimiento marginal y asegurar una lectura precisa de los halos de inhibición. Además, la distribución de los pocillos debe diseñarse de manera que los halos de inhibición producidos por cada uno no se superpongan

entre sí, permitiendo una evaluación individual y confiable de la actividad antimicrobiana de cada sustancia ensayada.

3.6.4.8. Sembrado de las muestras y controles. Para la evaluación de las muestras, se utilizaron un total de 20 placas, distribuidas de la siguiente manera: un grupo de placas se destinó al control positivo, otro grupo al control negativo, y el resto se empleó para evaluar dos concentraciones diferentes del extracto hidroetanólico de semilla de uva. Esta disposición permite comparar los efectos del extracto con respecto a condiciones controladas, asegurando la validez de los resultados obtenidos.. En total 4 pocillos en 20 placas Petri. Cada muestra y controles se sembraron añadiendo 40 uL en cada pocillo. Como control negativo o muestra blanco se usó suero fisiológico. En 20 placas Petri se sembró 40uL en un pocillo por cada placa Petri.

Como control positivo se usó PERIO.AID. En 20 placas Petri se sembró 40 uL en un pocillo por cada placa Petri.

3.6.4.9. Incubación. Las 20 placas, que contenían tanto las diluciones de la muestra en estudio como los controles correspondientes, fueron incubadas a una temperatura de 37 °C durante períodos de 24, 48 y 72 horas. Este régimen de incubación permite evaluar la actividad antimicrobiana a lo largo del tiempo y detectar posibles efectos de inhibición tardíos.

3.6.5. Fase post analítica

Posterior a las 24, 48 y 72 horas de incubación, se examinó cada placa cuidadosamente. Las zonas de inhibición observadas debían ser de manera circular y homogéneas, estar rodeadas por una capa uniforme de crecimiento bacteriano para asegurar la validez de la prueba.

Los diámetros de las zonas de inhibición completas se midieron en milímetros, trazando una línea que pasara por el centro de cada pocillo. Para cada pocillo, la medición se realizó por triplicado con el fin de garantizar precisión y reproducibilidad.

Los tres valores obtenidos se promediaron y el resultado final se redondeó al número natural más cercano para su reporte, facilitando así la interpretación y comparación de los datos obtenidos en el estudio.

3.7. Análisis de datos

Los datos colocarán en el programa Microsoft Excel y se procesarán en el programa SPSS versión 26. De esta manera, se elaborarán las tablas de frecuencia de doble entrada y gráficos correspondientes. Esto se puede realizar mediante diversas pruebas estadísticas, como la prueba de Shapiro-Wilk, la prueba de Kolmogorov-Smirnov o la prueba de Anderson-Darling. Si los datos se ajustan a una distribución normal, se pueden utilizar métodos paramétricos para el análisis posterior.

Para la prueba de comparación de grupos, una vez confirmada la normalidad de los datos, se podría utilizar una prueba estadística para comparar los resultados obtenidos entre diferentes grupos o condiciones de estudio. En este caso, se puede utilizar un análisis de varianza (ANOVA) ya que se tendrán varios grupos.

3.8. Consideraciones éticas

Los datos y conclusiones que se generen en el presente estudio serán mantenidos en estricta reserva en donde serán encriptados en una carpeta donde solo la investigadora tendrá acceso. Dado que se trata de un estudio in vitro, se contará con la orientación de un profesional y con el apoyo de un laboratorio acreditado, en el cual se emplearán cepas de *Streptococcus mutans* certificadas y de alta calidad. (ATCC 25175)

La investigación se llevará a cabo con integridad científica y honestidad. Los datos serán recopilados y analizados de manera precisa y transparente, evitando cualquier manipulación o sesgo en los resultados.

Manejo de Residuos Químicos

- Clasificación: Asegúrate de clasificar adecuadamente los residuos generados (químicos, biológicos, etc.) para evitar la contaminación.
- Eliminación Segura: Utiliza protocolos establecidos para la eliminación de residuos peligrosos, siguiendo las normativas locales y nacionales.

IV. RESULTADOS

La actividad antibacteriana se determinó analizando los halos de inhibición generados por extractos hidroetanólicos de semillas de uva frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 los que fueron generados por la presencia de extracto de semilla de uva. El efecto a las 24 se evidencio con valores promedios de halos de inhibición para el extracto etanólico de semilla de uva al 100% de concentración de $14.5 \text{ mm} \pm 1.6 \text{ mm}$, extracto al 75% un halo inhibitorio promedio de $12.5 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$, en el grupo que se utilizó clorhexidina como control positivo, se observó una zona de inhibición promedio de 13 mm, con una variación de más o menos 1.6 mm.

A las 48 horas el efecto fue similar, observándose valores promedios para el extracto al 100% de $13.2 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$, para el de 75% fue de $11.6 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$ y para el control positivo de clorhexidina fue $12.2 \text{ mm} \pm 1.4 \text{ mm}$. Tabla 2

En el mismo sentido, a las 75 horas de evaluación, el efecto antibacteriano del extracto fue levemente menor con valores para el extracto al 100% de $12.5 \text{ mm} \pm 1.7$, para el de 75% fue $10.5 \text{ mm} \pm 1.9$ y para el grupo control de clorhexidina fue $11.7 \text{ mm} \pm 1.3 \text{ mm}$. Tabla 3

La distribución de los valores de halos de inhibición generados por el extracto y el grupo control se observan en las figuras 1, 2 y 3.

A las 24 horas de evaluación se realizó el análisis comparativo entre grupos hallándose diferencias significativas entre los halos generados por el extracto de semilla de uva al 100% frente al extracto a 75% de concentración ($p=0,001$) y entre el extracto de uva al 100% y grupo control de clorhexidina ($p=0,015$). Tabla 4

A las 48 horas, la comparación entre grupos evidencia diferencias significativas del halo de inhibición entre el extracto de semilla de uva al 100% y el de 75% ($p=0,001$). Tabla 5

A las 72 horas de evaluación, solo se halló diferencias significativas de los halos entre los grupos de extracto de semilla de uva al 100% y al 75% ($p=0,001$). Tabla 6

Tabla 1

Efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (vitis vinífera) 75% y 100% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 - estudio in vitro a las 24 horas

Grupo	n	Promedio	DE	Mediana	Min	Max
Extracto 100%	20	14.5	1.6	14.4	11.0	17.7
Extracto 75%	20	12.5	1.4	13.1	8.3	14.2
Control +	20	13.0	1.6	12.9	10.4	16.6

Nota. Los valores resumidos representan a los diámetros de halo inhibitorio; DE: desviación estándar. El control positivo fue la clorhexidina

Figura 1

Distribución de los halos de inhibición para Streptococcus mutans generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 24 horas.

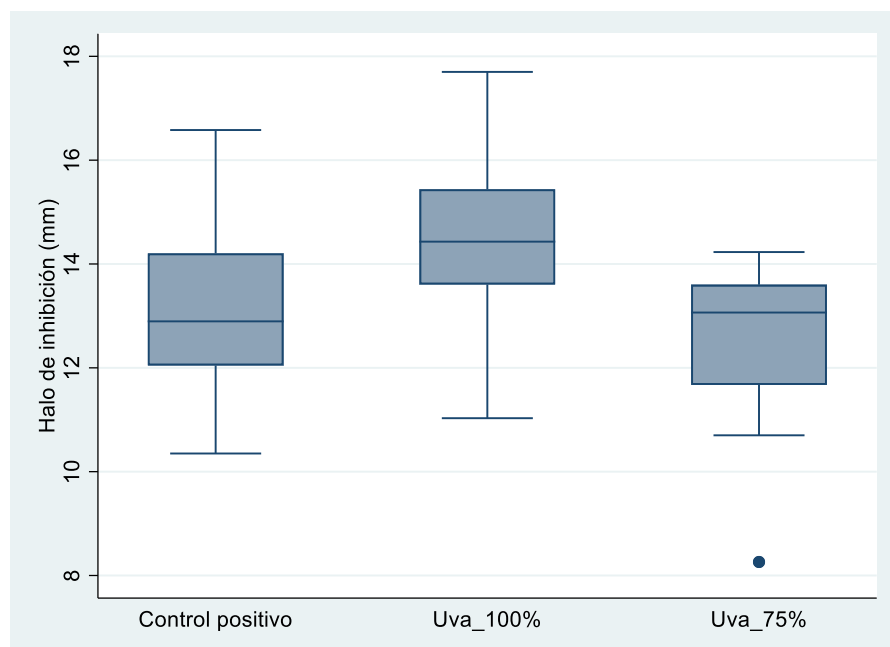


Tabla 2

Efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (vitis vinífera) 75% y 100% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 - estudio in vitro a las 48 horas

Grupo	n	Promedio	DE	Mediana	Min	Max
Extracto 100%	20	13.2	1.4	13.0	10.8	17.2
Extracto 75%	20	11.6	1.4	11.8	7.9	14.2
Control +	20	12.2	1.4	12.0	9.8	14.5

Nota. Los valores resumidos representan a los diámetros de halo inhibitorio; DE: desviación estándar. El control positivo fue la clorhexidina.

Figura 2

Distribución de los halos de inhibición para Streptococcus mutans generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 48 horas.

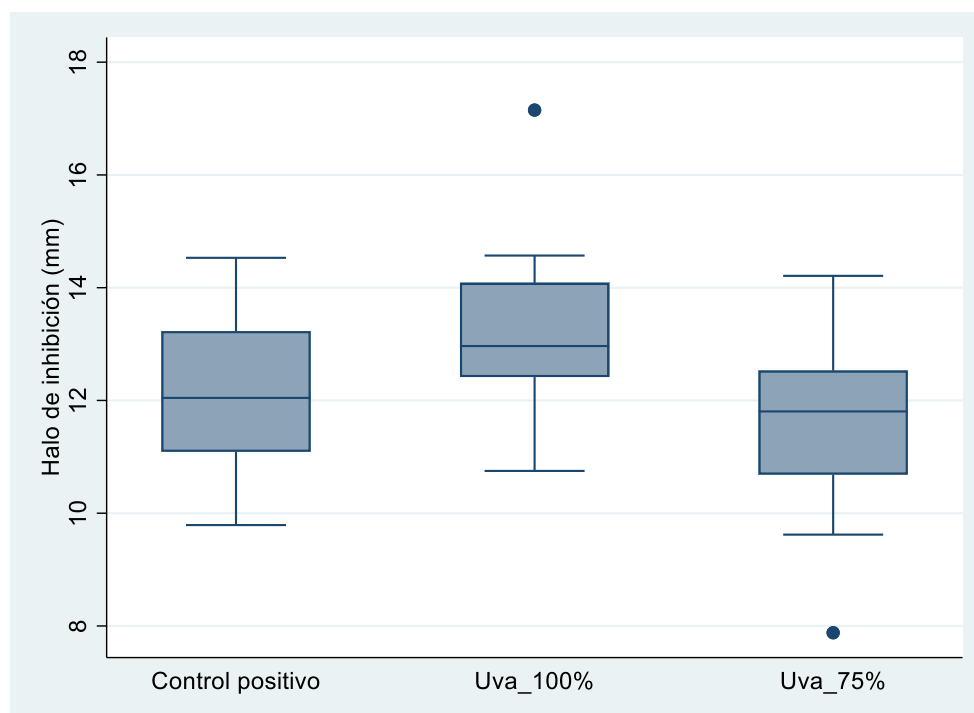


Tabla 3

Efecto antibacteriano del extracto de la semilla de uva (vitis vinífera) 75% y 100% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 - estudio in vitro a las 72 horas

Grupo	n	Promedio	DE	Mediana	Min	Max
Extracto 100%	20	12.5	1.7	12.4	9.6	12.5
Extracto 75%	20	10.5	1.9	10.8	6.0	10.5
Control +	20	11.7	1.3	11.5	9.6	11.7

Nota. Los valores resumidos representan a los diámetros de halo inhibitorio; DE: desviación estándar. El control positivo fue la clorhexidina.

Figura 3

Distribución de los halos de inhibición para Streptococcus mutans generados por extracto de semilla de uva y clorhexidina (control positivo) a 72 horas.

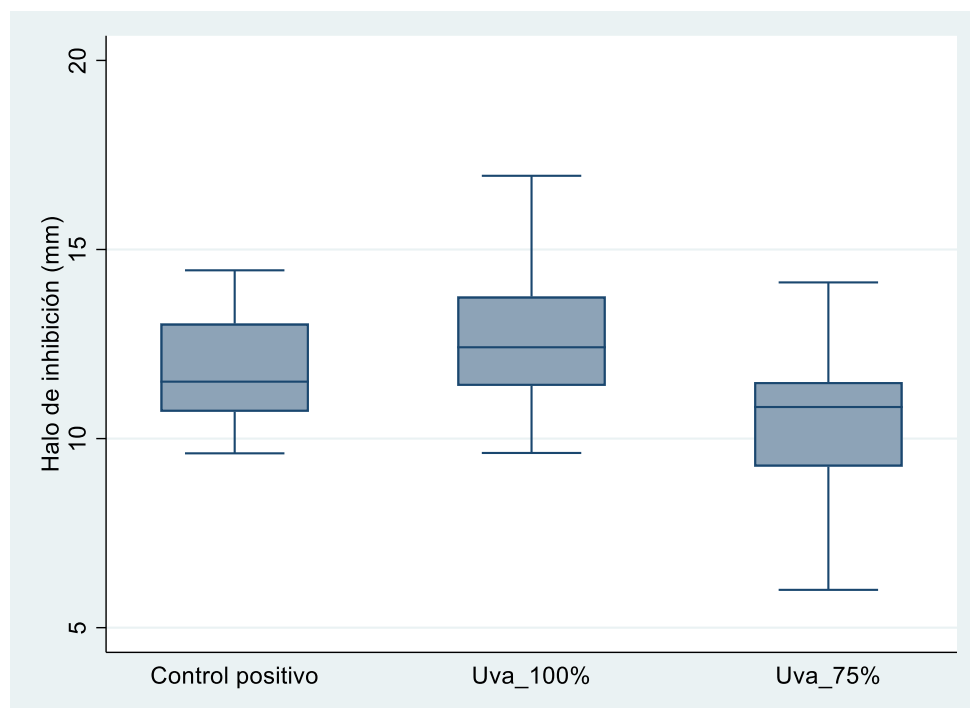


Tabla 4

Comparación del diámetro de halo de inhibición para Streptococcus mutans ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 24 horas

Grupos (I vs J)	Diferencia de medias (I-J)	p-valor^a
Uva 100% vs Uva 75%	1.95	0,001*
Uva 100% vs Control+	1.42	0,015*
Uva 75% vs Control+	-0,53	0,850

Nota. Diferencias significativas ($p < 0.05$); ^aprueba de comparaciones múltiples de Bonferroni (post ANOVA)

Tabla 5

Comparación del diámetro de halo de inhibición para Streptococcus mutans ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 48 horas

Grupos (I vs J)	Diferencia de medias (I-J)	p-valor^a
Uva 100% vs Uva 75%	1.67	0,001*
Uva 100% vs Control+	1.03	0,07
Uva 75% vs Control+	-0,63	0,490

Nota. Diferencias significativas ($p < 0.05$); ^aprueba de comparaciones múltiples de Bonferroni (post ANOVA)

Tabla 6

Comparación del diámetro de halo de inhibición para Streptococcus mutans ATCC 25175, entre extracto de uva al 75% y 100% y control positivo a 72 horas

Grupos (I vs J)	Diferencia de medias (I-J)	p-valor^a
Uva 100% vs Uva 75%	2.08	0,001*
Uva 100% vs Control+	0.84	0,335
Uva 75% vs Control+	-1,24	0,058

Nota. Diferencias significativas ($p < 0.05$); ^aprueba de comparaciones múltiples de Bonferroni (post ANOVA)

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En estos tiempos el empleo de plantas medicinales ha ganado popularidad como opción terapéutica frente a diversas enfermedades provocadas por distintos microorganismos. Nuestro país, rico en biodiversidad botánica, con una geografía favorable y tradiciones ancestrales, promueve el uso de estas plantas; sin embargo, no todas cuentan con respaldo científico suficiente. Por ello, es necesario evaluar la eficacia antimicrobiana de las plantas medicinales presentes en nuestro territorio. Se evaluó, en esta investigación la potencialidad de actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroetanólico de uva (*Vitis vinifera*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados demostraron que el extracto, en diferentes concentraciones, exhibe efectividad antimicrobiana, evidenciada por la formación de halos de inhibición, siendo el mayor halo de 14.5 mm a una concentración del 100% después de 24 horas de incubación. Estos resultados indican que el extracto hidroetanólico de semilla de uva posee compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de *S. mutans*, bacteria asociada a la formación de caries dental. La magnitud del halo de inhibición al 100% de concentración es significativa y comparable a otros estudios que reportan efectos antimicrobianos de extractos vegetales frente a esta cepa. Este efecto podría atribuirse a la presencia de polifenoles, flavonoides y otros metabolitos secundarios conocidos por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes.

Además, la actividad observada en diferentes concentraciones sugiere un efecto dosis-dependiente, lo que refuerza la potencial aplicación del extracto como agente antimicrobiano natural.

En nuestra investigación se evidenció que a mayor concentración del extracto hidroetanólico de uva, se produce un aumento significativo en el tamaño del halo de inhibición. Por ejemplo, a una concentración del 75%, se obtuvo un promedio de 13.5 mm de halo inhibitorio, valor superior al reportado por Navarro (2021) en Trujillo, quien registró un

promedio de 12.67 mm. Sin embargo, los resultados difieren al compararlos con los estudios de Paucar et al. (2021) y Bonifacio U. (2019), quienes reportaron halos de inhibición de 7.9 mm y 22.9 mm respectivamente a concentración del 100%, mostrando una variabilidad que podría atribuirse a diferencias en el método de extracción, la cepa bacteriana o las condiciones experimentales empleadas.

Estas discrepancias resaltan la importancia de estandarizar protocolos y considerar factores como la procedencia botánica, el método de extracción y la concentración utilizada para evaluar la actividad antimicrobiana. Además, la tendencia observada en nuestro estudio, donde el efecto antibacteriano aumenta con la concentración del extracto, es consistente con la literatura que señala un efecto dosis-dependiente en extractos hidroetanólicos de plantas frente a *Streptococcus mutans*.

Respecto a los tiempos de incubación, los resultados obtenidos en este estudio son similares a los reportados previamente por Paucar et al. (2021), quienes observaron que la concentración al 100% del extracto hidroetanólico de semilla de uva presentó su máxima efectividad inhibitoria a las 24 horas, pero esta disminuyó significativamente conforme aumentó el tiempo de incubación, tendencia comparable a la observada en nuestra investigación.

Por otro lado, Mejía y Silva (2019) reportaron halos de inhibición promedio de 12 mm y 13.5 mm para concentraciones del 50% y 100%, respectivamente, valores inferiores a los obtenidos en nuestra investigación. Sin embargo, estos resultados aún superan la efectividad observada para el aceite esencial de chamana, lo que destaca una mayor actividad antibacteriana del extracto de semilla de uva frente a *Streptococcus mutans*.

Estos hallazgos refuerzan la idea de que el extracto hidroetanólico de *Vitis vinifera* posee un efecto antimicrobiano significativo, especialmente a concentraciones elevadas y en las primeras 24 horas de exposición, lo que podría relacionarse con la acción de

sus compuestos bioactivos. La disminución de la actividad con el tiempo sugiere que la estabilidad o la disponibilidad de estos compuestos puede reducirse, aspecto que merece mayor investigación para optimizar su aplicación clínica.

En nuestro estudio, se constató que el extracto hidroetanólico de semilla de uva al 100% generó un halo de inhibición mayor que la clorhexidina al 0.12%, lo cual está en concordancia con la investigación realizada por Espinoza et al. (2018), quienes también reportaron una mayor efectividad del extracto frente a *Streptococcus mutans* en comparación con la clorhexidina. Asimismo, nuestras concentraciones evaluadas mostraron que la del 100% fue la más efectiva, en línea con los hallazgos de Aigaje y Zurita (2017) en Quito, Ecuador, quienes también encontraron un efecto inhibitorio significativo a esta concentración.

No obstante, difiere la respuesta a concentraciones más bajas, ya que Aigaje y Zurita (2017) reportaron que la concentración al 25% tuvo un mayor efecto inhibitorio que la del 50%, mientras que en nuestro estudio la tendencia fue diferente. Esta discrepancia podría explicarse por las diferencias en la composición química del extracto y del aceite esencial empleados, ya que ambos pueden contener distintos ingredientes activos con variaciones en su potencia antimicrobiana.

Estos resultados refuerzan la idea de que el extracto hidroetanólico de semilla de uva posee un efecto antimicrobiano relevante frente a *S. mutans*, incluso superior al de la clorhexidina en ciertas condiciones, aunque la variabilidad en las concentraciones bajas sugiere que la actividad depende no solo de la dosis sino también de la composición específica del extracto. Por ello, es importante considerar la estandarización del método de extracción y análisis fitoquímico para optimizar su aplicación como alternativa natural en el control de la caries dental.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Sí, se puede inferir que el extracto hidroetanólico de semilla de uva a concentraciones del 75% y 100% muestra efectividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Diversos estudios in vitro han demostrado que estas concentraciones generan halos de inhibición significativos, indicando actividad antimicrobiana relevante frente a esta cepa. Por ejemplo, el extracto al 100% ha evidenciado un efecto inhibitorio comparable o incluso superior al de la clorhexidina al 0.12% en algunos casos, especialmente tras 24 a 48 horas de incubación. Se ha comprobado que el extracto hidroetanólico de semilla de uva contiene metabolitos secundarios como taninos, compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales contribuyen significativamente a su acción antibacteriana. En nuestra investigación, se observó a las 24 horas de incubación, el extracto hidroetanólico de semilla de uva al 100% alcanzó un promedio considerable de halo de inhibición, superando incluso al control positivo con clorhexidina al 0.12%, que mostró un menor tamaño de inhibición.

6.2. Estos resultados coinciden con estudios previos que destacan la capacidad del extracto de semilla de uva para impedir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, atribuyendo esta actividad a la abundancia de compuestos bioactivos tales como procianidinas, taninos y flavonoides, reconocidos por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. La eficacia observada a las 24 horas sugiere una acción rápida del extracto, aunque algunos estudios indican que este efecto puede disminuir con tiempos de incubación mayores, lo que podría estar relacionado con la estabilidad de los compuestos activos

6.3. Se infirió que, pasadas las 48 horas de incubación, el extracto hidroetanólico de semilla de uva al 100% alcanzó una mayor media de halo de inhibición, evidenciando una actividad antimicrobiana más pronunciada en comparación con otras muestras. Por otro lado, el extracto hidroetanólico de muña al 75% mostró una menor media de halo de inhibición, indicando una efectividad antimicrobiana inferior en esas condiciones. Se examinó que el

extracto hidroetanólico de semilla de uva al 100% mostró, transcurrida 24 horas, una media significativamente mayor en el diámetro del halo de inhibición frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en contraste con la clorhexidina al 0.12%. Estudios previos respaldan esta observación, indicando que el extracto de semilla de uva posee una eficacia contra microorganismos notable, atribuida a su contenido en metabolitos secundarios como taninos, flavonoides y compuestos fenólicos, que contribuyen a su efecto bactericida.

VII. RECOMENDACIONES

En base a todo lo realizado hay puntos a mejorar en diferentes aspectos que menciono a continuación:

7.1. Optimizar la concentración del extracto: Se recomienda utilizar concentraciones elevadas del extracto hidroetanólico de semilla de uva, preferentemente al 100%, ya que mostró la mayor efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con áreas de crecimiento inhibición comparables o superiores a la clorhexidina al 0.12%.

7.2. Evaluar tiempos de aplicación: Considerar que la mayor actividad antimicrobiana se observa generalmente a las 24 y 48 horas, con una posible disminución posterior, por lo que se sugiere enfocar su uso en tratamientos que aprovechen esta ventana temporal para maximizar su efecto.

7.3. Desarrollar formulaciones seguras y estandarizadas: Dado que el extracto contiene compuestos bioactivos como taninos, flavonoides y compuestos fenólicos, es importante estandarizar los métodos de extracción y dosificación para garantizar la reproducibilidad y seguridad en aplicaciones clínicas o cosméticas.

7.4. Realizar estudios in vivo y clínicos: Para validar su eficacia y seguridad en humanos, se recomienda avanzar hacia ensayos clínicos que evalúen el efecto del extracto en la reducción de riesgo y manejo del proceso cariogénico y otras infecciones bucales, considerando además su tolerancia y posibles efectos secundarios.

7.5. Explorar combinaciones terapéuticas: Investigar la posible sinergia entre el extracto de semilla de uva y otros agentes antimicrobianos convencionales, como la clorhexidina, para potenciar la actividad antibacteriana y reducir la resistencia bacteriana.

7.6. Promover el consumo responsable: En caso de uso como suplemento o producto natural, seguir las recomendaciones de dosis diaria segura, que suelen ser hasta 200 mg diarios repartidos en tomas, para evitar efectos adversos.

7.8. Estas recomendaciones pueden guiar futuras investigaciones y aplicaciones prácticas del extracto hidroetanólico de semilla de uva como opción natural viable en el control de *Streptococcus mutans* y prevención de enfermedades bucales.

VIII. REFERENCIAS

- Aslanimehr, M., Alizadeh, A. y Azmoudeh, F. (2020) The effects of the grape seed extract on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*: An In Vitro Study. *Avicenna Journal of Dental*, 12(2), 35–39. <https://doi.org/10.34172/ajdr.2020.08>
- Bedran-Russo, A, Pauli, G, Chen, S., McAlpine, J., Castellan, C., Phansalkar, R., Aguiar, T., Vidal, C., Napolitano, J., Nam, J. y Leme, A. (2013). Dentin biomodification: Strategies, renewable resources and clinical applications. *Dental Materials*, 30(1), 62–76. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.10.012>
- Belkaid, Y. y Hand, T. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Caicedo, M., Mayorga, F., Montaña, V., Salazar M. y Armas, A. (2018). Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de la cáscara pulpa y semilla de Uva (*vitis vinífera*) sobre *Streptococcus mutans*, estudio in vitro. *Revista KIRU*. 15(2), 77-80. <https://doi.org/10.24265/kiru.2018.v15n2.03>
- Cárdenas, J. L. (2019). *Actividad antibacteriana in vitro de extractos de Mangifera indica L. sobre Staphylococcus aureus ATCC 6538* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/3391>
- Cavalieri, S., Rankin, I., Harbeck, R., Sautter, R., McCarter, Y., Sharp, S., Ortez, J. y Spiegel, C. (2005). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Seattle, Washington; 242 p. <https://www.bd.com/documents/guides/bd-disk-diffusion-manual-es.pdf>
- Chamorro, A., Ospina, A., Arango-Rincón, J. y Martínez, C. (2013). Acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia de *Streptococcus mutans* al diente humano.

Revista CES Odontología, 26(2), 76–106.

<https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2807>

Cui, T., Luo, W., Xu, L., Yang, B., Zhao, W., y Cang, H. (2019). Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen *Streptococcus mutans*. *Current issues in molecular biology*, 32, 601–644. <https://doi.org/10.21775/cimb.032.601>

Cruz, R. y Paster, B. (2017). *Oral microbiome and its role in health and disease*. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1347079. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1347079>

Davis, S., Pissani, F., y Montero, R. (2008). Effects of Commonly Used Topical Antimicrobial Agents on *Acinetobacter baumannii*: An In Vitro Study. *Military Medicine*, 173(1), 74–78 <https://doi.org/10.7205/MILMED.173.1.74>

Elgendi, H. y Hamdy, M. (2022) Antimicrobial Potential of Grape Seed Extract and MTA: A Comparative Experimental Study. *Journal of Medical Sciences*. 10(1),1139-1142. <https://doi.org/10.3889/OAMJMS.2022.8318>

Falcón B. y Falcón G. (2021). Repercusiones en la Cavidad Oral Causadas por la Infección con COVID-19. *International journal of odontostomatology*, 15(1), 23-26. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100023>

Farrag, S., Mostafa, N. y Mohamed E. (2022) Evaluation of the Antibacterial Effect of Grape Seed Extraction *Streptococcus Mutans* in Children. *AL-AZHAR Dental Journal*, 9(4),707–712. <http://doi.org/10.21608/adjg.2022.45912.1304>

Frazier, K., Bedran-Russo, A. y Waller, J. (2010). *The effects of grape seed extract on the properties of demineralized dentin*. *Journal of Dentistry*, 38(6), 481–487. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2010.02.008>

- Hariram,V., Bose, A. y Seralathan, S. (2019). Dataset on optimized biodiesel production from seeds of *Vitis vinifera* using ANN, RSM and ANFIS. *Data in Brief*, 25, 104298.
<https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104298>
- He, J., Li, Y., Cao, Y., Xue, J., y Zhou, X. (2015). The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia microbiologica*, 60(1), 69–80.
<https://doi.org/10.1007/s12223014-0342-2>
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación* (6a. ed.). McGraw-Hill.
<https://www.mheducation.com.mx/metodologia-de-la-investigacion-6ed>
- Heller, D., Helmerhorst, E., Gower, A., Siqueira W., Paster B. y Oppenheim F. (2018) Microbial Diversity in the Early In Vivo-Formed Dental Biofilm. *Appl Environ Microbiol*, 82(6), 1881-8. <https://doi.org/10.1128/AEM.03984-15>
- Hoffman, K., Hutchinson, D., Fowler, J., Smith, D., Ajami, N., Zhao, H., Scheet, P., Chow, W. H., Petrosino, J. y Daniel, C. (2018). Oral microbiota reveals signs of acculturation in Mexican American women. *PloS one*, 13(4), 0194100.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194100>
- Human Microbiome Project Consortium, (2012). Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Jayaprakasha, G., Selvi, T. y Sakariah, K. (2003). *Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifera) seed extracts*. *Food Research International*, 36(2), 117–122.
[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00116-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3)

- Kadri, S., El Ayed, M., Cosette, P., Jouenne, T., Elkhaoui, S., Zekri, S., Limam, F., Aouani, E. y Mokni, M. (2019). Neuroprotective effect of grape seed extract on brain ischemia: a proteomic approach. *Metabolic brain disease*, 34(3), 889–907.
<https://doi.org/10.1007/s11011-019-00396-2>
- Ky, I., Teissedre, P. y Jourdes, M. (2016). *Wine tannins: Structure, properties, and role in wine quality and astringency*. *Molecules*, 21(11), 1519.
<https://doi.org/10.3390/molecules21111519>
- Krom, B., Kidwai, S. y Ten Cate, J. (2014). Candida and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *Journal of dental research*, 93(5), 445–451.
<https://doi.org/10.1177/0022034514521814>
- Lee, S. y Kim, Y. (2014). A comparative study of the effect of probiotics on cariogenic biofilm model for preventing dental caries. *Archives of Microbiology*, 196(8), 601-609.
<https://doi.org/10.1007/s00203-014-0998-7>
- López, M. y Arias, S. (2021). Usos, propiedades nutricionales y evaluación sensorial del amaranto, quinua y subproductos de uva y café. *Ingeniería y Competitividad*, 24(1).
<https://doi.org/10.25100/iyc.v24i1.11000>
- Loyola, J. (2019). *Actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de coca (Erythroxylum coca) y molle (Schinus molle) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio institucional UNFV.
<https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/2819>
- Marsh, P. (1991). Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. *Actas de la Sociedad Dental Finlandesa*, 87(4), 515-525.
<https://doi.org/10.1177/08959374910050010601>

Marsh, P. (1994). Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Advances in Dental Research*, 8(2), 263-271.

<https://doi.org/10.1177/08959374940080022001>

Martin, M., Grao, E., Millan, M. y Montserrat, S. (2020). Grape (*Vitis vinifera* L.) Seed Oil: A Functional Food from the Winemaking Industry. *Foods*, 9(10), 1360.

<https://doi.org/10.3390/foods9101360>

Meléndez, Y., Kuong, N., Rojas, M. y Alvarado, R. (2022). Efecto de distintas Concentraciones de un Gel Experimental a Base de Extracto Etanólico de Semillas de Uva (*Vitis vinifera* L) sobre la Resistencia de Adhesión de Resina Nanohíbrida. *International journal of odontostomatology*, 16(4), 578-583.

<https://doi.org/10.4067/S0718-381X2022000400578>

Mendoza, R., Alvitez, D., Chiong, L., Silva, H., Mauricio, F. y Mayta, F. (2023) Antibacterial Efficacy of *Matricaria recutita* Essential Oil against *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*: In Vitro Study. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 24(8), 551-555. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38193176/>

Milella, R., De Rosso, M., Gasparro, M., Gigante, I., Debiase, G., Forleo, L., Marsico, A., Perniola, R., Tutino, V., Notarnicola, M., Velasco, R. y Flamini, R. (2023). Correlation between antioxidant and anticancer activity and phenolic profile of new Apulian table grape genotypes (*V. Vinifera* L.). *Frontiers in plant science*, 13, 1064023.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1064023>

Mishra, P., Marwah, N., Agarwal, N., Chaturvedi, Y. y Suohu, T. (2019). Comparison of *Punica granatum*, *Terminalia chebula*, and *Vitis vinifera* Seed Extracts used as Mouthrinse on

- Salivary *Streptococcus mutans* Levels in Children. *The journal of contemporary dental practice*, 20(8), 920–927. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2642>
- Muhlack, R., Potumarthi, R. y Jeffery, D. (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. *Waste management*, 72, 99–118. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.011>
- Mosaddad, S., Tahmasebi, E., Yazdanian, A., Rezvani, M., Seifalian, A., Yazdanian, M. y Tebyanian, H. (2019). Oral microbial biofilms: an update. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 38(11), 2005–2019. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03641-9>
- Nakamura, Y., Tsuji, S. y Tonogai, Y. (2003). Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *Journal of Health Science*, 49(1), 45–54. <https://doi.org/10.1248/jhs.49.45>
- Nicolás, T., Ortiz, A., Mendoza V. y García M. (2020). El papel del resveratrol sobre el estrés oxidante inducido por metales pesados. *Nutrición Hospitalaria*, 37(2), 374383. <https://doi.org/10.20960/nh.02846>
- Nordarse, R., Braña, J. y Palacios, I. (2009). Determinación del poder bactericida de la crema de vancomicina al 0,5 % frente a *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 38(3-4)73-78. <https://doi.org/10.1590/S0138-65572009000300008>
- Ojeda, J., Oviedo, E. y Salas, L. (2013). *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES Odontología*, 26(1), 44-56. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2629>

- Quintas, V., Prada, I., Prados, J. y Tomás I. (2018) In situ antimicrobial activity on oral biofilm: essential oils vs. 0.2 % chlorhexidine. *Revista de investigación clínica Oral*, 19(1), 1-11 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24687247/>
- Ravindranathan, P., Pasham, D. y Goel, A. (2019) Oligomeric proanthocyanidins (OPCs) from grape seed extract suppress the activity of ABC transporters in overcoming chemoresistance in colorectal cancer cells. *Carcinogenesis*, 40, 412–421 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30596962/>
- Rodriguez, A. (2022) *Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de las semillas de Vitis vinifera (uva) y Vaccinium corymbosum (arándano) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, Trujillo-2019*. [Tesis de grado, Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote]. <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/28187>
- Sandoval, M., Lazarte, K. y Arnao, I. (2008). Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). *Anales de la Facultad de Medicina*, 69(4), 250–259. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37911928006>
- Santos, C. y Scalbert, A. (2000). Proanthocyanidins and tannin-like compounds—Nature, occurrence, dietary intake, and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094–1117. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7)
- Silva, A., Silva, V., Igrejas, G., Gaivão, I., Aires, A., Klibi, N., Enes, M., Valentão, P., Falco, V. y Poeta, P. (2021). Valorization of Winemaking By-Products as a Novel Source of Antibacterial Properties: New Strategies to Fight Antibiotic Resistance. *Molecules*, 26(8), 2331. <https://doi.org/10.3390/molecules26082331>

- Sharifi, M., Bashtani, M., Naserian, A., Farhangfar, H., y Emami, A. (2018). The effect of grapeseed oil on performance, rumen fermentation, antioxidant status and subcutaneous adipose fatty acid profile in lambs. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(1), 157–165. <https://doi.org/10.1111/jpn.12673>
- Surco F., Ayquipa, H., Quispe, W., García, J. y Valle, M. (2020). Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante de extracto de semillas de uvas residuos de la producción de Piscos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(2), 123131. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v86i2.282>
- Swadas, M., Dave, B., Vyas, S. y Shah, N. (2016) Evaluation and Comparison of the Antibacterial Activity against *Streptococcus mutans* of Grape Seed Extract at Different Concentrations with Chlorhexidine Gluconate: An in vitro Study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 9(3), 181-185
<https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1360>
- Swallah, M., Sun, H., Affoh, R., Fu, H. y Yu, H. (2020). Antioxidant Potential Overviews of Secondary Metabolites (Polyphenols) in Fruits. *International journal of food science*, 2020, 9081686. <https://doi.org/10.1155/2020/9081686>
- Takahashi N. (2015). Oral Microbiome Metabolism: From "Who Are They?" to "What Are They Doing?". *Journal of dental research*, 94(12), 1628–1637. <https://doi.org/10.1177/0022034515606045>
- Trošt, K., Klančnik, A., Mozetič, B., Sternad, M., Jug, K., Raspor, P. y Smole, S. (2016). Polyphenol, antioxidant and antimicrobial potential of six different white and red wine grape processing leftovers. *Journal of the science of food and agriculture*, 96(14), 4809–4820. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7981>

Wade, W. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*, 69(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>

Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., X., Zhou, Y., Cheng, L., Li, M. y Zhou, X. (2015). Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 17(3), 699–710.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.12502>

Zarei, M., Rajabnia, M., Moghadamnia, A., Khafri, S. y Khodadadi, F. (2021). Effect of different Vitis vinifera seed extracts on lactobacillus acidophilus and casei bacteria. *Caspian Journal Dental Research*, 10(1), 42-47
http://cjdr.ir/browse.php?a_id=316&sid=1&slc_lang=en

9.2. Anexo B

9.2.1. Carta de presentación



Universidad Nacional
Federico Villarreal

**FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA**

"Año del Bicentenario de la consolidación de nuestra Independencia
y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO

Pueblo Libre, 24 de mayo de 2024

Doctor
EDUARDO FLORES SUAREZ
DIRECTOR – LABORATORIO DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Presente.-

De mi especial consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, con la finalidad de presentarle al Bachiller en Odontología Srta. Yuky Naomi Anaya Caillahua, quien se encuentra realizando el Plan de Tesis titulado:

**«EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LA SEMILLA DE
UVA (VITIS VINIFERA) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175-
ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2024»**

En tal virtud, mucho agradeceré le brinde las facilidades del caso a la Srta. Anaya quien realizará el siguiente trabajo:

- ✓ *Preparación del extracto de semilla de uva en dos concentraciones y posterior prueba de sensibilidad ante el streptococcus mutans ATCC 25175.*

Estas actividades, le permitirán al bachiller, desarrollar su trabajo de investigación.

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

Atentamente



Dr. FRANCO RAÚL MAURICIO VALENTÍN
DECANO



Dr. AMERICO A. MUNAYCO MAGALLANES
JEFE
OFICINA DE GRADOS y GESTIÓN DEL EGRESADO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Se adjunta: Plan de Tesis
017-2024
NT: 038071 - 2024
AAMM/Luz V.

Calle San Marcos N°351 – Pueblo Libre
e-mail: ogt.fo@unfv.edu.pe

Telef.: 7480888 - 8335

9.3. Anexo C

9.3.1. Constancia de muestra

		UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) MUSEO DE HISTORIA NATURAL	
---	---	--	---

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA N° 100-USM-MHN-2024

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Yuky Naomi Anaya Cuillahua**, egresada de la Universidad Nacional Federico Villarreal ha sido estudiada y clasificada como: *Vitis vinifera* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Vitales Juss. ex Bercht. & J. Presl

FAMILIA : Vitaceae Juss.

GÉNERO : *Vitis* L.

ESPECIE : *Vitis vinifera* L.

Nombre vulgar: "Uva - Borgoña Negra"

Procedencia: Viñedo la Parrita, Calle Santa Rosa 102 - Sunampe, Ica

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 26 de abril de 2024




Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María, Lima, Perú Código postal Lima 15072	Celular: +51 947 245 652 Lunes a Viernes 8:00 - 15:45	e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe https://museohn.unmsm.edu.pe/herbario.html
--	--	---

9.4. Anexo D

9.4.1. Certificado del efecto antibacteriano



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica



CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO – CCA

INFORME DE ANÁLISIS N° 0001-CCA-2024

**ASUNTO: INFORME ADICIONAL RESPECTO AL REPORTE DE ANÁLISIS
N° 273-CCA-2024**

Por la presente, se realizó el informe de análisis N° 001-2024 a solicitud del cliente para realizar la medición de los halos generados por la disminución de carga microbiana con la cepa *Streptococcus mutans* con el extracto hidroetanólico de semilla de uva, que se pudo observar en el análisis realizado.

EFICACIA ANTIMICROBIANA

MICROORGANISMO	EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLA DE UVA			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 24 horas			
	Control positivo	Control negativo	100%	75%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	14.27	6	14.45	12.75
	10.97	6	13.49	11.85
	12.30	6	15.02	13.15
	10.99	6	14.78	13.21
	13.36	6	11.03	10.70
	13.77	6	14.04	13.78
	12.33	6	13.80	11.21
	13.68	6	13.11	11.65
	10.35	6	13.55	11.78
	15.23	6	15.48	13.44
	12.30	6	17.70	13.76
	12.03	6	16.39	13.84
	14.19	6	14.41	14.23
	13.80	6	11.75	8.26
	16.58	6	13.66	11.44
	12.43	6	15.76	14.01
	14.55	6	14.47	13.11
	11.25	6	15.40	13.02
	12.06	6	14.17	11.69
	14.22	6	16.59	13.26



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 619-7000 anexo 42946135
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe

<http://farmacia.unmsm.edu.pe>

CS CamScanner



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
 Universidad del Perú. Decana de América
 Facultad de Farmacia y Bioquímica



MICROORGANISMO	EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLA DE UVA			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 48 horas			
	Control positivo	Control negativo	100%	75%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	13.50	6	12.98	12.20
	9.79	6	12.70	11.62
	11.87	6	14.57	12.46
	10.59	6	13.82	13.15
	12.56	6	10.75	9.62
	13.24	6	11.73	10.49
	11.56	6	13.23	10.46
	13.19	6	12.42	11.24
	9.92	6	12.95	10.14
	14.53	6	14.06	12.51
	11.80	6	17.15	12.77
	11.72	6	13.61	12.37
	13.83	6	14.29	14.21
	13.22	6	11.46	7.88
	14.21	6	12.93	10.88
	11.76	6	11.76	10.91
	13.01	6	12.41	11.99
	10.57	6	14.52	12.69
	10.62	6	12.94	10.92
	12.22	6	14.11	12.55

INFORME DE ANÁLISIS N° 001-CCA-2024



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 619-7000 anexo 401-949325 Lima 1
 E-mail: sca.farmacia@unmsm.edu.pe

<http://farmacia.unmsm.edu.pe>

CS CamScanner



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica



MICROORGANISMO	EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE SEMILLA DE UVA			
	Longitud de halos de inhibición (mm) – 72 horas			
	Control positivo	Control negativo	100%	75%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	13.09	6	12.06	11.43
	9.72	6	12.07	11.34
	11.01	6	14.13	12.37
	10.41	6	13.16	13.10
	12.19	6	10.17	9.17
	13.10	6	11.16	10.03
	11.52	6	9.62	8.60
	13.14	6	12.22	9.73
	9.61	6	12.61	6
	14.45	6	13.83	11.59
	11.55	6	16.95	11.13
	11.49	6	12.90	10.90
	12.99	6	13.92	14.13
	11.33	6	11.25	7.78
	13.45	6	12.10	10.35
	11.23	6	11.54	10.77
	11.46	6	10.86	9
	10.37	6	14.06	11.56
	9.94	6	12.64	9.35
	12.18	6	13.68	11.04

- El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida, indica que no hay formación de halos de inhibición.
- *Concentración del Inóculo:* 1×10^8 UFC/mL
- *Control Positivo:* Perio-Aid (Brindado por el cliente)
- *Control Negativo:* Suero fisiológico.

INFORME DE ANÁLISIS N° 001-CCA-2021


Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano
Director del Centro de Control Analítico
Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada.



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 619-7000 anexo 4
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe

<http://farmacia.unmsm.edu.pe>

CS CamScanner

9.5 Anexo E

9.5.1. Certificado de calidad del Agar

34762



Page 1 of 3

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g

LOT NUMBER 3379958

EXPIRY DATE 2026.10.20

DATE OF MANUFACTURE 2021.10.22

Delivery/Customer information

Date Printed
2022.03.15

Delivery No.

Customer
Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.2	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance to, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034
Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	27	22 - 30
Tetracycline TE30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	24	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	33	29 - 37
Linezolid LZD30	29	25 - 32
Cefoxitin FOX30	27	23 - 29
Gentamicin CN10	24	19 - 27
Penicillin P10	33	26 - 37

Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131
Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Penicillin P1	14	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	27	23 - 29
Gentamicin CN10	20	19 - 25
Linezolid LZD10	25	21 - 27
Tetracycline TE30	25	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 00914

9.6. Anexo F

9.6.1. Matriz de consistencia

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de semilla de uva (vitis vinífera), sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 – estudio in vitro?	Evaluar el efecto antibacteriano del extracto de semilla de Uva (<i>Vitis vinífera</i>) al 75 y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - estudio in vitro. -Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de Uva (<i>Vitis vinífera</i>) 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% - estudio in vitro a las 24 horas. -Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de Uva (<i>Vitis vinífera</i>) al 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% - estudio in vitro a las 48 horas. - Determinar el efecto antibacteriano del extracto de la semilla de Uva (<i>Vitis vinífera</i>) al 75% y 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 y la clorexhidina al 0.12% - estudio in vitro a las 72 horas.	Existe actividad antibacteriana significativa de extracto de semilla de uva (<i>vitis vinífera</i>), sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Variable independiente: Extracto de semilla de uva (<i>vitis vinífera</i>) Variable dependiente: Efecto antibacteriano Interviniente: Tiempo Clorhexidina	Diseño de la investigación: Experimental Comparativo Longitudinal Prospectivo Población: Placas Petri, inoculadas en <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Muestra: 20 placas Petri