



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ARCILLA DE HIDRALGIRITA
(*CHAQO*) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE TIMOL EN LA
INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Streptococcus mutans*, PUNO
2021**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. THALIA MARGOTH SANCA APAZA

Bach. HENRRY RICAR HUARACHI ITO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2023



DEDICATORIA

A Dios, quien ha sido mi guía y mi fortaleza durante este largo camino y me ha llenado de bendiciones para alcanzar uno de mis objetivos.

A mis padres Eugenio y Julia por ser los pilares principales en mi formación como profesional, que desde pequeña me inculcaron la disciplina de estudiar y luchar por mis sueños, también por brindarme la confianza, consejos y oportunidades.

A mis hermanos Hayde, Luis Fernando y Wladimir quienes con sus palabras de aliento me impulsan a siempre ser perseverante y no decaer.

Thalia Margoth Sanca Apaza



DEDICATORIA

Principalmente a DIOS, por guiar mis pasos hacia un camino donde conocí personas que me hicieron vivir bellos momentos y experiencias y los nuevos lugares y sueños que aún hay por conocer y por cuidar de mi familia que son lo más valioso que tengo.

A mi papá Felipe Santiago y a mi mamá Rosa por ser el pilar de mi educación y de mis valores que me inculcaron desde pequeño, por el tiempo que me dedicaron para cuidarme y enseñarme el valor de la vida que hay tener con nuestros semejantes.

A mis hermanos Hayde, José Luis y Ana Luz que son mis cómplices en mis logros y vivencias y por darme su cariño y compartir sus experiencias que me ayudan a seguir adelante.

A mi abuelita Nicolasa por orar siempre por nosotros y por compartir sus conocimientos de medicina natural.

A mis amigos que me permitieron formar parte de sus vidas y ser parte de la mía.

Henry Richar Huarachi Ito



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestra Universidad Nacional del Altiplano quien nos brindó la oportunidad de culminar nuestros estudios.

A la Escuela Profesional de Odontología y a sus docentes por ser nuestros guías y brindarnos sus enseñanzas y conocimientos durante nuestra formación profesional.

Queremos expresar nuestra gratitud a nuestro director/asesor Mg. Gian Carlo Valdez Velazco por su gran ayuda y colaboración en cada momento de consulta y por ser el soporte de este trabajo de investigación.

Agradecer al Licenciado Lorgio Palacios Frisancho de la Facultad de Medicina Humana, por brindarnos su tiempo y paciencia durante el proceso de ejecución y culminación de esta tesis.

De igual manera agradecer a nuestros miembros del jurado Dr. Hernán Freddy Ortega Cruz, Dra. Nelly Beatriz Quispe Maquera y Mg. Emmanuel Luque Merma, por sus valiosos aportes y sugerencias para la culminación de esta tesis.

Thalia Sanca y Henry Huarachi



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ACRONIMOS

RESUMEN 12

ABSTRACT..... 13

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 16

1.1.1 Formulación del problema..... 17

1.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN 17

1.2.1 Hipótesis de investigación(H1) 17

1.2.2 Hipótesis nula(H0)..... 18

1.3 OBJETIVOS..... 18

1.3.1 Objetivo general 18

1.3.2 Objetivos específicos..... 18

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES..... 20

2.1.1 Antecedentes internacionales 20

2.1.2 Antecedentes nacionales..... 23

2.1.3 Antecedentes locales 25



2.2 MARCO TEÓRICO	26
2.2.1 Caries dental	26
2.2.1.1 Definición:	26
2.2.1.2 Factores causantes de la caries dental	27
2.2.2 Streptococcus mutans	28
2.2.2.1 Definición	28
2.2.2.2 Taxonomía	28
2.2.2.3 Factores de virulencia	28
2.2.2.4 Medio de cultivo	29
2.2.3 Antimicrobianos orales	30
2.2.3.1 Clorhexidina	30
2.2.3.2 Aceites esenciales	30
2.2.4 Arcillas	32
2.2.4.1 Tipos de arcilla	33
2.2.4.2 Arcilla de hidalgirita (<i>chaqo</i>)	34
2.2.5 Fitoterapia	37
2.2.5.1 Timol	37

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN	41
3.1.1 Ámbito general:	41
3.1.2 Ámbito específico	41
3.2 PERIODO DE DURACIÓN	41
3.3 TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN	42
3.3.1 Diseño de la investigación	42



3.3.2 Tipo de investigación	42
3.3.3 Nivel de investigación: Aplicativo	42
3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA	42
3.4.1 Población	42
3.4.2 Muestra	42
3.4.3 Caracterización de la muestra.....	43
3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	43
3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	45
3.7 MATERIALES.....	45
3.8 PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	47
3.8.1 Obtención de la arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>).....	47
3.8.2 Obtención del aceite esencial de timol	48
3.8.3 Obtención de las muestras y productos de experimentación.....	48
3.8.4 Preparación del medio de cultivo para aislamiento de <i>Streptococcus mutans</i>	49
3.8.5 Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de difusión en agar según Kirby Bauer	51
3.8.6 Preparación de agar Mueller Hinton.....	52
3.8.7 Inoculación de las placas Petri por el método de Estrías Por Agotamiento ...	52
3.8.8 Aplicación de los discos de difusión por el método de Kirby Bauer	52
3.8.9 Incubación	53
3.8.10 Lectura del halo de inhibición y recolección de los resultados	53
3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	53
3.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS	54



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS	55
4.2 DISCUSIÓN	69
V. CONCLUSIONES	72
VI. RECOMENDACIONES	74
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXOS	80

Área: Fitoterapia y microbiología oral

Línea: Biología, crecimiento y desarrollo craneofacial

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 13 de enero del 2023



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> a las 24 horas.	55
Tabla 2.	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> a las 48 horas.	57
Tabla 3.	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> a las 24 horas.	59
Tabla 4.	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus Mutans</i> a las 48 horas.	61
Tabla 5	Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del grupo de la clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas.	63
Tabla 6.	Comparación del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas.	65
Tabla 7.	Comparación del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> a las 48 horas.	67



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Constituyentes textuales de las arcillas (base de cálculo 100g).....	35
Figura 2.	Composición química de la arcilla Chaqo por zona y tratamiento, en cuatro distritos de la región de Puno, Fuente: Roque L. 2017	35
Figura 3.	Estructura química del timol, Fuente: García, R. Palou, E 2008(40).	37
Figura 4.	Datos fisicoquímicos del timol, Fuente: García, R. Palou, E 2008	38



ÍNDICE DE ACRONIMOS

- **FMH:** Facultad de Medicina Humana
- **INS:** Instituto Nacional de Salud
- **OPS:** Organización Panamericana de la Salud
- **MINSA:** Ministerio de Salud
- **SIS:** Sistema de Información en Salud
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **GE:** Grupo experimental
- **LI:** Límite inferior
- **LS:** Límite superior
- **GC:** Grupo control



RESUMEN

El *Streptococcus mutans* es una de las bacterias más importantes involucradas en la génesis de caries dental, en diferentes regiones se ha investigado varios tratamientos alternativos para su prevención, uno de ellos es la arcilla de hidralgirita y el aceite esencial de timol que tienen diversas propiedades terapéuticas, así pues el **objetivo** de la presente tesis fue evaluar *in vitro* la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) así como el aceite de timol para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, Puno 2021, para los **materiales y métodos** se planteó una metodología con enfoque cuantitativo, de alcance aplicativo, prospectivo, de corte longitudinal y con un diseño cuasi experimental. Se cultivó n=50 placas Petri y en cada una de las placas fueron distribuidos 6 discos de papel filtro, aplicando el sistema de difusión por disco de Kirby Bauer, dando como resultado un total de 300 discos. Las cajas Petri fueron divididas en 10 conjuntos según las concentraciones de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), y aceite esencial del timol, además se consideró a la clorhexidina a 0.12% como control positivo y como control negativo el agua destilada. Así mismo se midió los halos inhibitorios a las 24h y 48h. Dando como **resultado** que la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) y el aceite esencial de timol presentan diferencias estadísticamente significativas $p=0.00$ entre ambas mediciones, según los análisis no paramétricos H de Kruskal-Wallis, resultando que el mejor efecto se registró en la aplicación de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 100% a las 24 horas. **Concluyendo** que la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) tiene mejor efecto inhibitorio en comparación al aceite esencial de timol y al control positivo en sus diferentes concentraciones a las 24h y 48h sobre *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: Arcilla de hidralgirita, aceite esencial, timol, inhibición, *Streptococcus mutans*.



ABSTRACT

Streptococcus mutans is one of the most important bacteria involved in the genesis of dental caries, in different regions several alternative treatments have been investigated for its prevention, one of them is hydralgyrite clay and thymol essential oil that have various therapeutic properties. Therefore, the **objective** of this thesis was to evaluate in vitro the hydralgyrite clay (*CHAQO*) as well as the thymol oil to inhibit the growth of *Streptococcus mutans*, Puno 2021, for the **materials and methods** a methodology with a quantitative approach was proposed, of application scope, prospective, longitudinal cut and with a quasi-experimental design. N=50 Petri dishes were cultivated and 6 filter paper discs were distributed in each of the plates, applying the Kirby Bauer's disc diffusion system, resulting in a total of 300 discs. The Petri dishes were divided into 10 sets according to the concentrations of hydralgyrite clay (*CHAQO*), and thymol essential oil; 0.12% chlorhexidine was also considered as a positive control and distilled water as a negative control. Likewise, the inhibitory halos were measured at 24h and 48h. Giving as a **result** that the hydralgyrite clay (*CHAQO*) and the thymol essential oil present statistically significant differences $p=0.00$ between both measurements, according to the Kruskal-Wallis H non-parametric analysis, resulting in the best effect being recorded in the application of 100% hydralgyrite clay (*CHAQO*) after 24 hours. **Concluding** that hydralgyrite clay (*CHAQO*) has a better inhibitory effect compared to thymol essential oil and the positive control in its different concentrations at 24h and 48h on *Streptococcus mutans*.

Keywords: Hydralgyrite clay, essential oil, thymol, inhibition, *Streptococcus mutans*.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus mutans* es considerado como el microorganismo más importante asociado con las etapas iniciales de la caries dental, el cual se constituye como el principal agente cariogénico de la cavidad oral y el más interesante a estudiar en todos los aspectos, en especial en aquellos que conducen a diseñar medidas de prevención y control encaminadas hacia la disminución o eliminación de esta bacteria en la cavidad oral(2).

Según la OMS, la caries es un problema de salud pública que afecta más a menudo a los países en vías de desarrollo. Así mismo, menciona que un 60 a 90%, de escolares del mundo padecen de caries dental, y que, por su alto costo económico, supera la capacidad del sistema de salud. (2)

En el Perú según las cifras proporcionadas por el Sistema de Información en Salud (SIS), detallan que más del 60% de los niños mostraron caries dental, la cifra se eleva al 70% en los escolares y adolescentes, y más del 98% en adultos. Esto se debe a la falta de un tratamiento oportuno y apropiado(3).

En la actualidad según los datos estadísticos obtenidos de la Red de Salud Puno, mencionan que más del 95% de la población de Puno presentan caries dental(4).

Se han desarrollado diversos productos antibacterianos de origen sintético para prevenir de la caries dental, por ese motivo, el uso de esencias de origen natural se ha incrementado en los últimos años con el fin de tratar numerosas enfermedades presentes en la cavidad oral(5).

El timol es un componente de varios aceites esenciales extraídos del tomillo, orégano y ajedrea, que en concentraciones del 1 % al 2 %, presentan un gran potencial



antioxidante y antibacterial frente a bacterias grampositivas(6).

El *cha'go* es una arcilla medicinal comestible, que desde épocas precolombinas se consume por los pobladores del altiplano Peruano - Boliviano, muy apreciadas para tratar los síntomas de las enfermedades digestivas, además poseen propiedades antisépticas, bactericidas y Cicatrizantes, el cual favorece a la rápida regeneración de los tejidos(7).

El presente trabajo de investigación en los términos mencionados aún no fue realizado, y existen escasos antecedentes de interés, con diferentes enfoques específicos. Por lo tanto, la finalidad de esta investigación es crear una base científica de un tratamiento alternativo e innovador para enfrentar la caries dental, mediante el uso de un fitofármaco como es el aceite esencial de timol y un recurso mineral como es la arcilla de hidralgirita, que es de bajo costo y uso tradicional(5).

De esta manera el propósito de este trabajo investigativo fue evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgirita(*chaqo*) y del aceite esencial del timol sobre la bacteria *Streptococcus Mutans*, ya que si se demuestra su actividad antimicrobiana de origen natural se estarían planteando alternativas económicas, al alcance de todos, de pocos efectos colaterales y, por lo tanto, de mayor aceptación por la población.



1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental es una enfermedad caracterizada por la destrucción de los tejidos duros de los dientes como consecuencia de la desmineralización provocada por los ácidos formados en la placa bacteriana(8). El microorganismo más importante implicado en esta patología es el *Streptococcus mutans* (9). Según la OMS, aproximadamente 3.500 millones de personas en todo el mundo sufren de enfermedades bucales. Se estima que 2300 millones de personas sufren de caries en dientes permanentes, y más de 530 millones de niños sufren de caries en los dientes temporales(2).

La salud bucal es un importante problema de salud pública en el Perú, y requiere un enfoque integral de la misma, utilizando medidas preventivas y de promoción de la salud bucodental. Según un reporte del MINSA en el 2019, el 90.4% de los peruanos presentan caries(3). Los departamentos con un alto índice de caries son: Cusco con un 97.2%, Huancavelica con 98.3%, Ica con un 98.8% y con un mayor porcentaje Ayacucho con un 99.8%. El índice CPOD a nivel nacional es de 5,84, ubicándose como un País en estado de emergencia según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (10).

Así mismo la región de Puno no está ajena a presentar grandes cifras de caries, según la Dirección Regional de Salud Puno (DIRESA-PUNO) en base a los datos estadísticos que presenta, más del 90% de la población puneña padece de caries dental, es por ello que el conocimiento científico actual en odontología enfatiza la prevención y el diagnóstico inmediato de las patologías orales, en particular las más prevalentes(4).

Existen diferentes métodos para prevenir la caries dental como es el uso de agentes antimicrobianos como la clorhexidina, que es coadyuvante importante en la primera fase de los tratamientos de las enfermedades orales; sin embargo, el uso prolongado o excesivo tiene efectos adversos en el organismo y en la estética de los



dientes(11). A todo esto, la medicina natural, incorpora una serie de alternativas para prevenir las patologías bucodentales, que a su vez son más accesibles y económicos.

La medicina tradicional es un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo, aunque no existen datos exactos para estimar el alcance del uso global, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para tratar enfermedades y la mayoría de estos tratamientos lleva consigo el uso de plantas o sus principios activos(2).

En el Perú se han realizado numerosos estudios recientes sobre diversas plantas medicinales, que confirmaron sus propiedades antibacterianas, analgésicas, antiinflamatorias y antihemorrágicas (12).

Entre ellos la arcilla de hidralgirita (*Chaqo*) y el aceite esencial de timol tienen una amplia utilización desde épocas antiguas por sus propiedades curativas tales como: antiinflamatorio y antiinfecciosa, lo que proporcionaría una fuente alternativa de prevención de la caries dental. Por estas razones, resulta importante realizar esta investigación, el cual pretende evaluar el efecto inhibitorio de la arcilla de hidralgirita (*Chaqo*) y del aceite esencial de timol sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, ya que, por los antecedentes reportados, es de fácil acceso y de pocos efectos colaterales.

1.1.1 Formulación del problema

¿Cuál será la capacidad de inhibición *in vitro* de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) y del aceite esencial de timol frente a cepas de *Streptococcus mutans*, Puno 2021?

1.2 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1 Hipótesis de investigación(H1): Al evaluar *in vitro* la arcilla de hidralgirita (*Chaqo*) es mayor al aceite esencial de timol en la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans*.



1.2.2 Hipótesis nula(H0): Al evaluar *in vitro* la arcilla de hidralgiritita (*Chaqa*) no es mayor al aceite esencial de timol en el crecimiento *in vitro* de *Streptococcus mutans*.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar *in vitro* la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) y el aceite esencial de timol en la inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans*, Puno 2021.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 24 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 48 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 24 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 48 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* en el grupo de la clorhexidina al 0.12 % frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.
- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* del grupo de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12 % frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 24 horas.



- Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* del grupo de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12 % frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 48 horas.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Antecedentes internacionales

Ramírez G et al. (2020). Se efectuó una revisión bibliográfica en la Paz, Bolivia teniendo el título de “*Phasa: todo sobre la arcilla comestible*” con el fin de comprobar nuevos métodos de terapia con origen natural e interpretarlo posteriormente al entendimiento sobre una base científica. Se presentó una investigación tipo descriptiva, donde realizaron una serie de búsquedas bibliográficas dentro de: Medline plus, Google académico, Mediagraphic, Lilacs, Scielo y Pubmed; Se obtuvieron 62 resultados y se seleccionaron 42 debido a la relevancia en la medicina. Sus resultados revelaron una variedad de cualidades que dispone la *phasa*, lo que acredita su ingesta por anteriores culturas a manera de una medicina alternativa. Dentro de los artículos mencionados se evidenció que la utilización de arcilla mediante aplicación tópica posee efectos antibacterianos. Concluyeron que la arcilla se ha utilizado como tema de diversos estudios. Aun existiendo pruebas acerca de los beneficios en nuestra salud, no se encuentran investigaciones suficientes acerca de efectos negativos perjudiciales para el bienestar de la comunidad(13).

Eraza M. et al (2017) Efectuó un estudio en Ecuador “*Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de Streptococcus mutans*” con la finalidad de observar su efecto antimicrobiano comparándolo contra clorhexidina al 0,12 % con respecto a *Streptococcus mutans*. Efectuó evaluaciones de susceptibilidad en cultivos de *Streptococcus mutans* usando discos empapados con eugenol, timol, quitosano, cinamaldehído, a 0,1 y 1%, y clorhexidina al 0,12 % posteriormente se



examinaron las zonas inhibitorias presentes a las 24h y 48 h. Se demostró un elevado desarrollo de *Streptococcus mutans* en la aplicación de cinamaldehído al 1 % presentando halos inhibitorios de 19,91 mm y 24,44 mm durante las 24 h y también 48 h. Al compararse el cinamaldehído al 1 % contra la clorhexidina a 0,12% cómo control positivo, no se apreció significativas diferencias. Concluyendo que el cinamaldehído al 1 % presentó resultados mejores, continuados por el timol, eugenol y quitosano, en comparación con la clorhexidina al 0,12 % tanto a las 24h como a las 48 h(6).

Ayala J. et al (2019) En Ecuador se realizó una investigación denominada “*Efecto antimicótico del timol sobre cepas de Candida albicans: estudio in vitro*” con el objetivo de evaluar el efecto antimicótico que tiene el timol a 0,1, 0,5 y 1 % cómo concentración, en contra de cultivos de *Candida albicans* examinadas a 48 horas de haber sido incubadas, sometidas a una comparación contra nistatina y también con clorhexidina al 0,12 %. La actividad antimicótica del timol se demostró con base del diámetro presente en los halos inhibitorios junto con criterios de susceptibilidad según la escala de Duraffourd, realizado mediante el método de pozos de difusión dentro de agar usando 25 cajas de Petri que contenían cultivos de *Candida albicans* ATCC®10231, cada una de las placas presentaron 3 tiras de papel filtro empapados con timol a 0,1 %, 0,5 % y 1 %, también nistatina en suspensión y por último gluconato de clorhexidina a una concentración de 0,12 %. Dentro de los resultados evidenciaron que el timol en concentraciones de 0,5 y 1 % demostraron un impacto inhibitorio mejor que las sustancias usadas como control. Concluyendo que el timol tiene un mayor resultado inhibitorio que el gluconato de la nistatina y clorhexidina sobre células de *Candida albicans*, siendo una alternativa a comparación de fármacos habituales(14).

Jafri H. (2019) En la ciudad de Aligarh, India. realizaron un estudio con el título “*Thymus vulgaris essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically*”



with antifungal drugs against drug resistant strains of Candida albicans and Candida tropicalis” ésta investigación tuvo como propósito evaluar el aceite volátil de tomillo (*Thymus vulgaris*) junto con su principal componente el timol. Se determinó en placa de microtitulación de 96 pocillos mediante el ensayo de reducción de XTT, se analizó mediante microscopía electrónica de luz y de barrido. Los estudios revelaron la desagregación y la forma distorsionada de las células de la biopelícula de *Candida albicans* y la reducción de la formación de hifas en las células de la biopelícula de *Candida tropicalis* con sub-MICs de timol. Se concluye que el aceite de tomillo y el timol solos o en combinación con fármacos antifúngicos pueden actuar como prometedores agentes antibiofilm contra las cepas resistentes a los medicamentos de las especies de *Candida*(15).

Erazo M. (2017) En Ecuador se realizó una investigación denominada “*efecto antimicrobiano del timol sobre cepas de Streptococcus mutans: estudio in vitro*” con la finalidad de determinar el efecto antimicrobiano que tiene el timol a 0.1 y 1 % durante las 24h y 48h. En contra de *S. mutans* ATCC 35668 puesto a comparación con la clorhexidina a 0,12%. Se conformó la muestra a base de 12 cajas de Petri donde se cultivaron *Streptococcus mutans*, posterior a esto 20 µL de timol a 0.1 y 1%, también clorhexidina a 0.12%, siendo empleada como un control positivo, así mismo se dispusieron 3 discos de papel filtro, distribuyéndose dentro de cada placa Petri, posterior a ello se realizó los registros de las zonas inhibitorias, estos fueron realizados durante las 24 y 48 horas. Dentro de los resultados mostraron una mejor acción inhibitoria por parte del timol con una de concentración del 1% continuada por la clorhexidina a 0.12%, y también el timol a 0,1%, en la totalidad se evidenció resultados superiores a las 48h. Concluyéndose que el timol con una concentración de 1 % mostró mejor acción que la



clorhexidina al 0.12% y también con el timol al 0.1 % sobre cultivos de *streptococcus mutans* ATCC 35668 durante las 24 y 48 horas(16).

Schovelin A. et al (2018) En Chile se realizó una investigación de título “*Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (Origanum vulgare) sobre el crecimiento in Vitro de Streptococcus mutans*” el objetivo presente en este estudio fue evaluar la acción antibacteriana del orégano con concentraciones diferentes en contra del desarrollo de *Streptococcus mutans* de forma *in vitro*. Cultivaron 24 cajas Petri usando el *agar a base de mitis salivarius*. Así mismo dispusieron infusiones a base de orégano en 8 diferentes concentraciones (1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 40 %, 60 %, 80 % y también 100 %). Previamente se administraron en perforaciones elaboradas en cajas de agar (4 orificios para las placas de infusiones con base de orégano y 2 agujeros destinadas a los controles). Luego se introdujo en una incubadora durante 48h. Mostrando como resultados contrarios por parte de las infusiones con base de orégano en concentración del 1 %, 5 % y 10 %, en vista que no mostraron halos inhibitorios; mientras tanto para el 20 %, 40 %, 60 %, 80 % y 100 % teniendo resultados positivos. Concluyendo que el orégano tiene una acción antibacteriana en contra del crecimiento de *Streptococcus mutans* usando una concentración mayor al 20 %, por lo cual es conveniente preparar partiendo por 20 gramos de hojas de orégano secas y 200 ml de agua destilada(17).

2.1.2 Antecedentes nacionales

Huacasi G.(2016) Efectuó un estudio en Arequipa, Perú denominado “*Efecto de la arcilla de hidralgirita y de la clorhexidina en el crecimiento de porphyromona gingivalis, e identificación molecular en pacientes con periodontitis crónica de la especialidad de periodoncia e implantología*”, este estudio tuvo el objetivo de evaluar *in vitro* la acción que tiene la arcilla de hidralgirita con una concentración de 0.25%, 0.5%, 1% y 2.5% y clorhexidina a 0,12% sobre el desarrollo de *Porphyromona gingivalis* así



mismo realizar una comparación de la respuesta de los dos estímulos. Utilizaron cepas purificadas y liofilizadas de *Porphyromna gingivalis* ATCC 33277. Teniendo la muestra con una base de *Porphyromna gingivalis* de los respectivos tubos, en donde se le agregaron 1000 ul de CINA al 0.9% esteril. Transfiriendo a un tubo eppendorf usando una micropipeta de 1000 ul. Para la evaluación del efecto de la arcilla de hidralgirita en contra de *Porphyromona gingivalis* se le añadió a cada placa 100 ul de muestra solubilizada en 4 concentraciones diferentes 0,25%, 0,5%, 1% y 2,5%. Almacenándose dentro de jarras de anaerobiosis, colocando dos placas en cada una de las jarras, luego se colocó en la incubadora a 37 °C. Sus evidencias mostraron que la arcilla con base de hidralgirita posee un efecto beneficioso en contra del desarrollo de *Porphyromona gingivalis* ATCC, desde una concentración de 0,5% y no existe significativas diferencias en contra del crecimiento de *Porphyromona gingivales* ATCC entre la arcilla con base de hidralgirita desde una concentración del 0,5% y la clorhexidina al 0,12%. Pudiendo concluir que la arcilla de hidralgirita posee un efecto similar al que tiene la clorhexidina al 0,12% en contra del crecimiento de *Porphyromona gingivalis* ATCC 33277 de manera *in vitro*(18).

Dániza M. (2019) Realizó una investigación denominada “*El cchacco: composición físico-química y uso alimentario*” en Tacna, Perú, con el objetivo de aprender más acerca las propiedades químicas y físicas de este producto, y proponer la calidad sanitaria de éste mismo, también formular una mezcla que tenga cchaco. Los componentes analizados fueron: sólidos totales 92,21%, humedad 7,78%, cenizas 91,80%, proteína 0,0174%, nitrógeno 0,0028%, densidad de carga 0,6936 gr/ml y pH de 6. Asimismo, se encontró glucosa 225mg%, creatinina 3,58 mg% y restos de vegetales. Concluyendo que el análisis de tipo microbiológico del *cchacco* demostró que su consumo aún con las condiciones de manipuleo, no produce enfermedades con una



etiología microbiana; entonces, su calidad sanitaria es estable y óptima, sin la necesidad de la adición de ningún conservador.(19).

Arévalo L. et al.(2016) En Lima, Perú en su estudio “*efecto de la arcilla medicinal en quemaduras de segundo grado en pacientes del Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren*” tuvo como finalidad evaluar la acción del tratamiento con una base de arcilla medicinal, sobre pacientes con una quemadura de segundo grado. Se realizó un estudio preexperimental. Al ingreso al hospital se efectuó geoterapia con la arcilla medicinal gris Luvus continuando el proceso de evolución de la quemadura durante cinco semanas. Evaluando el factor que produjo la quemadura; sexo y edad del paciente; la ocurrencia; el momento de llegada al nosocomio; variables clínicas presentes en la quemadura como los signos, lugar y síntomas; las evidencias durante el primer día de haberse realizado el tratamiento y del proceso evolutivo inflamatorio. Se examinó a 42 pacientes entre edades de 23 y 82 años. Así mismo el 61,9% eran mujeres. Por otro lado, el 81% de quemaduras resultaron leves y localizándose en mayor frecuencia en miembros inferiores y superiores. Como resultado la tasa de mejora fue del 95,2% en la primera semana y del 4,2% en la segunda semana. Por otro lado, al final del seguimiento el 64,3% de los pacientes presentaron piel con presencia de pigmentación y también el 33,3% presentaron piel de textura regular. Se llegó a la conclusión de que el tratamiento usando arcilla medicinal reduce la inflamatorio de quemaduras de segundo grado, así mismo reduce los síntomas de ardor y dolor, también no se mostraron infecciones en el sitio lesionado(20).

2.1.3 Antecedentes locales:

Guevara E. (2022) En Puno, Perú se realizó un estudio con el título “*Efecto del consumo de la arcilla comestible Ch’aqo (Montmorillonita) en gestantes con anemia ferropénica del Centro de Salud Simón Bolívar – Puno*” con la finalidad de evaluar la



acción del consumo de la arcilla comestible *Ch'aqo* por madres gestantes con deficiencia de hierro. La investigación fue de diseño cuasi-experimental, teniendo un pre-test y también pos-test usando grupo control. Evaluó a una muestra de 26 mujeres de una población de 90 madres con base de criterios de exclusión e inclusión. Además, se identificó un 69,2 % de madres gestantes con anemia leve y un 30,8% con anemia moderada. Las madres gestantes recibieron sulfato ferroso (60 mg/día) y arcilla comestible *Ch'aqo* (2 g/día). Los resultados mostraron una reducción de anemia a los 30 días, de manera que el 61,5% no presentó anemia y el 38,5% presentó anemia leve, mientras que a los 60 días el 92,3% estuvieron sin anemia (>11 mg/dl). A diferencia del grupo control, el día 30 la anemia leve fue de 61,5% y la anemia moderada del 38,5%. Sin embargo, a los 60 días, el 38,5% aún tenía anemia leve y el 61,5% no presentó anemia; es decir hubo un efecto positivo a comparación del control. Concluyéndose que el consumo de arcilla *Ch'aqo* contribuye a la mejora de los rangos de hemoglobina para madres gestantes con anemia ferropénica.

2.2 MARCO TEORICO

2.2.1 Caries dental

2.2.1.1 Definición:

La caries es una disbiosis, manifestándose principalmente por una alta ingesta de azúcares fermentables, es decir es una modificación del equilibrio y de la relación entre los diferentes microorganismos de la flora bucal(21).

Según Higashida(11), la caries es una afección localizada y progresiva de origen multifactorial la que si no se detecta y trata a tiempo daña a el tejido duro del diente hasta su destrucción(11). Así mismo Fejerskov(22) nombra a la caries como una forma dinámica de desmineralización y remineralización como el resultado del metabolismo



microbiano añadido sobre la superficie dentaria, el que, con el tiempo, resultaría en una pérdida de mineral y posteriormente puede dar lugar a una formación de caries(22).

2.2.1.2 Factores causantes de la caries dental

La caries llega a ser un mal multifactorial, cuya interacción tiene tres factores principales:

a) Dieta o Sustrato oral

La gran mayoría de los alimentos considerados cariogénicos tienen sacarosa; el *S. mutans* usando sacarosa sintetiza glucano, el cual le da la capacidad de adherirse al tejido del diente. Los alimentos considerados pegajosos, al tener un mayor tiempo dentro de la boca son más cariogénicos en potencia(11).

b) Microorganismos

Según Higashida(11), el *Streptococcus mutans* es un microorganismo con mayor potencial cariogénico, a pesar de que depende del tipo de caries, en fosas y fisuras las bacterias que predominan son del género *Streptococcus* como *salivarius*, *mitis*, y *sanguis*. Sobre las superficies proximales observamos especies de *Lactobacillus*, *Actinomyces* y también *Streptococcus mutans*. Y sobre superficies lisas encontramos, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius*(11).

c) Susceptibilidad del huésped

Se observó que, en una misma persona, ciertos dientes son afectados y otros no, y algunas caras de dientes son más susceptibles a caries que en otras. Las zonas de retención en las superficies oclusales imposibilitan la limpieza y ayudan a la acumulación de las bacterias, en especial en fisuras profundas en las cuales aumentan la susceptibilidad(11).



2.2.2 Streptococcus mutans

2.2.2.1 Definición

El *Streptococcus mutans*, es un coco de clasificación Gram positivo dispuesto en cadenas, no móvil, catalasa negativo, fermentador de sacarosa, glucosa, fructosa, rafinosa, lactosa, manitol, salicina d inulina con una producción de ácido láctico, propiónico, acético y fórmico, que fomentan a la desmineralización del tejido dentario (1).

El *Streptococcus mutans* ocupó el interés de varios investigadores desde la antigüedad; en 1890, el microbiólogo británico W. Miller es quien ha propuesto la teoría quimioparasitaria para tratar de explicar el fenómeno de la caries, poniendo en relación los microorganismos, carbohidratos de la alimentación y las patologías orales; en 1924, otro microbiólogo británico, Kilian Clarke, pudo aislar la bacteria *Streptococcus mutans* proveniente de lesiones cariosas(9).

2.2.2.2 Taxonomía

Familia: *Streptococcaceae*
Clase: *Bacilli*
Especie: *Streptococcus mutans*
Orden: *Lactobacillales*
Dominio: Bacteria
Género: *Streptococcus*
Phylu: *Firmicutes*

2.2.2.3 Factores de virulencia

El *Streptococcus mutans*, es aquella bacteria que tiene varios factores que promueven la formación de caries dental, según Duque(23) estos son: Aciduricidad,



acidogenicidad, acidofilicidad, síntesis de polisacáridos intracelulares, síntesis de glucanos y fructanos, y producción de dextranasa(23).

- a) **Acidogenicidad:** El *S. mutans* llega a fermentar los azúcares provenientes de los alimentos, produciendo ácido láctico como producto final, realizado por el metabolismo. Esto mismo hace que el pH baje y empiece a desmineralizarse el esmalte dental(23).
- b) **Aciduricidad:** Es la capacidad de producción de ácido en un medio con bajo pH(23).
- c) **Acidofilicidad:** El *Streptococcus mutans* es capaz de resistir la acidez del medio bombeando protones (H^+) hacia fuera de la célula(23).
- d) **Síntesis de glucanos y fructanos:** mediante enzimas como fructosiltransferasas y glucosil, se producen los polímeros fructano y glucano, usando sacarosa. (23).
- e) **Síntesis de polisacáridos intracelulares:** Sirven de reserva alimenticia y promueven la producción de ácido en largos períodos (23).
- f) **Producción de dextranasa:** Aparte de movilizar reservas energéticas, esta enzima regula la actividad de glucosiltransferasas (23).

2.2.2.4 Medio de cultivo

Es aquello que promueve la multiplicación, crecimiento y desarrollo de cierto microorganismo *in vitro*. Se puede clasificar según la forma física, obtenemos el recurso de cultivo con forma sólida que es conocido por lo regular como agar, es usado dentro de tubos de ensayo y placas Petri. Hay medios de cultivo destinados a microorganismos anaerobios, que se realizan sin presencia de oxígeno(24).



2.2.3 Antimicrobianos orales

2.2.3.1 Clorhexidina

2.2.3.1.1 Características:

Es una diguanidina catiónica, que tiene alta eficacia, porque tiene un espectro antimicrobiano en contra de bacterias Gram positivas, Gram negativas, con menor eficacia en contra de levaduras y hongos(25). También, Higashida(11), dice que tiene ventaja en contra de otros antisépticos, si es liberado lentamente durante 12 horas, esto es llamado sustantividad(11).

2.2.3.1.2 Usos terapéuticos:

Como alega Chimenos(25), está indicada en la detención de la proliferación de placa en dientes y periodonto supragingival. Entonces es de recomendación después de terapéutica periodontal también como un apoyo farmacológico. Según Higashida(11), la clorhexidina al 0.12% puede ser usado como colutorio. Además, se puede aplicar en endodoncia al 2% usado como un irrigante de conductos radiculares con infección(26).

2.2.3.1.3 Efectos adversos

Su uso está limitado gracias a sus efectos, como tinciones dentarias. Así mismo altera la percepción del gusto durante cuatro horas pasadas del enjuague y, también, su uso es asociado a la proliferación de cálculos supragingivales, úlceras y descamaciones en la mucosa oral(25).

2.2.3.2 Aceites esenciales

2.2.3.2.1 Definición

Son sustratos aromáticos con base lipídica, siendo extraídos de diversas partes de las plantas como lo son hojas, flores, tallos y también raíces. Actualmente, diversas investigaciones afirmaron que gracias a sus compuestos químicos los aceites esenciales



poseen propiedades antioxidantes y antibacterianas, sobre bacterias Gram negativas y Gram positivas(27).

2.2.3.2.2 Clasificación

Por su consistencia los aceites esenciales son clasificados en bálsamos, esencias fluidos y oleorresinas (28).

- a) **Las Esencias fluidas** son líquidos de carácter volátil a temperatura ambiental(28).
- b) **Los bálsamos** tienen una consistencia mucho más espesa, son menos volátiles, tienden a sufrir una reacción de polimerización(28).
- c) **Las Oleorresinas** poseen el aroma de las plantas en manera concentrada también son normalmente sustancias viscosas y semisólidas (chicle, caucho, gutapercha, balata, oleorresina de pimienta negra, de clavero, de paprika, etc.)(28).

Por su origen, los aceites esenciales son clasificados en aceites artificiales, naturales y sintéticos(28).

- a) **Los aceites naturales:** Son obtenidos directamente de plantas sin sufrir cambios físicos ni tampoco químicos, son costosas debido al rendimiento tan bajo(28).
- b) **Los aceites artificiales:** Se obtienen enriqueciendo una esencia añadiendo uno o más de sus propios componentes(28).
- c) **Los aceites sintéticos:** Es aquel producto obtenido por medio de la mezcla de ingredientes que mayormente se obtienen a través de procedimientos de síntesis química. Tienden a ser más económicas y entonces mucho más utilizadas como saborizantes y aromatizantes(28).

2.2.3.2.3 Métodos de extracción

Los aceites esenciales pueden ser extraídos de muestras vegetales por medio de varios procesos como son: Destilación por arrastre con vapor de agua, método de extracción con solventes volátiles y Expresión (27)(28).



- a) **En el método de la expresión:** La materia vegetal viene a ser exprimida para separar su aceite el cual se recolecta y también es filtrado. Tal método se utiliza para esencias cítricas(27)(28).
- b) **En el método de destilación por arrastre usando vapor de agua:** Los productos vegetales suelen ser frescos, se cortan en trozos pequeños, es sellado en una cámara inerte y luego se colocan bajo una corriente de agua a vapor sobrecalentado, posteriormente la esencia se condensa, se recolecta y se separa de la parte acuosa. Esta es una técnica muy usada sobre todo en la elaboración de esencias fluidas(27)(28).
- c) **En el método de extracción usando solventes volátiles:** La materia seca respectivamente triturada se expone a solventes como cloroformo, alcohol, entre otros. Tales solventes disuelven la esencia, así como también disuelven y también separan sustancias como ceras y grasas, dando como resultado una esencia poco pura. Es utilizada en laboratorio debido que a nivel industrial es costoso gracias al valor comercial de dichos solventes(27)(28).

2.2.4 Arcillas

Son compuestos de forma cristalina, que pueden llegar a ser depósitos minerales o sedimentos, son de consistencia plástica cuando son humedecidos y consisten de una partícula grumosa muy fina, conformado por partículas minúsculas con un tamaño que oscila entre 2 y 4 micras. Los materiales que componen las arcillas son mezclas naturales de silicatos de aluminio hidratados ($\text{Al}_2\text{O}_3 - 2\text{SiO}_2 - \text{H}_2\text{O}$), que son el producto final de complejos procesos geoquímicos que provocaron la meteorización de las rocas feldespáticas(29)(30).

Por lo general, las arcillas tienden a ser una mezcla de diversas variedades minerales, destacando los aluminosilicatos como el cuarzo, la caolinita, esmectita,



feldespato, la mica así como óxidos metálicos especialmente el magnesio calcio y hierro(29).

Las arcillas son constituidas por los denominados minerales arcillosos, siendo los principales(31):

- Montmorillonita: $Al_2O_3 \cdot (Mg, Ca) \cdot 5SiO_2 \cdot nH_2O$
- Caolinita: $Al_2O_3 \cdot 2SiO_2 \cdot 2H_2O$
- Illita: $K_2O \cdot MgO \cdot Al_2O_3 \cdot SiO_2 \cdot H_2O$

2.2.4.1 Tipos de arcilla.

Existen dos tipos de arcillas en la naturaleza:

- a) **Arcillas primarias o residuales:** Son aquellas que se forman en el sitio de sus rocas madres y por tanto no son transportadas por el agua, y viento. Suelen ser de un grano grueso relativamente no plásticos; Son puros, blancos y libres de alguna contaminación(32)(33).
- b) **Arcillas secundarias o sedimentarias:** Estos son los que fueron desplazados del sitio de sus rocas madres originales. Estos tipos de arcillas son mayormente comunes que las anteriores y son constituidas por material proveniente de diversas fuentes: Mica, hierro, materias carbonosas y cuarzo (32)(33).

Otros autores nombran tres tipos de arcilla, según el color:

- **Arcilla verde:** En este grupo se puede mencionar a la bentonita o montmorillonita, que a su vez pueden presentar color de tono pardo o también gris, siendo fuente de Silicio, Magnesio, fosfatos, Potasio, óxidos de Hierro, Titanio y Aluminio. Con una buena capacidad de desintoxicación, absorción y remineralización(32).
- **Arcilla blanca o caolinita:** Se observa en forma de leche arcillosa debido a su fuerza cubriente, tienes efectos antibacterianos, antiinflamatorios, y cicatrizantes,



absorbe toxinas, por eso es útil en casos de intoxicación alimentaria, también ayuda a reducir el estreñimiento y también regula el pH, es útil como colutorio bucal(32).

- **Arcilla roja:** Su color es por un mayor contenido de hidróxidos y óxidos de hierro, debido a poseer silicato de aluminio, actuando como antiácido(32).

2.2.4.2 Arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*)

La arcilla de hidralgiritita (*chaqo*) es una clase de arcillas de tipo bentonita. En estudios realizados se denominó como “arcilla 3A-T” porque actúa con muestras de arcillas obtenidas de diversos yacimientos en los distritos de Azángaro(A), Acora(A), Asillo(A) y Tiquillaca(T) (7).

Viéndolo de manera mineralógica, la arcilla *chaqo* está constituida por esmectita (dioctaédrica de carga tetraédrica) con una gran pureza, observándose pequeñas partículas de cuarzo. Según su textura es una arcilla compacta y homogénea constituida por pequeñas placas de esmectita que conforman agregados laminares con tamaños menores a 1 micra, entre los aditamentos laminares, se aprecian ocasionalmente placas de tamaño mayor, correspondientes a fragmentos de illita con una cubierta de placas de esmectitas(7)(34).

2.2.4.2.1 Características Físico - Químicas del *Chaqo*

a) Características Físicas

Durante la extracción de la arcilla *chaqo*, se puede apreciar como una masa muy plástica, con una consistencia densa, manejable y muy pegajosa debido a su plasticidad, esto trae consigo residuos de silicio tales como el cuarzo y el feldespato, que son muy fríos con temperaturas alrededor de 0°C(33)(34).

Después de la extracción, este producto es expuesto al medio ambiente para secarla durante 3 días, tiempo suficiente para tener este producto ya seco, con una textura

quebradiza. Las arcillas secas tienden a ser muy susceptible ante la presencia de humedad o también cuando son puestas en contacto directo con agua, tienden a absorber abundante líquido y varias veces aumentan su volumen inicial. Absorbiendo el agua puede llegar a formar suspensiones con una buena consistencia(33)(34).

Textura (Fracciones)	Porcentaje promedio(P/P)
Arcilla (Fluida)	82,4%
Limo (arcilla de menor calidad)	5,7%
Arena	11,9%
Total	100%

Figura 1. Constituyentes textuales de las arcillas (base de cálculo 100g) (35)

b) Características Químicas

Según Roque(32) , las muestras de la arcilla comestible *Chaqo* que existe en las localidades de Azángaro, Asillo, Acora y Tiquillaca,; al ser purificadas están compuestas por los siguientes elementos, como se aprecia en la tabla N°2.(32).

Arcilla <i>CHAQO</i>	Fe	Mg	F	Br	Ta	In	Ca	Ti	w
Azángaro	12,36	0,91	7,05	6,79	-	-	-	-	-
Tiquillaca	6,52	0,78	-	13,16	9,52	2,17	1,03	0,99	-
Acora	7,85	1,04	-	17,80	10,91	-	1,05	-	-
Asillo	5,59	0,95	3,37	17,07	-	-	0,84	0,91	6,23

Figura 2. Composición química de la arcilla Chaqo por zona y tratamiento, en cuatro distritos de la región de Puno, Fuente: Roque L. 2017(32)



2.2.4.2.2 Características medicinales de las arcillas *Chaqo*

- Cicatrizante por estar compuesto por silicatos de aluminio, el cual ayuda a la rápida recuperación de los tejidos(36).
- Antiséptico y bactericida(36).
- Absorbente, se le atribuye la propiedad de remineralización (debilidad y anemia)(36).
- Doble efecto térmico, la utilización de compresas o emplastos frías transfieren en frío y absorben el calor(36).
- pH neutral a alcalino, eficiente para lesiones o intoxicaciones causadas por agentes de tipo ácido(36).
- Relajante y sedante (miorrelajante), en caso de patologías osteoarticulares traumáticas(36).

2.2.4.2.3 Métodos de purificación de la arcilla *CHAQO*

- **Trituración y levigación:** En esta táctica se tritura usando un mortero el *chaqo* para posteriormente separar sus partículas por un procedimiento que consiste en su levigación. El proceso se repite para tener más fuerza(18).
- **Pulverización húmeda y levigación:** Este método es similar al anterior con la diferencia que la trituración en mortero se realiza con agua(18).
- **Exposición de la arcilla a la intemperie:** Se basa en usar agentes ambientales (calor, frío) los que a través del tiempo llegan a purificar las arcillas(18).
- **Método de purificación:** Se fundamenta en acciones que conllevan; un filtrado magnético, amasado, su envejecimiento, su formación o modelado y su quemado. Consistiendo principalmente en filtrar la arcilla usando filtros magnéticos con el fin de eliminar el hierro(18).

2.2.5 Fitoterapia

Viene a ser un neologismo usado por Henri Leclerc, quién nombra el uso de plantas medicinales con un fin terapéutico. La OMS destaca la importancia que conllevan las plantas de uso medicinal para la prevención y tratamiento de diversas patologías. (37). Así mismo Alarcón(38), menciona que, en la odontología se usó varias plantas en prevenir no únicamente caries dental, puesto que también en la cirugía bucal, enfermedad periodontal y endodoncia; teniendo en cuenta la acción antiinflamatoria, cicatrizante y antibacteriana que se le imputa. Cardentey(5) demostró que la medicina tradicional tiene uso ancestral y en la actualidad es profundamente investigada(5).

2.2.5.1 Timol

Si se formula químicamente viene a ser (2-isopropil-5-metilfenol) y es un monoterpeno fenólico presente como parte de diversos aceites esenciales, con una alta presencia dentro del orégano (*Origanum vulgare*), también ajedrea (*Satureja hortensis*) y por último en tomillo (*Thymus vulgaris*)(39)(40).

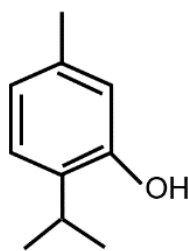


Figura 3. Estructura química del timol, Fuente: García, R. Palou, E 2008(40).

Datos fisicoquímicos	
Fórmula	C ₁₀ H ₁₄ O
Masa molecular	150,22 g/mol
Punto de fusión	49-51 °C
Punto de ebullición	232 °C
Punto de inflamación	107 °C
Presión de vapor	2,5 hPa a 25 °C
Densidad	0,97 g/ml (20 °C) 0,93 g/ml (70 °C)
Solubilidad	0.98 g/l en agua a 25°C 1.000 g/l etanol 1.428L g/l cloroformo

Figura 4. Datos fisicoquímicos del timol, Fuente: García, R. Palou, E 2008(40).

El timol es utilizado por el antiguo Egipto para preservar las momias, este componente se aprecia como parte de distintos medicamentos, pastas dentales, enjuagues bucales, etc. Se ha realizado diversas investigaciones que evidencian la eficacia de este componente como fungicida, bactericida, insecticida, varroocida, desinfectante en general y nematocida(41).

Sin embargo, el timol también tiene un sabor desagradable picante. que a menudo es descrita como medicinal. Este sabor fuerte limita la aceptación por parte del consumidor de los productos que contienen timol(41).



2.2.5.1.1 Mecanismo de acción

El timol después de la administración mediante vía oral, es absorbido muy rápidamente dentro del tracto gastrointestinal superior. Documentada en una investigación que involucró a voluntarios, el timol en una administración oral de 1 mg no realizó concentraciones plasmáticas posibles de detectar, aunque se detectaron metabolitos de sulfatos y glucurónidos en la orina. La vida media es estimado de un aproximado de 10 horas(42).

Algunas investigaciones indican que el timol posee una acción antimicrobiana modesta, por otro lado, también posee una acción antivírica puesta en contra de virus provocantes de influenza A, también virus respiratorios sincitiales. Es de conocimiento que la acción antifúngicas del timol en contra de microorganismos causantes de la onicomycosis, también puede brindar potencia a la acción antifúngica que tiene la anfotericina B(42).

Así mismo el timol y también el carvacrol cómo su homólogo, que de igual manera está como un componente más del tomillo, poseen efectos antioxidantes y también antimutagénicos, protegiendo al ADN ante una posible oxidación. Tal acción antioxidante viene a ser debido al efecto del timol que promueve la producción del llamado óxido nítrico, mejorando la acción endotelica y previniendo la conocida arteriosclerosis(40).

El timol induce una serie de enzimas metabolizantes de xenobióticos. Por lo tanto, se comprobó un efecto de inducción sobre la glutathion-S-transferasa, la quinina reductasa y la 7-etoxicumarin-O-desetilasa(40).

2.2.5.1.2 Toxicidad

El timol generalmente es tolerado, inclusive cuando es administrada por vía oral, aunque a veces puede llegar a causar efectos gastrointestinales secundarios. Casi no



conlleva a la producción de reacciones alérgicas, pero por otro lado las personas alérgicas al orégano y también a otras lamiáceas poseen un mayor peligro. De manera tópica el timol llegaría a causar dermatitis así mismo producir eczemas. Las pastas dentales que contienen timol son asociadas a glositis y queilitis(43).

La información de daños registrados en investigaciones señala que la toxicidad bucal en ratas y también en conejillo de indias se localiza en categoría III (teniendo en cuenta que la categoría I es la más toxica y la IV es la que menor toxicidad). Si es inhala, el timol llegaría a irritar a la gente que entren en contacto íntimo con éste, de igual manera que el contacto con los ojos o mucosas. El peligro para las personas quienes usan los productos o también las formulaciones son de nivel de registro bajo(43).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1 Ámbito general:

El proyecto investigativo se llevó a cabo en instalaciones de la Universidad Nacional del Altiplano ubicada en la ciudad de Puno, en la provincia de Puno y departamento de Puno, localizado en la sierra sureste de Perú, dentro de 13°00'00" y de 17°17'30" de latitud Sur y dentro de 71° 06'57" y de 68°48'46" de longitud Oeste partiendo del meridiano de Greenwich, a orillas del Lago Titicaca; es el quinto departamento más extenso, con una extensión territorial de 66, 997 km² a una altitud de 3,812 y 5,500 m.s.n.m.

3.1.2 Ámbito específico

El trabajo de investigación se llevó a cabo dentro del Laboratorio de Microbiología y Parasitología en la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, acreditado por la SUNEDU, categorizado como laboratorio básico, con nivel de bioseguridad 1 en la que se trabaja con microorganismos viables que no se conocen como generadores de enfermedades sistémicas en humanos.

3.2 PERIODO DE DURACIÓN:

El trabajo de indagación con el título “Evaluación *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) y del aceite esencial de timol en la inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans*, Puno 2021” Se realizó partiendo del mes de abril y culminando en el mes de agosto del 2022, presentando una duración de aproximadamente 5 meses.



3.3 TIPO, DISEÑO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1 Diseño de la investigación

El presente trabajo de indagación es cuasi experimental y tiene un objetivo parecido a la investigación experimental, demostrar los indicios de una relación de causa y efecto de dos variables, teniendo como excepción que los sujetos no son asignados de manera aleatoria a los grupos. Los cuasi experimentos permiten evaluar la eficacia de un tratamiento, en función de si se ha establecido una base de comparación adecuada.

3.3.2 Tipo de investigación

- **Según la intervención del investigador:** Experimental porque se manipuló la variable independiente esperando ver respuesta en la variable dependiente.
- **Según el periodo y secuencia del estudio:** Longitudinal porque los datos se obtuvieron a las 24 y 48 horas.
- **Según el tiempo de ocurrencia de los hechos:** Prospectivo ya que los datos fueron recolectados en medida que fue avanzando el trabajo de investigación.
- **Según el número de variables:** Deductivo Analítico

3.3.3 Nivel de investigación: Aplicativo

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.4.1 Población

Estuvo conformada por cepas provenientes de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175TM que fueron obtenidas de (Microbiologics, Minnesota, USA, siendo importado por el laboratorio Genlab del Perú SAC). Estas bacterias liofilizadas aseguran su viabilidad y su pureza.

3.4.2 Muestra

Teniendo en cuenta el tipo de muestreo, el estudio es no probabilístico por conveniencia porque se seleccionó las muestras basadas en un juicio subjetivo en vez de



realizar una selección al azar, y es conveniente debido a la velocidad, su costo-efectividad y también a su facilidad en la disponibilidad de la muestra.

Se cultivó *Streptococcus mutans* en n=50 cajas Petri, con 6 discos de papel filtro dentro de cada placa, estos fueron embebidos de arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) y aceite esencial de timol en pocillos de agar cultivado, resultando en un total de 300 discos, los mismos fueron divididos en 10 grupos según la concentración de 25%, 50%, 75% y 100% de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), también 25%, 50%, 75% y 100% de concentración de aceite esencial de timol, control positivo (clorhexidina a 0.12% de concentración) y finalmente un control negativo (agua destilada).

3.4.3 Caracterización de la muestra

a. Criterios de inclusión

- Cajas de Petri que muestran halos inhibitorios después del proceso de incubación en condiciones óptimas.
- Placas Petri que presentaron un buen crecimiento y desarrollo de la bacteria *Streptococcus mutans*, no presentaron contaminación por otras cepas de bacterias u hongos.

b. Criterios de exclusión

- Placas Petri que presentaron rayaduras o fisuras.
- Placas Petri contaminadas con otros microorganismos.
- Medios de cultivos contaminados por otros tipos microorganismos.

3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

“Evaluación *in vitro* de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) y del aceite esencial de timol en la inhibición de crecimiento de *Streptococcus Mutans*, Puno 2021”



Variables		Definición	Indicador	Subindicador	Escala
Variable independiente	Evaluación in vitro de la arcilla de hidralgiritita (<i>CHAQO</i>).	Esmectita dioctaédrica con carga tetraédrica(7)	Arcilla <i>Chaqo</i>	25% 50% 75% 100%	mg
	Evaluación in vitro del aceite esencial de timol.	El timol es un principio activo presente en los aceites de tomillo y de orégano, caracterizada por su poder desinfectante y fungicida(39).	Aceite esencial de timol	25% 50% 75% 100%	ml
Variable dependiente	Inhibición de crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> .	Es la bacteria más importante implicado en la iniciación de la caries dental(1).	Halo de inhibición	Escala de Duraffourd - Nula < 8mm - Sensible ≥ 9mm-14mm - Muy sensible ≥ 15-19mm - Sumamente sensible ≥ 20mm	mm



3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

a) **Técnica:** Observación directa.

b) **Instrumentos:**

- **Documental:** Ficha de recolección de datos (empleado en la investigación de Maquera y Monroy en el 2019(44).
- **Mecánico:** Calibrador metálico.

3.7 MATERIALES

a) **Equipos de Laboratorio:**

- Incubadora de CO₂
- Incubadora bacteriana.
- Jarra anaeróbica.
- Autoclave (horno a presión de calor húmedo).
- Horno a calor seco
- Contador de colonias (J.P. Selecta).
- Mixer tipo Vortex.
- Cocina eléctrica.
- Mechero Bunsen.
- Balanza analítica.
- Balanza Electrónica.
- 01 microscopio.
- Esterilizador para laboratorio.
- 03 matraces Erlenmeyer.
- 02 morteros.
- 02 botellas de color ámbar.
- 01 vaso precipitado.



- 20 tubos de ensayo con tapa roscas.
- 03 pinzas para laboratorio.
- 50 placas Petri.

b) Materiales de laboratorio:

- 8 pliegos de papel Kraft.
- Jeringas descartables de 10ml y tuberculina
- Algodón.
- 300 discos de sensibilidad (papel filtro).
- Papel de aluminio.
- 20 hisopos estériles.

c) Elementos de desinfección

- Detergente y desinfectantes.
- Un frasco de lejía.

d) Equipo de protección personal:

- Mandilón descartable.
- 01 caja de gorros descartables de laboratorio.
- 01 caja de mascarillas quirúrgicas.
- 01 caja de guantes descartables.

e) Soluciones y medios de cultivo

- Agar base.
- Agar *Mieller Hinton*.
- Agua destilada (3 litros).
- Agua bidestilada (1 litro).
- Suero fisiológico.
- Frasco de clorhexidina al 0.12 %.



- Botella de alcohol al 96%.

f) Elementos auxiliares:

- 2 laptops.
- Cámara fotográfica 16 mega pixeles.
- Lápiz y lapiceros.
- Hojas de papel.

g) Infraestructura:

- Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad De Medicina Humana.

3.8 PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.8.1 Obtención de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*)

La arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) se adquirió del yacimiento ubicado en Asillo, provincia de Azángaro, se obtuvo en su estado natural, con algo de humedad, y se apartaron todos los elementos ajenos a esta arcilla *chaqo*, tal es el caso de partículas de piedra, insectos y también vegetales. Se tomó como muestra 2 kilos de esta arcilla del yacimiento descrito, luego se colocaron en bolsas de cierre hermético debidamente rotulados para su estudio.

Para determinar:

- Para una concentración al 100% se disolvió 2 g de arcilla de hidralgirita en 10 ml de agua bidestilada.
- La Concentración al 75 % se disolvió 1.5 g de arcilla de hidralgirita en 10 ml de agua bidestilada.
- La Concentración al 50% se disolvió 1 g de arcilla de hidralgirita en 10 ml de agua bidestilada.
- La Concentración al 25 % se disolvió 0.5 g de arcilla de hidralgirita en 10 ml



de agua bidestilada.

3.8.2 Obtención del aceite esencial de timol

El aceite de timol se adquirió de la compañía farmacéutica SILVERLINE CHEMICALS (India). Fue importado por la Empresa Importadora Continental SAC - PERÚ.

Para determinar:

- La concentración al 100 % es 1ml de aceite esencial de timol.
- La concentración al 75% se disolvió con alcohol absoluto 99.7 de pureza Q.P. en un volumen de 0.25 ml con 0.75 ml de aceite esencial de timol.
- La concentración al 50% se disolvió con alcohol absoluto 99.7 de pureza Q.P. en un volumen de 0.50 ml con 0.50 ml de aceite esencial de timol.
- La concentración al 25% se disolvió con alcohol absoluto 99.7 de pureza Q.P. en un volumen de 0.75 ml con 0.25 ml de aceite esencial de timol.

3.8.3 Obtención de las muestras y productos de experimentación

a) Grupos experimentales

- Grupo experimental 1 (GE₁): Arcilla de hidralgiritita (*chaqo*) al 100%
- Grupo experimental 2 (GE₂): Arcilla de hidralgiritita (*chaqo*) al 75%
- Grupo experimental 3 (GE₃): Arcilla de hidralgiritita (*chaqo*) al 50%
- Grupo experimental 4 (GE₄): Arcilla de hidralgiritita (*chaqo*) al 25%
- Grupo experimental 5 (GE₅): Aceite esencial de timol al 100%
- Grupo experimental 6 (GE₆): Aceite esencial de timol al 75%
- Grupo experimental 7 (GE₇): Aceite esencial de timol al 50%
- Grupo experimental 8 (GE₈): Aceite esencial de timol al 25%

b) Grupos controles

- Grupo control positivo (GC+): Clorhexidina al 0.12%.



- Grupo control negativo (GC-): Agua destilada.

3.8.4 Preparación del medio de cultivo para aislamiento de *Streptococcus mutans*

3.8.4.1 Obtención de la bacteria *Streptococcus mutans*.

La bacteria de *Streptococcus mutans* fue facilitado por GenLab del Perú SAC con los procedimientos y las especificaciones del fabricante, para la activación de la bacteria liofilizada *Streptococcus mutans* (ATCC 25175TM) se transportó en cadena de frío hasta - 2°C antes de su activación según las indicaciones del laboratorio.

3.8.4.2 Activación y siembra de la bacteria *Streptococcus mutans*

a) Preparación del medio de cultivo Agar base sangre

- Para su activación se diluyó la bacteria de *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM liofilizado en solución isotónica.
- Se pesó 4 g de agar base en la balanza de precisión, al cual se le agregó 5% de Tripticasa de soya al peso del agar base, esto se diluyó con 100 ml de agua destilada, se autoclavó a 15 libras de presión/pulgada que es a 120°C en un tiempo aproximado de 20 minutos, el agar estéril se dejó enfriar a una temperatura ambiente hasta llegar a 38 °C. luego se le agregó la sangre de cordero estéril en un 5% del volumen del agar.
- Inmediatamente se plaqueó en cuatro placas Petri previamente esterilizados, y se dejó gelificar hasta adquirir un color rojo – cereza.
- Se sembró la bacteria de *Streptococcus mutans* en la placa Petri con agar sangre gelificado.
- Posteriormente la placa Petri ya rotulado se selló con biofilm (cinta para sellar), lo mismo se realizó con las 3 placas restantes, luego se llevó a la incubadora de CO₂ para anaerobios a una temperatura de 37°C por 24 horas.
- Después de las 24 horas se observó la placa Petri con la bacteria *Streptococcus*



mutans, donde se identificó sus características morfológicas de la colonia.

3.8.4.3 Reconocimiento microscópico y pruebas bioquímicas de *Streptococcus mutans*

a) Coloración Gram

Para la identificación morfológica estructural de la bacteria se procedió de la siguiente manera:

- Se utilizó un hisopo estéril para recolectar una muestra de colonias de *Streptococcus Mutans* desarrolladas en la placa Petri, posterior a ello se realizó un frotis en la parte central del portaobjetos. Luego se fijó la muestra al calor con ayuda de un mechero, por último, se dejó enfriar.
- Sobre el puente de tinción se colocaron los portaobjetos que contenían muestras fijadas para tinción de Gram.
- 1.- En la muestra fijada se le agregó la coloración cristal violeta hasta cubrir toda la extensión por un espacio de 1 min, luego se utilizó agua destilada para eliminar el exceso de solución de tinción.
- 2.- Seguidamente se agregó la coloración Lugol para hacer el complejo Lugol cristal violeta, se retiró el excedente de Lugol con agua destilada.
- 3.- A continuación, se colocó el decolorante alcohol cetona para eliminar el exceso de coloración para el Gram negativo.
- 4.- Por último, se agregó la coloración de contraste safranina.
- Posteriormente se llevó el portaobjetos con la muestra coloreada de Gram al microscopio para observar su estructura morfológica de la bacteria. Una vez identificado su morfología estructural se calificó su pureza.

b) Pruebas Bioquímicas

- **Prueba de catalasa:** La bacteria *Streptococcus mutans* cultivada en una



placa Petri, se diluyó con suero fisiológico en un tubo de prueba en un volumen de 2ml, a la solución se le añadió peróxido de hidrógeno al 3%.

- Se agitó la solución para observar la eliminación de oxígeno a través de burbujas para ver si es positivo o negativo.

3.8.5 Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de difusión en agar según

Kirby Bauer

3.8.5.1 Preparación del inóculo en el estándar 0.5 de turbidez por el Método De Mc Farland

Para realizar los inóculos se tomó en cuenta la pureza de la cepa de la bacteria *Streptococcus mutans*, identificando sus aspectos culturales de la colonia como es el borde, elevación, forma y color, que tiene una característica singular en el crecimiento y desarrollo de la bacteria en agar, de borde irregular, forma irregular, elevación bicóncava y color blanco, garantizando la pureza.

Se preparó el inóculo del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175TM), para lo cual con un hisopo estéril se extrajo las colonias de la placa Petri donde se desarrolló la bacteria, luego se diluyó la muestra en 10 ml de solución isotónica que contenían los tubos de ensayo, siendo esta la solución madre, se distribuyó 1ml en el primer tubo donde contiene 9ml de solución isotónica, del tubo 1 se extrae 1ml de la solución y se trasvasa al tubo 2, en el tubo 3 se trasvasa 1ml del tubo 2 y en el tubo 4 se trasvasa 1 ml del tubo 3.

Se preparó hasta que la turbidez alcanzó a 0.5, esto corresponde a una concentración de $1,5 \times 10^8$ por 1ml (CFU/ml) de *Streptococcus mutans*. Se identifico como inóculo al resultado de la turbidez de 0.5, los cuales se distribuyeron en las placas Petri.



3.8.6 Preparación de agar Mueller Hinton

El agar Müller-Hinton se preparó tomando en cuenta las instrucciones del fabricante, y se eligió la proporción de preparación de acuerdo a las necesidades del experimento. La preparación de la solución: Soluta agar Mueller Hinton - Solvente agua destilada.

1. La solución se preparó en 2 matraces Erlenmeyer, para su esterilización y licuación se realizó en un autoclave a 121 °C a 15 libras de presión por un aproximado de 20 min; posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente.
2. Cuando la solución llegó a una temperatura de 37°C a 39°C se le agregó de forma aséptica sangre en un 5% del total de la solución y se mezcló de manera homogénea con movimientos suaves.
3. Luego se realizó el plaqueado en 50 placas Petri y se dejó enfriar hasta el proceso de gelificación.

3.8.7 Inoculación de las placas Petri por el método de Estrías Por Agotamiento

Para la inoculación se tomó en cuenta la turbidez de 0.5 de las bacterias de *Streptococcus mutans* que contenía los tubos de ensayo, con un hisopo estéril se cultivó por agotamiento en las cajas Petri que sostenían Agar Mueller Hinton, la misma inoculación se realizó en las 50 placas.

3.8.8 Aplicación de los discos de difusión por el método de Kirby Bauer

En primer lugar, se etiquetaron todas las cajas Petri según los grupos experimentales y controles.

Por el método de Kirby Bauer se elaboró seis pozos distribuidos de manera uniforme, luego se colocó discos de papel filtro en cada pocillo utilizando pinzas estériles.

Con una pipeta automática se distribuyó 10 µl de la aplicación de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) y del aceite esencial del timol en las concentraciones de 25%, 50%,



75% y 100%, y también en los grupos controles, es así la clorhexidina al 0.12% como control positivo y el control negativo (agua destilada).

3.8.9 Incubación

Pasado los 10 minutos se transportó las placas Petri con las aplicaciones dentro de los pocillos en posición invertida a la incubadora de CO₂ a una temperatura de 37°C por 24 y 48 horas, los halos de inhibición se observaron a las 24 horas y 48 horas.

3.8.10 Lectura del halo de inhibición y recolección de los resultados

Para la medición de los halos inhibitorios se utilizó un calibrador metálico y un contador de colonias (J.P. Selecta), se registró el diámetro del área de inhibición. Se tomó en cuenta la escala de Duraffourd.

- Nula (-): < 8mm
- Sensible (+): ≥ 9mm-14mm
- Muy sensible (++) : ≥ 15- 19mm
- Sumamente sensible (+++) : ≥ 20mm

3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Una vez recolectados los datos, se traspasaron a Microsoft Excel para que los datos sean codificados, después se transfirieron al programa SPSS Statistics 27.0.

Los datos fueron procesados mediante la utilización de estadística descriptiva, incluyendo medidas de tendencia central así como también de dispersión, y luego desarrollados con estadística inferencial, así mismo los datos fueron analizados según las pruebas de homogeneidad donde indicaron que las varianzas no son iguales, además en las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para muestras pequeñas, se observaron que los índices de la significancia (Sig) vienen a ser menores al 0.05, este resultado confirma que los datos recopilados no siguen una distribución normal, por lo tanto se utilizó análisis



estadísticos de índole no paramétrico, por lo que en estas circunstancias se realizó la prueba de H de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

3.10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se solicitó los permisos en decanatura de la Facultad de Medicina Humana, con el fin de realizar la ejecución del proyecto dentro del laboratorio de microbiología y parasitología, también se obtuvo la certificación, capacitación, así como normas de bioseguridad en la manipulación de microorganismos dentro del laboratorio.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

Tabla 1. Efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus Mutans* a las 24 horas.

		CONCENTRACIONES			
		25%	50%	75%	100%
N	Válido	30	30	30	30
	Perdidos	0	0	0	0
	MEDIA	14,467	15,580	16,507	18,033
	MEDIANA	14,400	15,600	16,600	17,900
	MODA	14,30	15,40	16,80	17,80
	D.E.	0,2468	0,1989	0,3194	0,3066
	VARIANZA	0,061	0,040	0,102	0,094
	RANGO	0,80	0,60	1,10	0,90
	MÍNIMO	14,10	15,30	15,80	17,60
	MÁXIMO	14,90	15,90	16,90	18,50

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°1 se muestra el análisis de datos del halo de inhibición en mm de *Streptococcus mutans* utilizando la arcilla de hidralgirita (*chaqo*) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24 horas, donde el promedio más alto pertenece a la arcilla de hidralgirita (*chaqo*) al 100% con 18.03mm, la mediana es de 17.90mm y el valor más frecuente en la concentración del 100% es 17,80mm, el promedio de alejamiento en el conjunto de datos en relación a la media es $\pm 0,30$ mm el cual es un valor pequeño e indica que los datos están bastante cercanos, su valor mínimo es 17,60mm y el máximo valor es de 18,50mm, el máximo alejamiento que se da es 0,90 mm; y el menor efecto de inhibición se da en la concentración del 25% con una media de 14.47mm, y una mediana de 14,40mm, donde el valor más frecuente fue de 14,30mm con un promedio de separación de los valores respecto a la media de ± 0.25 mm, siendo el valor máximo y mínimo de 14.90mm y 14.10mm respectivamente, el rango entre el mayor y menor halo de inhibición es de 0.80 mm.

Aplicando la escala de Duraffourd se puede mencionar que la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 50%(15,58mm), 75%(16,51mm) y 100% (18,03mm) tienden a estar a una escala de muy sensible, en cambio la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 25% (14,47mm) se encuentra dentro de la escala de sensible según el tratamiento aplicado en 24 horas.



Tabla 2. Efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus Mutans* a las 48 horas.

		CONCENTRACIONES			
		25%	50%	75%	100%
N	Válido	30	30	30	30
	Perdidos	0	0	0	0
	MEDIA	13,827	15,540	16,420	17,817
	MEDIANA	13,600	15,600	16,400	17,800
	MODA	14,50	15,70	16,30	17,70
	D.E.	0,5355	0,2787	0,2565	0,3130
	VARIANZA	0,287	0,078	0,066	0,098
	RANGO	1,50	0,90	1,00	1,10
	MÍNIMO	13,10	15,00	16,00	17,20
	MÁXIMO	14,60	15,90	17,00	18,30

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN. En la tabla N°2 se observa el análisis de datos resultado del halo de inhibitorio en mm del *Streptococcus mutans* con el tratamiento de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 48 horas, siendo el resultado que el promedio más alto se da en la concentración del 100% de la arcilla hidralgirita (*CHAQO*) con un promedio de 17.82mm, con una mediana de 17,80mm y su valor más frecuente es 17,70mm, el promedio de alejamiento en el conjunto de datos en relación a la media es ± 0.31 mm, siendo el valor máximo 18.30mm de halo de inhibición y el valor mínimo es 17.20 mm de halo de inhibición; y la efectividad más baja se da en la concentración del 25% con una media de 13.83mm, y una mediana de 13,60mm, donde el valor más frecuente fue 14,50mm con un promedio de separación de los valores respecto a la media de ± 0.54 mm, siendo el valor máximo y mínimo de 14,60mm y 13,10mm respectivamente, y el rango entre el mayor y menor halo de inhibición es de 1,50mm.

Según la escala de Duraffourd se puede mencionar que la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 50%(15,54mm), 75% (16,42mm) y 100% (17,82mm) tiende a estar a la escala de muy sensible, en cambio la Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 25%(13,83mm) está dentro de la escala de sensible según el tratamiento aplicado en 48 horas.



Tabla 3. Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus Mutans* a las 24 horas.

		CONCENTRACIONES			
		25%	50%	75%	100%
N	Válido	30	30	30	30
	Perdidos	0	0	0	0
MEDIA		14,190	13,987	12,667	12,423
MEDIANA		14,150	13,950	12,600	12,400
MODA		13,70	13,60	12,40	12,30
D.E.		0,4397	0,3559	0,2998	0,2062
VARIANZA		0,193	0,127	0,090	0,043
RANGO		1,30	1,10	1,00	0,80
MÍNIMO		13,60	13,40	12,30	12,00
MÁXIMO		14,90	14,50	13,30	12,80

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°3 se observa el análisis de datos resultado del halo inhibitorio en mm de *Streptococcus mutans* con la aplicación del aceite esencial del timol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% , siendo el resultado que el promedio más alto se da en la concentración del 25% del aceite esencial de timol con una media de 14.19mm del halo de inhibición, el valor ubicado en el centro del conjunto de datos es 14,15mm, y el valor que ocurre con más frecuencia en la concentración del 25% es 13,70mm, el promedio de alejamiento de los valores en relación a la media es ± 0.44 mm, siendo el valor máximo 14,90mm de halo de inhibición y el valor mínimo 13,60mm, y el promedio más bajo se da en la concentración del 100% del aceite esencial de timol, con un promedio de 12.42mm, mediana de 12,40mm y el valor que ocurre con más frecuencia es 12,30mm, con un promedio de separación de los valores respecto a la media de ± 0.21 , el rango entre el valor mínimo y máximo es de 0,80mm siendo el valor máximo y mínimo de 12,80mm y 12,0mm respectivamente.

Según la escala de Duraffourd la sensibilidad del aceite esencial de timol, que en concentraciones del 25%(14,19mm),50%(13,98mm) ,75%(12,67mm) y 100%(12,42mm) tienden a estar en la escala de sensible según el tratamiento aplicado en 24 horas.



Tabla 4. Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus Mutans* a las 48 horas.

		CONCENTRACIONES			
		25%	50%	75%	100%
N	Válido	30	30	30	30
	Perdidos	0	0	0	0
	MEDIA	13,790	13,687	11,987	11,823
	MEDIANA	13,750	13,650	12,000	11,800
	MODA	13,30	13,30	11,80	11,70
	D.E.	0,4397	0,3559	0,1907	0,2062
	VARIANZA	0,193	0,127	0,036	0,043
	RANGO	1,30	1,10	0,60	0,80
	MÍNIMO	13,20	13,10	11,70	11,40
	MÁXIMO	14,50	14,20	12,30	12,20

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°4 se observa el análisis de datos resultado del halo inhibitorio en mm del *Streptococcus mutans* con la aplicación del aceite esencial de timol en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 48 horas, donde el promedio más alto pertenece a la concentración del 25% con 13.79mm, con una mediana de 13,75mm y el valor más frecuente es 13,30mm, con una desviación estándar de ± 0.44 , siendo el máximo valor 14,50mm y el mínimo valor 13,20mm, y el menor promedio de inhibición pertenece a la concentración del 100% con una media de 11.82mm, el promedio de alejamiento en el conjunto de datos en relación a la media es ± 0.21 , siendo el valor máximo y mínimo de 12,20mm y 11,40mm respectivamente, el rango entre el mayor y menor halo de inhibición es de 1.97mm.

Aplicando la escala de Duraffourd la sensibilidad del aceite esencial de timol, que en concentraciones del 25%(13,79mm), 50%(13,68mm), 75%(11,99mm) y 100%(11,82mm) tienden a estar en la escala de sensible según el tratamiento aplicado en 48 horas.



Tabla 5. Efecto inhibitorio *in vitro* del grupo de la clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.

TIEMPO		24 HORAS	48 HORAS
		CLORHEXIDINA AL 0.12%	CLORHEXIDINA AL 0.12%
N	Válido	30	30
	Perdidos	0	0
MEDIA		17,127	16,927
MEDIANA		17,100	16,900
MODA		17,50	17,30
D.E.		0,3982	0,3982
VARIANZA		0,159	0,159
RANGO		1,50	1,50
MÍNIMO		16,30	16,10
MÁXIMO		17,80	17,60

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°5 se observa el análisis de datos del halo inhibitorio del *Streptococcus mutans* con la aplicación del control positivo (clorhexidina al 0.12%) a las 24 y 48 horas, los resultados muestran que el mayor halo de inhibición se da a las 24 horas con un promedio de 17,13mm y la clorhexidina al 0.12% a las 48 horas obtuvo una media de 16,93mm, esto refleja una disminución del halo de inhibición en 0.02mm, lo cual es mínimamente notorio, además se puede observar el valor más frecuente a las 24 horas es 17,50mm y a las 48 horas es 17,30mm, por otro lado a las 24 horas se refleja una mediana de 17,10mm y a las 48 horas se observa una mediana de 16,90mm, el promedio de alejamiento de datos en relación a la media es $\pm 0,39$ mm tanto a las 24 y 48 horas, el valor máximo en el conjunto de datos a las 24 horas es 17,80mm y el mínimo es 16,30mm de halo de inhibición, por otro lado a las 48 horas se observa un valor máximo y mínimo de 17,60mm y 16,10mm respectivamente.

Aplicando la escala de Duraffourd y según los promedios obtenidos, la Clorhexidina al 0.12% tiende a estar a una escala muy sensible según el tratamiento aplicado tanto a las 24 como a las 48 horas.

Tabla 6. Comparación del efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* a las 24 horas.

Aplicación	N Válido	Media	D.E.	Mínimo	Máximo	P-valor H de Kruskal- Wallis
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 25%	30	14,467	0,2468	14,10	14,90	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 50%	30	15,580	0,1989	15,30	15,90	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 75%	30	16,507	0,3194	15,80	16,90	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 100%	30	18,033	0,3066	17,60	18,50	0.000
Aceite esencial de timol al 25%	30	14,190	0,4397	13,60	14,90	0.000
Aceite esencial de timol al 50%	30	13,987	0,3559	13,40	14,50	0.000
Aceite esencial de timol al 75%	30	12,667	0,2998	12,30	13,30	0.000
Aceite esencial de timol al 100%	30	12,423	0,2062	12,00	12,80	0.000
Clorhexidina al 0.12%	30	17,127	0,3982	16,30	17,80	0.000

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°6 se observa la comparación del efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*), aceite esencial de timol al 25%, 50%, 75% y 100% de concentración y el control positivo (clorhexidina al 0.12%) sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 horas, los resultados muestran que la media más alta se observa en la aplicación de la arcilla de hidralgiritita con 18.03 mm, el control positivo (clorhexidina al 0.12%) tiene una capacidad menor de inhibición en comparación a la concentración del 100% de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) teniendo una media de 17,13mm, la concentración del 75% de la rcilla de hidralgiritita(*CHAQO*) ocupa la tercera aplicación con mejor efecto inhibitorio con una media de 16.51mm, y 15.58mm de promedio tiene la concentración del 50% de la arcilla de hidralgiritita(*CHAQO*), seguido por la concentración del 25% de la arcilla de hidralgiritita(*CHAQO*) con una media de 14.47 mm, en el conjunto de datos el aceite esencial de timol al 100% presenta un promedio más bajo con 12,42mm, incluso superado por el aceite esencial de timol al 75% con una media de 12,67mm y el aceite esencial de timol a una concentración de 50% tiene un promedio de 13,99mm, sin embargo el aceite esencial de timol al 25% presenta una media mayor de 14,19mm con respecto a las tres últimas concentraciones, siendo así que el mayor halo de inhibición en el conjunto de datos es de 18,50mm y el menor halo de inhibición es de 12,00mm, todo esto evaluado a las 24 horas.

Mediante la prueba estadística de H de Kruskal-Wallis, se obtuvo un p-valor de 0.00 comparado con $\alpha = 0.05$ (95% de confiabilidad) donde se puede afirmar que existe evidencia suficiente para rechazar la Hipótesis nula, este resultado confirma que la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) y el aceite esencial de timol presentan diferencias estadísticamente significativas en la evaluación realizada en 24 horas.

Tabla 7. Comparación del efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), aceite esencial de timol en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y clorhexidina al 0.12% frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* a las 48 horas.

Aplicación	N Válido	Media	D.E.	Varianza	Mínimo	Máximo	P- valor H de Kruskal- Wallis
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 25%	30	13,827	0,5356	0,287	13,10	14,60	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 50%	30	15,540	0,2787	0,078	15,00	15,90	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 75%	30	16,420	0,2565	0,066	16,00	17,00	0.000
Arcilla de hidralgirita (<i>CHAQO</i>) al 100%	30	17,817	0,3130	0,098	17,20	18,30	0.000
Aceite esencial de timol al 25%	30	13,790	0,4397	0,193	13,20	14,50	0.000
Aceite esencial de timol al 50%	30	13,687	0,3559	0,127	13,10	14,20	0.000
Aceite esencial de timol al 75%	30	11,987	0,1907	0,036	11,70	12,30	0.000
Aceite esencial de timol al 100%	30	11,823	0,2063	0,043	11,40	12,20	0.000
Clorhexidina al 0.12%	30	16,927	0,3982	0,159	16,10	17,60	0.000

Fuente: Base de datos



INTERPRETACIÓN: En la tabla N°7 se observa la comparación del efecto inhibitorio *in vitro* entre la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), aceite esencial de timol al 25%, 50%, 75% y 100% de concentración y control positivo (clorhexidina al 0.12%) frente a cepas de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, los resultados mostraron que la media más alta se registra en la aplicación de la arcilla de hidralgirita con 17,81mm, el control positivo (clorhexidina al 0.12%) tiene un efecto menor en comparación a la concentración del 100% de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) teniendo una media de 16,92mm, la concentración del 75% de la arcilla de hidralgirita(*CHAQO*) ocupa el tercer lugar con mejor efecto inhibitorio con una media de 16,42mm, y 15,54mm de promedio tiene la concentración del 50% de la arcilla de hidralgirita(*CHAQO*), seguido por la concentración del 25% de la arcilla de hidralgirita(*CHAQO*) con un promedio de 13,83mm, en el conjunto de datos el aceite de timol a una concentración del 100% presenta un promedio más bajo con 11,82mm, incluso superado por el aceite esencial de timol al 75% con una media de 11,99mm y el aceite esencial de timol al 50% con una media de 13,69mm, sin embargo el aceite esencial de timol al 25% presenta una media mayor de 13,79mm con respecto a las tres últimas concentraciones, siendo así que el mayor halo de inhibición en el conjunto de datos es de 18,30mm y el menor halo de inhibición es de 11,40mm, todo esto evaluado a las 48 horas.

Mediante el análisis estadístico de H de Kruskal-Wallis se alcanzó un p-valor de 0.00 comparado con $\alpha = 0.05$ (95% de confiabilidad) donde se rechazó H_0 , se puede mencionar que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que al menos una de las aplicaciones presenta diferencias significativas a las demás aplicaciones, en la evaluación realizada a las 48 horas.



4.2 DISCUSIÓN

La finalidad del presente estudio, fue examinar *in vitro* la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) y el aceite esencial de timol en la inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans*, donde se utilizaron diferentes concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) del aceite esencial de timol, utilizando la clorhexidina a 0,12% siendo usada como un control positivo y por otro lado el agua destilada como un control negativo, siendo todos estos examinados a las 24h y 48 h.

En función a los resultados encontrados en este estudio se permitió reconocer a la hipótesis planteada, dicha que indicaría que la arcilla de hidralgiritita (*Chaço*) es mayor al aceite esencial de timol en la acción inhibitoria del desarrollo de *Streptococcus mutans* en la ciudad de Puno.

Se encontraron antecedentes similares que vinculan las variables estudiadas, En el 2016 Huacasi G.(18) realizó una investigación *in vitro*, sobre la efectividad de la arcilla de hidralgiritita así como de la clorhexidina en contra del desarrollo de *Porphyromona gingivalis*. Al comparar la arcilla de hidralgiritita y la clorhexidina, los resultados demostraron que el 0.5% de arcilla de hidralgiritita evidenció una acción inhibitoria positiva para el control del desarrollo de *Porphyromona gingivalis* ATCC de forma *in vitro*, estadísticamente se halló una diferencia significativa de la arcilla de hidralgiritita siendo comparada con el control (clorhexidina a 0,12%) lo que viene a llamar profundamente la atención acerca del potencial que tiene la arcilla de hidralgiritita; no obstante los resultados que se recolectaron en este análisis investigativo, también muestran la alta eficacia de la arcilla de hidralgiritita(*chaço*) sobre cepas de *Streptococcus mutans*, con halos inhibitorios de 18.03 mm al 100% de concentración después de 24 horas. Demostrando que tiene un efecto inhibitorio similar en comparación a la clorhexidina a 0.12%.



En el actual estudio investigativo también se comprobó la efectividad en la inhibición que posee el aceite esencial de timol en contra de cepas del *Streptococcus mutans*, donde los resultados revelaron que a menor concentración mayor será el efecto inhibitorio obteniendo un promedio de 14.35 mm al 25% de concentración a las 24 horas, después de las 48 horas los halos de inhibición se mantuvieron estables, donde la aplicación del timol al 25% fue (0.25 ml de aceite esencial de timol disuelto en alcohol absoluto 99.7 de pureza Q.P.). Sin embargo, Erazo M. et al en el 2017(6) en su investigación colocaron 20 μ L de las soluciones de los aceites esenciales de: eugenol, cinamaldehído y timol al 0,1 y 1 % de concentración; así como la clorhexidina al 0,12 % por 24 y 48 horas. Donde observaron que timol al 1% hizo un halo de inhibición de 17.33mm a las 48 horas, superando a la clorhexidina al 0.12% que actuó como control positivo, con una media de 14.6 mm después de 48 h, demostrando que a mayor concentración, el efecto antibacteriano será mayor, en comparación con los resultados del presente estudio no se ha observado valores idénticos ya que existe una diferencia en las concentraciones de las soluciones que se realizaron, lo cual indica que el efecto antibacteriano estaría relacionado con las concentraciones. También en el estudio realizado por Erazo M. en el 2017(16) coincide con la investigación anterior debido a la similitud de las concentraciones, donde se pudo confirmar que el timol al 1 % de concentración tendrá mejores efectos que la clorhexidina al 0.12% y al timol al 0.1 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

También en el estudio realizado por Ayala J. et al en el 2017(14) evalúa el timol sobre cepas de *Candida albicans* al 0.1%, 0.5% y 1% a las 24 y 48 horas donde se hace evidencia que el timol al 1% (0.25g de timol más 25ml de dimetilsulfoxido como solvente) presentó un halo de 17.60mm a las 24 horas frente al *C. albicans*, superando a la clorhexidina al 0,12% de 13.60 mm de halo de inhibición, y a las 48 horas los valores se mantuvieron estables, lo cual no guarda relación del todo con la investigación realizada



según la tabla N° 6 y 7 donde se ha demostrado que el efecto de la clorhexidina al 0.12% es superior a los promedios del timol tanto a las 24h y 48 h, debido a que esta investigación fue realizada sobre una bacteria diferente (*Streptococcus mutans*).



V. CONCLUSIONES

PRIMERO: Existe efecto inhibitorio *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita(*chaqo*) así como también del aceite esencial de timol en contra de la proliferación de *Streptococcus mutans* en la ciudad de Puno-2021 tanto a las 24 y 48 horas.

SEGUNDO: La arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) al 100 % de concentración, demostró un mayor efecto inhibitorio *in vitro* en contra de la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM, generando promedios de halos de inhibición de 18.03mm, ubicándolo como “Muy sensible”, teniendo en cuenta la escala de Duraffourd después de 24h. De manera que, a una mayor concentración, la acción inhibitoria será más eficaz.

TERCERO: La arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) usada a una concentración de 100%, presentó un mejor efecto inhibitorio *in vitro* en contra de la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM, generando promedios de 17.83mm, situándolo como “Muy sensible”, teniendo como base a la escala de Duraffourd dentro de las 48h.

CUARTO: El aceite esencial de timol a 25 % de concentración, desarrolló un mayor efecto inhibitorio *in vitro* en contra de la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM, produciendo halos inhibitorios teniendo una media de 14.19mm, ubicándolo como “Sensible”, conforme a la jerarquía de Duraffourd después de 24 horas. Por ende, el manejo de una menor concentración posee una mayor acción inhibitoria.

QUINTO: El aceite volátil de timol usada al 25 % de concentración, presentó un efecto inhibitorio *in vitro* superior en contra de la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM, produciendo halos de inhibición de 13.79mm, ubicándolo como “Sensible”, teniendo como base a la escala de Duraffourd dentro de las 48h.



SEXTO: La clorhexidina en 0.12% de concentración, como grupo control, demostró un mayor halo inhibitorio *in vitro* a las 24 horas y una reducción mínima a las 48 horas en contra de cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM.

SÉPTIMO: La arcilla de hidalgirita (*CHAQO*) al 100% de concentración tiene mayor efecto inhibitorio en comparación a las concentraciones del aceite volátil de timol dentro de las 24 horas sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM.

OCTAVO: La arcilla de hidalgirita (*CHAQO*) al 100% de concentración desarrolló un mayor efecto inhibitorio en comparación a las concentraciones empleadas del aceite esencial de timol dentro de las 48h sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM.



VI. RECOMENDACIONES

Para los análisis posteriores se aconseja:

PRIMERO: A los futuros profesionales de odontología se recomienda desarrollar análisis de forma *in vitro* de la arcilla de hidralgiritita (*Chaqo*) y del timol evaluando concentraciones diferentes, en distintas bacterias patógenas orales, para expandir la efectividad de la acción inhibitoria.

SEGUNDO: A los profesionales de la odontología se recomienda llevar a cabo trabajos comparativos *in vitro* usando otras variedades y concentraciones de arcilla de *Chaqo* y su efecto en otro tipo de microorganismos.

TERCERO: A los futuros tesisistas de odontología, se pone en recomendación que se efectúen estudios *in vivo* usando diferentes concentraciones de arcilla de hidralgiritita (*Chaqo*) y del timol sobre cultivos de *Streptococcus mutans*, para corroborar la efectividad inhibitoria.

CUARTO: A los futuros investigadores de la escuela profesional de odontología, se aconseja el desarrollo de más análisis aplicativos usando la arcilla de hidralgiritita (*Chaqo*) y del timol, ya que actualmente no existe mayores antecedentes.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ojeda Garces J, Ovieda Garcia E, Salas LA. Streptococcus mutans and dental caries. Rev CES Odontol. 2013;26(1):44–56.
2. Organizacion Mundial de la Salud. Salud bucal [Internet]. World Health Organization. 2020 [cited 2021 Oct 7]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
3. Ministerio de salud del Perú. Salud bucal [Internet]. MINSA. 2019 [cited 2022 Jan 28]. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>
4. Direccion Regional de Salud Puno. Salud bucal [Internet]. DIRESA-PUNO. 2022 [cited 2022 Dec 19]. Available from: <https://www.diresapuno.gob.pe/con-exito-se-desarrollo-el-lanzamiento-de-la-campana-por-el-dia-del-cepillado-dental/>
5. Cardentey J. Empleo de la medicina natural y tradicional en el tratamiento estomatológico. Rev Arch Médico Camagüey. 2015;19(3):316–21.
6. Erazo M, Arroyo F, Arroyo D, Castro M, Santacruz S, Armas A. Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de Streptococcus mutans. Rev Cuba Estomatol. 2017;54(4):1–9.
7. Castillo O, Frisancho O. El “chaco”: arcilla medicinal comestible del altiplano peruano y sus propiedades en la patología digestiva. Rev Gastroenterol del Perú. 2014;35(1):97–9.
8. Núñez D, Garcia Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. Rev Habanera Ciencias Médicas. 2010;9(2):156–66.
9. Graciano ME, Correa YA, Martínez CM, Burgos A, Ceballos JI, Sánchez LF. Streptococcus mutans y caries dental en América Latina. Revisión sistémica de la literatura. Rev Nac Odontol. 2012;8(14):32–45.



10. Lazo Meneses G. Problemática actual en salud bucal en el Perú. *Rev Sci.* 2017;3(2):55–8.
11. Higashida Hirose BY. *Odontología preventiva*. 2da Ed. McGraw-Hill, editor. México; 2009. 307 p.
12. Pimentel Ramirez E, Castillo Andamayo D, Quintana Del Solar M, Maurtua Torres D, Villegas Vélchez L, Díaz Santisteban C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev Estomatológica Hered.* 2015;25(3):268–77.
13. Ramirez Alanoca GF, Copa Gisbert VJ. PHASA: Todo sobre la arcilla comestible. *Rev Cient Ciencias Médicas.* 2020;23(2):240–6.
14. Ayala J, Jibaja T, Sotelo E, Montaña V, Soler A, Armas A. Efecto antimicótico del timol sobre cepas de *Candida albicans*: estudio in vitro. *Rev KIRU.* 2019;16(4):141–6.
15. Jafri H, Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J Mycol Med.* 2019;1(1):1–18.
16. Erazo Guijarro M. Efecto antimicrobiano del timol sobre cepas de *Streptococcus mutans*: Estudio in vitro. 2017.
17. Schovelin H. A, Muñoz C. M. Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (*Origanum vulgare*) sobre el Crecimiento in Vitro de *Streptococcus mutans*, 2015. *Int J Odontostomatol.* 2018;12(4):337–42.
18. Huacasi Supo GW. Efecto de la arcilla de hidralgiritá y de la clorhexidina en el crecimiento de *Porphyromona gingivalis*, e identificación molecular en pacientes con periodontitis crónica de la especialidad de periodoncia e implantología UCSM,



- Arequipa. 2016.
19. Guerrero Alva DM. EL CCHACCO: Composición físico-química y uso alimentario. *Rev Univ Nac Jorge Basadre Grohmann*. 2019;1(1):49–58.
 20. Arévalo Rivas LD, Rodríguez Valles JL, Dave Ruberto E. Efecto De La Arcilla Medicinal En Quemaduras De Segundo Grado En Pacientes Del Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren. *Rev Peru Med Integr*. 2016;1(1):25–30.
 21. Simón Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. 2015;23(2):76–82.
 22. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. Dental caries: The Disease and Its Clinical Management. 3ra ed. Wiley Blackwell, editor. Oxford; 2015. 466 p.
 23. Duque De Estrada Riverón J, Pérez Quiñonez JA, Hidalgo Fuentes I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev Cuba Estomatol*. 2006;43(1):1–12.
 24. Negroni M, Molgatini S. Microbiología estomatológica. 3ra Ed. Editorial médica panamericana S.A.C.F, editor. Argentina; 2018. 771 p.
 25. Chimenos Kustner E, López López J. Efectividad de los colutorios antisépticos en el tratamiento de las lesiones inflamatorias de la mucosa oral. Actualización de conocimientos. *Rev Gac Dent*. 2010;1(1):116–23.
 26. Marion J, Pavan K, Arruda M, Nakashima L, Morais C. Chlorhexidine and its applications in Endodontics. *Dent Press Endod*. 2013;3(3):36–54.
 27. Peredo H, Palou E, López A. Aceites esenciales: métodos de extracción. Vol. 3, Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 2009. p. 24–32.
 28. Martínez M. A. Aceites Esenciales. Univ de Antioquia. 2003;1(1):1–34.
 29. Gómez J, Sánchez J, Ocampo A, Restrepo J. Aplicación de redes neuronales en la clasificación de arcillas. *Rev EIA*. 2012;1(17):183–91.



30. Browman DL. Tierras comestibles de la Cuenca del Titicaca: Geofagia en la prehistoria boliviana. *Estud atacameños*. 2004;1(28):133–41.
31. Bernal I, Cabezas H, Espitia C, Mojica J, Quintero J. Análisis Próximo De Arcillas Para Cerámica. *Rev Académica Colomb Cienc*. 2003;27:1–4.
32. Roque L. Caracterización físico – química y grado de conocimiento de los consumidores y comercializadores de las arcillas comestibles (cha'qo) de la región de puno. 2017.
33. Linares J, Huertas F, Capel J. La arcilla como material cerámico. Características y comportamiento. *Rev Univ Granada*. 1983;8:480–90.
34. García E, Suárez M, Aranibar M. Arcilla chacko en alimentación animal. *Rev Investig la Esc Post grado la U NA-PUNO*. 2006;201–4.
35. Cancapa V. Análisis comparativo del efecto citoprotector y terapéutico de la monoterapia y tratamiento combinado con ch'aqo (Silicato de Aluminio Hidratado) y sangre de grado (Croton Lechleri), en unidades experimentales inducidas a gastritis aguda, Arequipa, 2016. Vol. 1. 2016.
36. Romero E. Elaboración y efecto de una bebida tipo néctar a base de la arcilla CH 'AQO (MONTCHACK) en la gastritis inducida por estrés en ratas Wistar. 2013.
37. Avello L. M, Cisternas F. I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev Medica Chile*. 2010;138(10):1288–93.
38. Alarcón Galleguillos M, Fernández Da Silva R. Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en Odontología. *Rev Salus*. 2013;17(3):42–50.
39. Bogdan S, Deyá C, Romagnoli R. Evaluación de timol para el control antifúngico sobre películas de pintura. *Rev Matéria*. 2015;20(3):699–704.
40. Garcia R, Palou E. Mecanismo de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. *Rev Univ las Américas Puebla*.



- 2008;2:41–51.
41. Lee S, Buber M, Yang Q, Cerne R, Cortés R, Sprous D, et al. Thymol and related alkyl phenols activate the hTRPA1 channel. *Rev Br Pharmacol.* 2008;153(8):1739–49.
 42. Kohlert C, Schindler G, März RW, Abel G, Brinkhaus B, Derendorf H, et al. Systemic Availability and Pharmacokinetics of Thymol in Humans. *Rev Clin Pharmacol.* 2002;42:731–7.
 43. Domaracký M, Reháč P, Juhás Š, Koppel J. Effects of selected plant essential oils on the growth and development of mouse preimplantation embryos in vivo. *Rev Physiol Res.* 2007;56(1):97–104.
 44. Maquera Quispe Y, Monroy Ticona S. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Caléndula officinalis* L. en *Streptococcus mutans*, Puno-2019. 2019;92.



ANEXOS



ANEXO A: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Concentraciones y controles	Nro. De placa Petri	Mediciones de halos de inhibición a las 24 horas					
		Repeticiones de discos sensitivos					
		1	2	3	4	5	6
<i>Aceite esencial de timol al 25%</i>	1	14.5mm	14.7mm	14.9mm	14.6mm	14.5mm	14.8mm
	2	13.9mm	13.7mm	13.7mm	13.6mm	13.7mm	13.6mm
	3	14.5mm	14.4mm	14.6mm	14.7mm	14.8mm	14.9mm
	4	14.1mm	14.2mm	14mm	14.3mm	14.3mm	14mm
	5	13.9mm	13.7mm	13.8mm	13.6mm	13.8mm	13.9mm
<i>Aceite esencial de timol al 50%</i>	6	14.3mm	14.4mm	14.5mm	14.3mm	14.5mm	14.4mm
	7	13.7mm	13.5mm	13.6mm	13.7mm	13.8mm	13.6mm
	8	13.6mm	13.7mm	13.4mm	13.5mm	13.6mm	13.7mm
	9	14.2mm	14.3mm	14.5mm	14.4mm	14.3mm	14.2mm
	10	13.9mm	14.1mm	13.9mm	13.8mm	14mm	14.2mm
<i>Aceite esencial de timol al 75%</i>	11	12.4mm	12.5mm	12.4mm	12.3mm	12.4mm	12.5mm
	12	12.7mm	12.8mm	12.7mm	12.8mm	12.8mm	12.9mm
	13	13.1mm	13.1mm	13.2mm	13mm	13.3mm	13.2mm
	14	12.6mm	12.7mm	12.8mm	12.6mm	12.5mm	12.5mm
	15	12.4mm	12.3mm	12.3mm	12.4mm	12.4mm	12.4mm
<i>Aceite esencial de timol al 100%</i>	16	12.6mm	12.5mm	12.4mm	12.5mm	12.6mm	12.4mm
	17	12.1mm	12.3mm	12mm	12.2mm	12.3mm	12.1mm
	18	12.4mm	12.3mm	12.3mm	12.4mm	12.3mm	12.3mm
	19	12.3mm	12.4mm	12.4mm	12.3mm	12.4mm	12.5mm
	20	12.7mm	12.7mm	12.7mm	12.8mm	12.7mm	12.8mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%</i>	21	14.8mm	14.7mm	14.9mm	14.6mm	14.7mm	14.8mm
	22	14.9mm	14.8mm	14.7mm	14.6mm	14.7mm	14.6mm
	23	14.3mm	14.4mm	14.5mm	14.5mm	14.3mm	14.3mm
	24	14.1mm	14.2mm	14.1mm	14.3mm	14.4mm	14.3mm
	25	14.3mm	14.2mm	14.3mm	14.3mm	14.2mm	14.2mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%</i>	26	15.3mm	15.4mm	15.3mm	15.4mm	15.5mm	15.3mm
	27	15.9mm	15.8mm	15.7mm	15.6mm	15.9mm	15.7mm
	28	15.4mm	15.5mm	15.3mm	15.4mm	15.6mm	15.6mm
	29	15.9mm	15.8mm	15.7mm	15.8mm	15.7mm	15.9mm
	30	15.5mm	15.6mm	15.4mm	15.5mm	15.6mm	15.4mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%</i>	31	16.5mm	16.4mm	16.3mm	16.6mm	16.2mm	16.3mm
	32	16.8mm	16.9mm	16.7mm	16.6mm	16.8mm	16.9mm
	33	16.4mm	16.5mm	16.7mm	16.6mm	16.4mm	16.6mm
	34	15.9mm	15.8mm	16mm	16.1mm	16.2mm	16.1mm
	35	16.9mm	16.8mm	16.7mm	16.8mm	16.9mm	16.8mm
<i>Arcilla de hidralgirita</i>	36	18.4mm	18.5mm	18.5mm	18.4mm	18.5mm	18.4mm
	37	17.9mm	17.8mm	17.8mm	17.8mm	17.9mm	17.8mm
	38	17.9mm	17.7mm	17.8mm	17.9mm	17.8mm	17.9mm
	39	18.4mm	18.2mm	18.4mm	18.3mm	18.2mm	18.4mm



<i>(CHAQO) al 100%</i>	40	17.7mm	17.6mm	17.8mm	17.9mm	17.6mm	17.8mm
Clorhexidina al 0.12% (control positivo)	41	17.5mm	17mm	17mm	17.6mm	17.5mm	17.4mm
	42	16.8mm	16.7mm	16.8mm	16.9mm	17mm	17.1mm
	43	17.3mm	17.4mm	17.3mm	17.2mm	17mm	17.1mm
	44	16.9mm	16.8mm	16.7mm	16.4mm	16.3mm	16.5mm
	45	17.5mm	17.7mm	17.5mm	17.6mm	17.8mm	17.5mm
Agua destilada (control negativo)	46	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	47	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	48	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	49	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	50	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm



Concentraciones y controles	Nro. De placa Petri	Mediciones de halos de inhibición a las 48 horas					
		Repeticiones de discos sensitivos					
		1	2	3	4	5	6
<i>Aceite esencial de timol al 25%</i>	1	14.1mm	14.3mm	14.5mm	14.2mm	14.1mm	14.4mm
	2	13.5mm	13.3mm	13.3mm	13.2mm	13.3mm	13.2mm
	3	14.1mm	14mm	14.2mm	14.3mm	14.4mm	14.5mm
	4	13.7mm	13.8mm	13.6mm	13.9mm	13.9mm	13.6mm
	5	13.5mm	13.3mm	13.4mm	13.2mm	13.4mm	13.5mm
<i>Aceite esencial de timol al 50%</i>	6	14mm	14.1mm	14.2mm	14mm	14.2mm	14.1mm
	7	13.4mm	13.2mm	13.3mm	13.4mm	13.5mm	13.3mm
	8	13.3mm	13.4mm	13.1mm	13.2mm	13.3mm	13.4mm
	9	13.9mm	14mm	14.2mm	14.1mm	14mm	13.9mm
	10	13.6mm	13.8mm	13.6mm	13.5mm	13.7mm	13.9mm
<i>Aceite esencial de timol al 75%</i>	11	11.8mm	11.9mm	11.8mm	11.7mm	11.8mm	11.9mm
	12	12.1mm	12.2mm	12.1mm	12.2mm	12.2mm	12.3mm
	13	12.1mm	12.1mm	12.2mm	12mm	12.3mm	12.2mm
	14	12mm	12.1mm	12.2mm	12mm	11.9mm	11.9mm
	15	11.8mm	11.7mm	11.7mm	11.8mm	11.8mm	11.8mm
<i>Aceite esencial de timol al 100%</i>	16	12mm	11.9mm	11.8mm	11.9mm	12mm	11.8mm
	17	11.5mm	11.7mm	11.4mm	11.6mm	11.7mm	11.5mm
	18	11.8mm	11.7mm	11.7mm	11.8mm	11.7mm	11.7mm
	19	11.7mm	11.8mm	11.8mm	11.7mm	11.8mm	11.9mm
	20	12.1mm	12.1mm	12.1mm	12.2mm	12.1mm	12.2mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%</i>	21	13.6mm	13.5mm	13.7mm	13.4mm	13.5mm	13.6mm
	22	13.7mm	13.6mm	13.5mm	13.4mm	13.5mm	13.4mm
	23	13.1mm	13.2mm	13.3mm	13.3mm	13.1mm	13.1mm
	24	14.3mm	14.4mm	14.3mm	14.5mm	14.6mm	14.5mm
	25	14.5mm	14.4mm	14.5mm	14.5mm	14.4mm	14.4mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%</i>	26	15.6mm	15.7mm	15.6mm	15.7mm	15.8mm	15.6mm
	27	15.3mm	15.2mm	15.1mm	15mm	15.3mm	15.1mm
	28	15.7mm	15.8mm	15.6mm	15.7mm	15.9mm	15.9mm
	29	15.4mm	15.3mm	15.2mm	15.3mm	15.2mm	15.4mm
	30	15.8mm	15.9mm	15.7mm	15.8mm	15.9mm	15.7mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%</i>	31	16.1mm	16mm	16.1mm	16.2mm	16.5mm	16.6mm
	32	16.4mm	16.5mm	16.3mm	16.2mm	16.4mm	16.5mm
	33	16.7mm	16.8mm	17mm	16.9mm	16.7mm	16.9mm
	34	16.2mm	16.1mm	16.3mm	16.4mm	16.5mm	16.4mm
	35	16.4mm	16.3mm	16.2mm	16.3mm	16.4mm	16.3mm
<i>Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%</i>	36	17.2mm	17.4mm	18.3mm	18.2mm	18.3mm	18.2mm
	37	17.9mm	17.6mm	17.7mm	17.6mm	17.2mm	17.7mm
	38	17.4mm	17.5mm	17.6mm	17.7mm	17.6mm	17.7mm
	39	18.2mm	18mm	18.2mm	18.1mm	18mm	18.2mm
	40	17.9mm	17.8mm	17.9mm	17.8mm	17.7mm	17.9mm
	41	17.3mm	16.8mm	16.8mm	17.4mm	17.3mm	17.2mm



Clorhexidina al 0.12% (control positivo)	42	16.6mm	16.5mm	16.6mm	16.7mm	16.8mm	16.9mm
	43	17.1mm	17.2mm	17.1mm	17mm	16.8mm	16.9mm
	44	16.7mm	16.6mm	16.5mm	16.2mm	16.1mm	16.3mm
	45	17.3mm	17.5mm	17.3mm	17.4mm	17.6mm	17.3mm
Agua destilada (control negativo)	46	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	47	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	48	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	49	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
	50	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm



ANEXO B: SOLICITUD DE CARTA DE PRESENTACIÓN PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

**SOLICITAMOS: CARTA DE PRESENTACION PARA
EJECUCION DE PROYECTO DE TESIS**

SEÑOR DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD.

DR. JORGE LUIS MERCADO PORTAL

Los egresados de la E.P. de Odontología, con el debido respeto nos presentamos y exponemos:

Que, habiéndose aprobado nuestro perfil de proyecto de tesis grupal con código 2021-1708 el día 11 del mes de abril del año en curso solicito a su despacho brindarnos una **carta de presentación para la ejecución del proyecto de tesis grupal en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Humana de nuestra Universidad Nacional del Altiplano- Puno**, Para lo cual adjuntamos al presente documento el acta de aprobación del perfil de proyecto de tesis correspondiente.

Por lo expuesto solicitamos a Ud. acceder a nuestra petición por ser justa y legal, y agradeciendo anticipadamente la atención que pone a esta solicitud.

Puno, 12 de abril del 2022.

Atentamente,

Sanca Apaza Thalia Margoth
DNI: 75233473

Huarachi Ito Henry Richar
DNI: 46093047



ANEXO C. CARTA DE PRESENTACIÓN PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD,
ESCUELAS PROFESIONALES DE: NUTRICIÓN HUMANA Y ODONTOLÓGIA.



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Puno, abril 27 de 2022.

CARTA N° 009-2022-D-FCDS-UNA-P.

Señor
Dr. Gilberto Félix Peña Vicuña
Decano de la Facultad de Medicina Humana
Universidad Nacional del Altiplano - Puno



Ciudad.-

ASUNTO: Solicito brindar facilidades a los Bachs. Thalia M. Sanca Apaza y Henry R. Huarachi Ito, para que hagan uso del laboratorio de Microbiología de la Facultad que dirige, para la ejecución de su tesis.

Me dirijo a usted, para manifestarle que los bachilleres THALIA MARGOTH SANCA APAZA y HENRRY RICAR HUARACHI ITO de la Escuela Profesional de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud- UNA, realizarán la ejecución de su proyecto de tesis titulado " Evaluación In Vitro de la Arcilla de Hidralgiritá (chaqo) y del Aceite Esencial de Timol en la inhibición de Crecimiento de Streptococcus Mutans, Puno 2021", para lo cual requieren hacer uso del Laboratorio de Microbiología de la Facultad que representa.

Motivo por el cual, agradeceré se sirva brindarles las facilidades que el caso requiera

Sin otro particular, le expreso mi consideración distinguida.

Atentamente;



DT. JORGE LUIS MERCADO PORTAL
DECANO - FCDS

C.c.
Arch' 22
JLMP/rq.



ANEXO D. CONSTANCIA DE ANÁLISIS DEL ACEITE ESENCIAL DEL TIMOL

SILVERLINE CHEMICALS

MFRS. & EXPORTERS OF
MENTHOL CRYSTALS, PHARMACEUTICAL RAW MATERIALS / API, SPICES & ESSENTIAL OIL



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ITEM	Thymol	EP/USP	
LOT NO.	TY17656618	MFG. DATE	SEP2020
LOT SIZE	200 Kg.	EXP DATE	AUG2025
ORIGIN	India	INVOICE	

Parameters	Specifications	Results
Description	Colorless Crystals,	Colorless Crystals,
MOLECULAR WEIGHT	150.2	Complies
Solubility	AT 25.C 80% Alcohol: Clearly soluble in 3 parts Diethyl phthalate: Soluble in all proportions Propylene Glycol: Soluble in all proportions	Complies
Odor	Warm, thyme like, phenolic	Warm, thyme like, phenolic
Identification B,C,D	Complies	Complies
Infrared Spectrum	Comparable to thymol CRS	Complies
Color reaction test -C	Violet color of solution	Complies
Color reaction test -D	Blush green color of solution	Complies
Appearance of Solution	Ref: Suspension IV Ref Soln Rs	Complies
Refractive Index	1.5227	1.5227
Flash point	102.C TO 110.C	105.C
Specific Gravity	0.975	0.975
Melting Point	49.C TO 51.C	50.C
Boiling point	233.C TO 234.C	233.C
Limit of Non Volatile Residue	Less Than 0.05%	0.02%
Acidity	Complies	Complies
Organic Volatile Residue(OVI)	ISO PROPYL ALCOHOL(IPA)	0.20%
Residual solvents<467>	Not more than 5000 ppm or 0.5%	
Related substances	Not More than 1%	0.30
Assay(By titration)	NLT 99%	99.50%



A GOVT. OF INDIA RECOGNIZED EXPORT HOUSE

Work & Office :

Shingla Carpets Bldg.,
Near District Courts, G.T. Road,
Panipat-132103 (Haryana) India

Tel. : 91-180-4069361, 91-120-4281519
Fax : 91-180-4038265
24 Hrs. Customer Care : +91-9810339289

E-mail : sales@silverlinechemicals.com
raman@silverlinechemicals.com
web : www.silverlinechemicals.com





SILVERLINE CHEMICALS



MFRS. & EXPORTERS OF
MENTHOL CRYSTALS, PHARMACEUTICAL RAW MATERIALS / API, SPICES & ESSENTIAL OIL

MICROBIOLOGY		
TAMC	NMT 1000 CFU/GM	30 CFU/GM
TAYC	NMT 100 CFU/GM	20 CFU/GM
Pseudomonas aeruginosa	Absent in 1 gm	Absent
Staphylococcus aureus	Absent in 1 gm	Absent
Bile Tolerant Enterobacteria	Absent in 1 gm	Absent

REMARKS: The above product complies with standard of quality as per EP-9 / USP-40/NF

THIS PRODUCT IS FREE OF ANIMAL INPUTS



A GOVT. OF INDIA RECOGNIZED EXPORT HOUSE

Work & Office :
Shingla Carpets Bldg.,
Near District Courts, G.T. Road,
Panipat-132103 (Haryana) India

Tel. : 91-180-4069361, 91-120-4281519
Fax : 91-180-4008265
24 Hrs. Customer Care : +91-9810339289

E-mail : sales@silverlinechemicals.com
raman@silverlinechemicals.com
web : www.silverlinechemicals.com





ANEXO E: CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA



Universidad Nacional del Altiplano - Puno
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA

EL QUE SUSCRIBE:

La cepa adquirida constituido por cepas liofilizado de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Minnesota, USA, importado por Genlab del Perú SAC), certifica la pureza tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. La cepa bacteriana comercial es rehidratada y cultivada en placas de TSA (Trypticase Soy Agar), que fueron suplementadas con sangre de cordero al 10%. Las muestras fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis, a 37°C, durante 5 días.
2. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es el agar sangre para observar la actividad hemolítica, y los complejos antígeno anticuerpo.
3. Características ambientales.
 - a. Mesófilo, crece a temperaturas entre 18 a 40 °C.
 - b. Acidófilo, vive en medio de pH bajo.
 - c. Anaerobio facultativo.
4. Para la identificación del *Streptococcus mutans*, se tomó en cuenta los criterios fenotípicos.
 - a. Morfología macroscópica, borde irregular, elevación cóncava, color blanquecino, forma irregular.
 - b. Morfología microscópica, bacteria coco gram positivo, dispuesta en cadena.
 - c. Resistencia o sensibilidad a los antibióticos:
Resistente a la amoxicilina y bacitracina, Sensible a los betalactámicos.
 - d. Propiedades bioquímicas, oxidasa y catalasa negativa, fermentación positiva de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina.



LIC. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO



ANEXO F: CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS



Universidad Nacional del Altiplano - Puno
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
LABORATORIOS



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DE LABORATORIOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA UNA - PUNO

HACE CONSTAR:

Que, los bachilleres **Thalia Margoth SANCA APAZA**, identificado con DNI. 75233473, con código de matrícula N° 140084 Y **Henry Richar HUARACHITO**, con DNI 46093047 con código de matrícula N° 124415, egresados de la Escuela Profesional de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, quienes han realizado su Proyecto de Tesis titulado: **“EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ARCILLA DE HIDRALGIRITA (CHAQO) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE TIMOL EN LA INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO DE *Streptococcus mutans*, PUNO 2021.”**, en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de esta Facultad, en las fecha de mayo 2022 a Julio del 2022.

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados, para los fines que estime conveniente.

Puno, 29 de julio del 2022



Lic. **Baldemar Lario Palacios Pizarro**
DNI: 01425001
ESPECIALISTA EN ODONTOLÓGIA



ANEXO G: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA A LAS 24 HORAS

Descriptivos

Aplicación a las 24 horas		Estadístico	Error estándar	
HALO DE INHIBICION en mm al 25%	Arcilla de hidralgirita (CHAQO)	Media	14,4667	,04506
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	14,3745	
		Límite superior	14,5588	
	Media recortada al 5%	14,4630		
	Mediana	14,4000		
	Varianza	,061		
	Desviación estándar	,24682		
	Mínimo	14,10		
	Máximo	14,90		
	Rango	,80		
	Rango intercuartil	,40		
	Asimetría	,294	,427	
	Curtosis	-1,246	,833	
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%	Arcilla de hidralgirita (CHAQO)	Media	15,5800
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	15,5057	
		Límite superior	15,6543	
Media recortada al 5%		15,5778		
Mediana		15,6000		
Varianza		,040		
Desviación estándar		,19896		
Mínimo		15,30		
Máximo		15,90		
Rango		,60		
Rango intercuartil		,32		
Asimetría		,212	,427	
Curtosis		-1,149	,833	
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%		Arcilla de hidralgirita (CHAQO)	Media	16,5067
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,3874	
		Límite superior	16,6259	
	Media recortada al 5%	16,5222		
	Mediana	16,6000		
	Varianza	,102		
	Desviación estándar	,31941		
	Mínimo	15,80		
	Máximo	16,90		
	Rango	1,10		
	Rango intercuartil	,53		
	Asimetría	-,595	,427	
	Curtosis	-,630	,833	
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%	Arcilla de hidralgirita (CHAQO)	Media	18,0333
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	17,9188	
		Límite superior	18,1478	



	Media recortada al 5%	18,0315	
	Mediana	17,9000	
	Varianza	,094	
	Desviación estándar	,30663	
	Mínimo	17,60	
	Máximo	18,50	
	Rango	,90	
	Rango intercuartil	,60	
	Asimetría	,354	,427
	Curtosis	-1,523	,833
Aceite esencial de timol al 25%	Media	14,1900	,08028
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	14,0258 14,3542
	Media recortada al 5%	14,1833	
	Mediana	14,1500	
	Varianza	,193	
	Desviación estándar	,43971	
	Mínimo	13,60	
	Máximo	14,90	
	Rango	1,30	
	Rango intercuartil	,82	
	Asimetría	,166	,427
	Curtosis	-1,441	,833
Aceite esencial de timol al 50%	Media	13,9867	,06499
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	13,8537 14,1196
	Media recortada al 5%	13,9889	
	Mediana	13,9500	
	Varianza	,127	
	Desviación estándar	,35597	
	Mínimo	13,40	
	Máximo	14,50	
	Rango	1,10	
	Rango intercuartil	,63	
	Asimetría	-,001	,427
	Curtosis	-1,513	,833
Aceite esencial de timol al 75%	Media	12,6667	,05474
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	12,5547 12,7786
	Media recortada al 5%	12,6537	
	Mediana	12,6000	
	Varianza	,090	
	Desviación estándar	,29981	
	Mínimo	12,30	
	Máximo	13,30	
	Rango	1,00	
	Rango intercuartil	,43	



	Asimetría		,658	,427
	Curtosis		-,699	,833
Aceite esencial de timol al 100%	Media		12,4233	,03766
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,3463	
		Límite superior	12,5003	
	Media recortada al 5%		12,4241	
	Mediana		12,4000	
	Varianza		,043	
	Desviación estándar		,20625	
	Mínimo		12,00	
	Máximo		12,80	
	Rango		,80	
	Rango intercuartil		,30	
	Asimetría		,144	,427
	Curtosis		-,429	,833
Clorhexidina al 0.12%	Media		17,1267	,07270
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,9780	
		Límite superior	17,2754	
	Media recortada al 5%		17,1352	
	Mediana		17,1000	
	Varianza		,159	
	Desviación estándar		,39821	
	Mínimo		16,30	
	Máximo		17,80	
	Rango		1,50	
	Rango intercuartil		,70	
	Asimetría		-,274	,427
	Curtosis		-,755	,833
Agua destilada	Media		,0000	,00000
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,0000	
		Límite superior	,0000	
	Media recortada al 5%		,0000	
	Mediana		,0000	
	Varianza		,000	
	Desviación estándar		,00000	
	Mínimo		,00	
	Máximo		,00	
	Rango		,00	
	Rango intercuartil		,00	
	Asimetría		.	.
	Curtosis		.	.



ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA A LAS 48 HORAS

		Descriptivos		Error
Aplicación a las 48 horas		Estadístico	estándar	
HALO DE INHIBICION en mm al 25%	Arcilla de hidralgiritá (CHAQO)	Media	13,8267	,09778
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,6267	
		Límite superior	14,0267	
	Media recortada al 5%	13,8259		
	Mediana	13,6000		
	Varianza	,287		
	Desviación estándar	,53558		
	Mínimo	13,10		
	Máximo	14,60		
	Rango	1,50		
	Rango intercuartil	1,00		
	Asimetría	,205	,427	
	Curtosis	-1,679	,833	
	Arcilla de hidralgiritá (CHAQO) al 50%	Arcilla de hidralgiritá (CHAQO)	Media	15,5400
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	15,4359	
		Límite superior	15,6441	
Media recortada al 5%		15,5481		
Mediana		15,6000		
Varianza		,078		
Desviación estándar		,27867		
Mínimo		15,00		
Máximo		15,90		
Rango		,90		
Rango intercuartil		,50		
Asimetría		-,383	,427	
Curtosis		-1,202	,833	
Arcilla de hidralgiritá (CHAQO) al 75%		Arcilla de hidralgiritá (CHAQO)	Media	16,4200
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,3242	
		Límite superior	16,5158	
	Media recortada al 5%	16,4111		
	Mediana	16,4000		
	Varianza	,066		
	Desviación estándar	,25650		
	Mínimo	16,00		
	Máximo	17,00		
	Rango	1,00		
	Rango intercuartil	,32		
	Asimetría	,655	,427	
	Curtosis	-,136	,833	
	Arcilla de hidralgiritá (CHAQO) al 100%	Arcilla de hidralgiritá (CHAQO)	Media	17,8167
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	17,6998	
		Límite superior	17,9336	



	Media recortada al 5%	17,8241	
	Mediana	17,8000	
	Varianza	,098	
	Desviación estándar	,31303	
	Mínimo	17,20	
	Máximo	18,30	
	Rango	1,10	
	Rango intercuartil	,52	
	Asimetría	-,180	,427
	Curtosis	-,707	,833
Aceite esencial de timol al 25%	Media	13,7900	,08028
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	13,6258 13,9542
	Media recortada al 5%	13,7833	
	Mediana	13,7500	
	Varianza	,193	
	Desviación estándar	,43971	
	Mínimo	13,20	
	Máximo	14,50	
	Rango	1,30	
	Rango intercuartil	,82	
	Asimetría	,166	,427
	Curtosis	-1,441	,833
Aceite esencial de timol al 50%	Media	13,6867	,06499
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	13,5537 13,8196
	Media recortada al 5%	13,6889	
	Mediana	13,6500	
	Varianza	,127	
	Desviación estándar	,35597	
	Mínimo	13,10	
	Máximo	14,20	
	Rango	1,10	
	Rango intercuartil	,63	
	Asimetría	-,001	,427
	Curtosis	-1,513	,833
Aceite esencial de timol al 75%	Media	11,9867	,03482
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	11,9155 12,0579
	Media recortada al 5%	11,9852	
	Mediana	12,0000	
	Varianza	,036	
	Desviación estándar	,19070	
	Mínimo	11,70	
	Máximo	12,30	
	Rango	,60	
	Rango intercuartil	,40	
	Asimetría	,044	,427



	Curtosis	-1,364	,833
Aceite esencial de timol al 100%	Media	11,8233	,03766
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	11,7463 11,9003
	Media recortada al 5%	11,8241	
	Mediana	11,8000	
	Varianza	,043	
	Desviación estándar	,20625	
	Mínimo	11,40	
	Máximo	12,20	
	Rango	,80	
	Rango intercuartil	,30	
	Asimetría	,144	,427
	Curtosis	-,429	,833
	Clorhexidina al 0.12%	Media	16,9267
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior Límite superior	16,7780 17,0754
Media recortada al 5%		16,9352	
Mediana		16,9000	
Varianza		,159	
Desviación estándar		,39821	
Mínimo		16,10	
Máximo		17,60	
Rango		1,50	
Rango intercuartil		,70	
Asimetría		-,274	,427
Curtosis		-,755	,833
Agua destilada		Media	,0000
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior Límite superior	,0000 ,0000
	Media recortada al 5%	,0000	
	Mediana	,0000	
	Varianza	,000	
	Desviación estándar	,00000	
	Mínimo	,00	
	Máximo	,00	
	Rango	,00	
	Rango intercuartil	,00	
	Asimetría	.	.
	Curtosis	.	.



PRUEBAS DE NORMALIDAD

Pruebas de normalidad - 24 horas

Aplicación a las 24 horas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HALO DE INHIBICION en mm						
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%	,217	30	,001	,917	30	,023
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%	,151	30	,081	,922	30	,030
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%	,148	30	,091	,928	30	,044
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%	,268	30	,000	,852	30	,001
Aceite esencial de timol al 25%	,145	30	,107	,915	30	,020
Aceite esencial de timol al 50%	,159	30	,052	,912	30	,017
Aceite esencial de timol al 75%	,178	30	,017	,905	30	,011
Aceite esencial de timol al 100%	,178	30	,016	,947	30	,140
Clorhexidina al 0.12%	,126	30	,200	,963	30	,372
Agua destilada	.	30	.	.	30	.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Pruebas de normalidad - 48 horas

Aplicación a las 48 horas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HALO DE INHIBICION en mm						
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%	,212	30	,001	,850	30	,001
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%	,185	30	,010	,911	30	,015
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%	,164	30	,038	,943	30	,107
Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%	,123	30	,200	,953	30	,198
Aceite esencial de timol al 25%	,145	30	,107	,915	30	,020
Aceite esencial de timol al 50%	,159	30	,052	,912	30	,017
Aceite esencial de timol al 75%	,170	30	,028	,914	30	,019
Aceite esencial de timol al 100%	,178	30	,016	,947	30	,140
Clorhexidina al 0.12%	,126	30	,200	,963	30	,372
Agua destilada	.	30	.	.	30	.

a. Corrección de significación de Lilliefors

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD

Prueba de homogeneidad de varianza - 24 Horas

HALO DE INHIBICION en mm	Se basa en la media	Estadístico de Levene			
		gl1	gl2	Sig.	
	Se basa en la media	18,010	9	290	,000
	Se basa en la mediana	13,382	9	290	,000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	13,382	9	223,912	,000
	Se basa en la media recortada	17,880	9	290	,000



Prueba de homogeneidad de varianza - 48 Horas

		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
HALO DE INHIBICION en mm.	Se basa en la media	24,809	9	290	,000
	Se basa en la mediana	15,712	9	290	,000
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	15,712	9	152,099	,000
	Se basa en la media recortada	24,686	9	290	,000

ESTADÍSTICA INFERENCIAL

Prueba de Kruskal-Wallis - 24 Horas

		Rangos	
Aplicación a las 24 Horas		N	Rango promedio
Halo de inhibición	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%	30	255,07
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%	30	198,68
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%	30	165,75
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%	30	120,97
	Aceite esencial de timol al 100%	30	23,35
	Aceite esencial de timol al 75%	30	37,65
	Aceite esencial de timol al 50%	30	91,20
	Aceite esencial de timol al 25%	30	104,33
	Clorhexidina al 0.12%	30	222,50
	Total	270	

Estadísticos de prueba^{a,b}

Halo de inhibición	
H de Kruskal-Wallis	256,364
gl	8
Sig. asin.	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Aplicación a las 24 Horas



Prueba de Kruskal-Wallis - 48 Horas

		Rangos	
	Aplicación a las 48 Horas	N	Rango promedio
Halo de inhibición	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 100%	30	254,52
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 75%	30	200,07
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 50%	30	165,50
	Arcilla de hidralgirita (CHAQO) al 25%	30	108,83
	Aceite esencial de timol al 100% -48H	30	23,92
	Aceite esencial de timol al 75% -48H	30	37,08
	Aceite esencial de timol al 50% -48H	30	101,03
	Aceite esencial de timol al 25% -48H	30	106,63
	Clorhexidina al 0.12% -48H	30	221,92
	Total	270	

Estadísticos de prueba^{a,b}

Halo de inhibición	
H de Kruskal-Wallis	253,889
gl	8
Sig. asin.	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Aplicación a las 48 Horas

ANEXO H: GALERÍA DE FOTOS

1. Obtención de las muestras y productos de experimentación



Yacimientos de *Chaqo* en Asillo-Azángaro-Puno



Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) en bolsas de polietileno



Triturado de arcilla de hidralgirita (*CHAQO*)



Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) triturado



Empaquetado de la Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) para esterilización



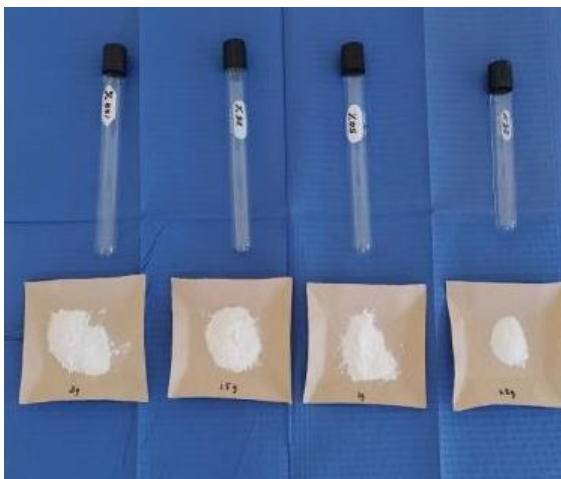
Esterilización de la Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), placas Petri y tubos de ensayo



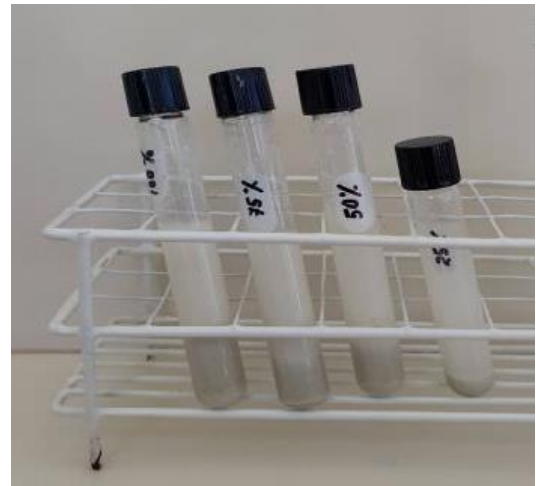
Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*), Agua bidestilada, Jeringa de 10 ml y tubos de ensayo con tapa roscas



Pesado en balanza analítica de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*)



Preparación de las concentraciones de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*)



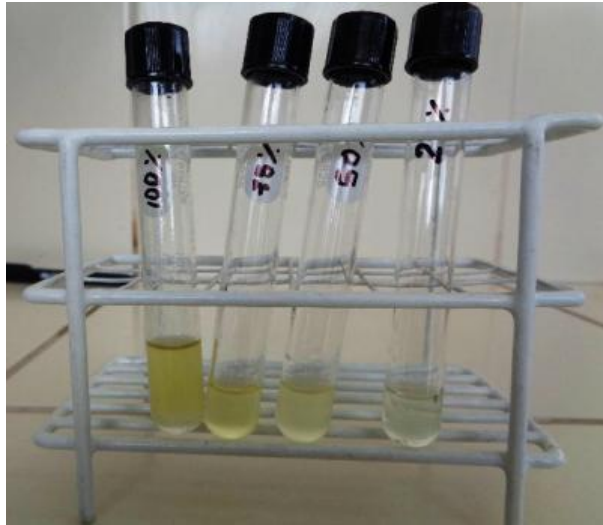
Concentraciones de la arcilla de hidralgirita (*CHAQO*)



Aceite esencial de timol, alcohol al 99.7° y jeringa de tuberculina



Preparación de las concentraciones del aceite esencial de timol



Concentraciones del aceite esencial de timol

2. Activación, preparación del medio de cultivo y siembra de la bacteria

Streptococcus mutans



Streptococcus mutans



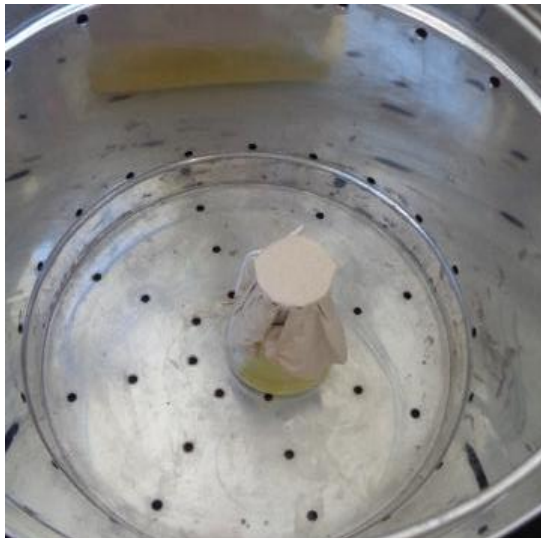
Pesado de agar base



Colocación de agua estéril en matraz



Ebullición del agar preparado



Colocación de matraz en autoclave



Cerrado de autoclave para su esterilización a 120°C



Plaqueado



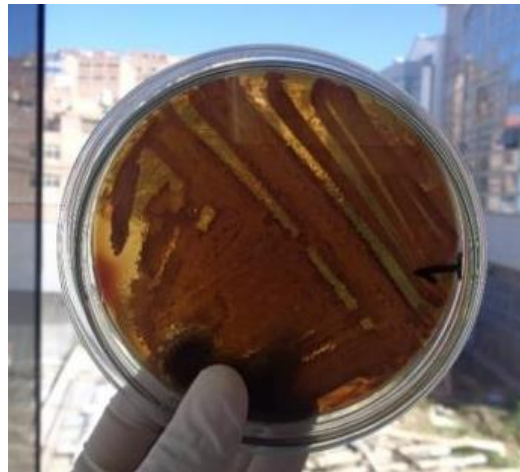
Siembra de la bacteria *Streptococcus mutans*



Colocación de placas Petri en caja de anaerobiosis



Incubación en anaerobiosis por 24 horas



Colonias de *Streptococcus mutans*

3. Reconocimiento microscópico y pruebas bioquímicas de *Streptococcus mutans*



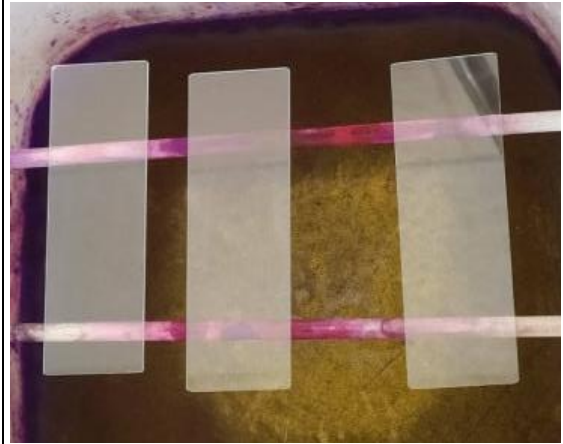
Selección de colonia de *Streptococcus mutans*



Colocación de la muestra en lámina de portaobjetos



Fijado al calor de la muestra



Colocar el portaobjetos en el puente de coloración, para su tinción de Gram



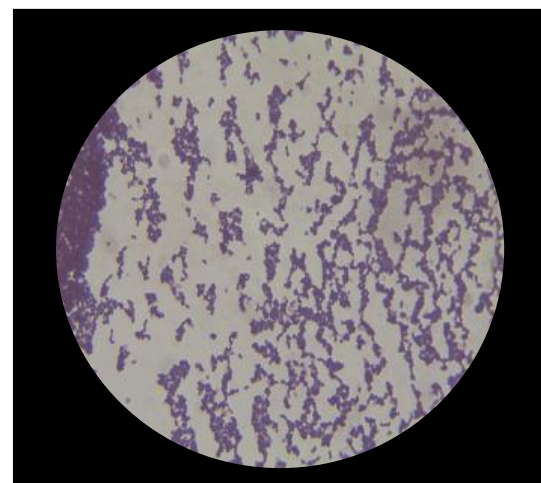
Reactivos para la tinción Gram



Colocación del reactivo



Muestra coloreada



Observación al microscopio del
Streptococcus mutans



Prueba de catalasa



Pruebas bioquímicas



Selección de la colonia para inocular en el tubo de ensayo

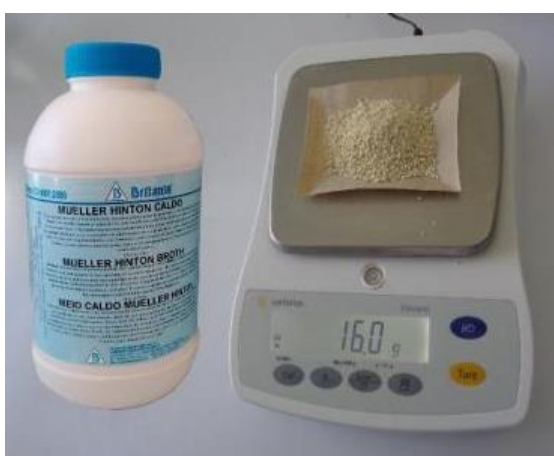


Inoculación de colonia seleccionada en un tubo de ensayo con solución isotónica



Incubación de los tubos de ensayo por 24 horas

4. Preparación de agar Mueller Hinton e inoculación de las aplicaciones en los discos de difusión de Kirby Bauer



Pesado del agar Mueller Hinton



Colocación del agar en un Matraz de Erlenmeyer



Colocación de agua destilada en el Matraz de Erlenmeyer



Disolución del Agar en la estufa



Colocación de los matraces en autoclave



Esterilización en autoclave a 121°C



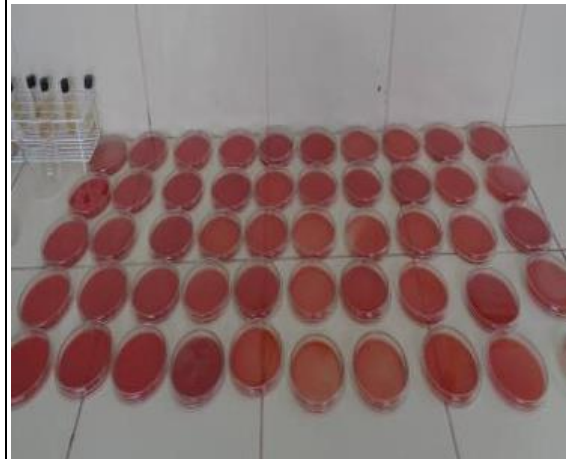
Se dejó enfriar a temperatura ambiente



Se añadió de forma aséptica sangre en un 5%



Plaqueado



Plaqueado final



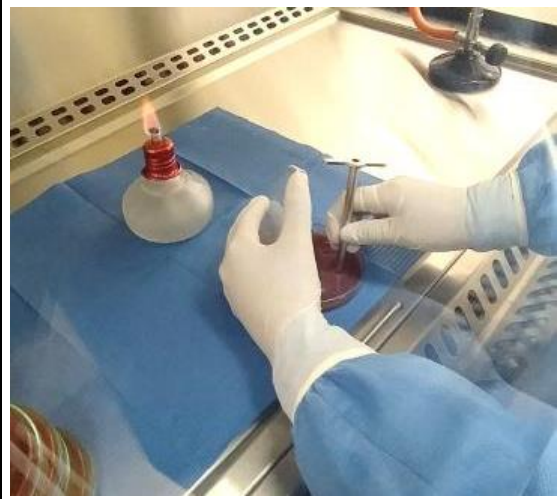
Rotulado de las placas Petri



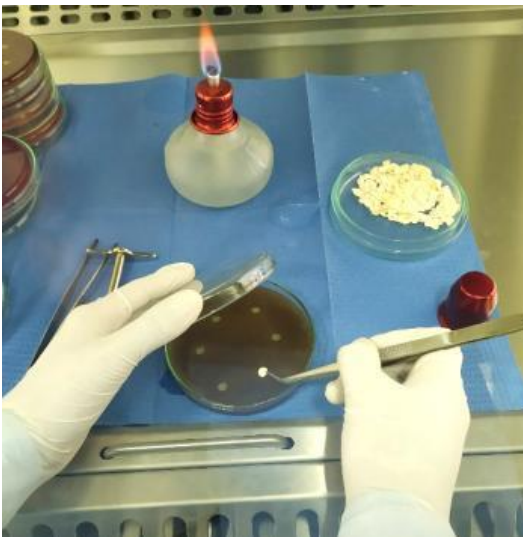
Sembrado del *Streptococcus mutans*



Sacabocados y pinza



Elaboración de pocillos en placas Petri



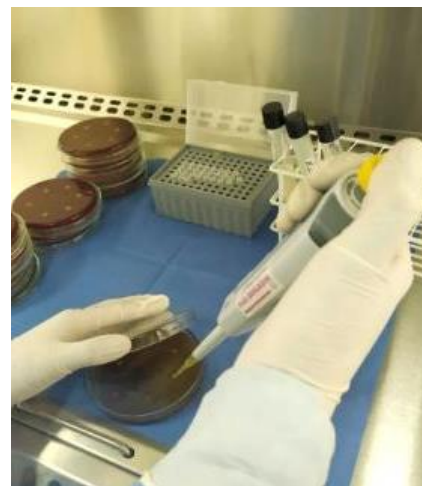
Colocación de discos de papel filtro



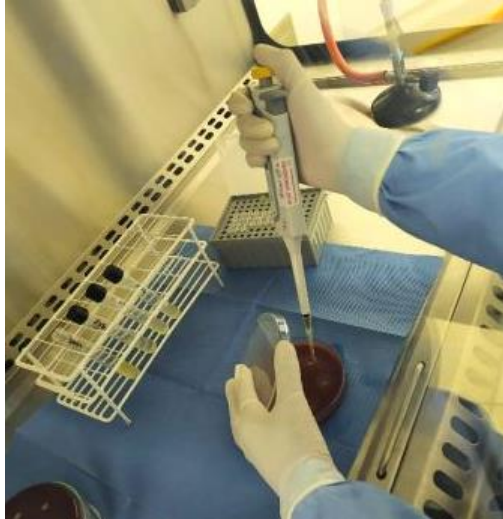
Agitar los tubos de ensayo en un mixer tipo Vortex



Pipeta digital



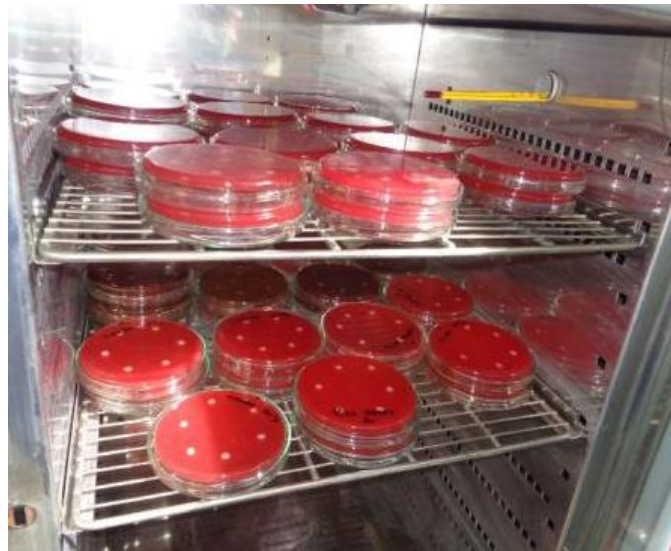
Aplicación de la arcilla de hidralgiritita (*CHAQO*) en distintas concentraciones



Aplicación del aceite esencial de timol, control positivo y negativo en distintas concentraciones

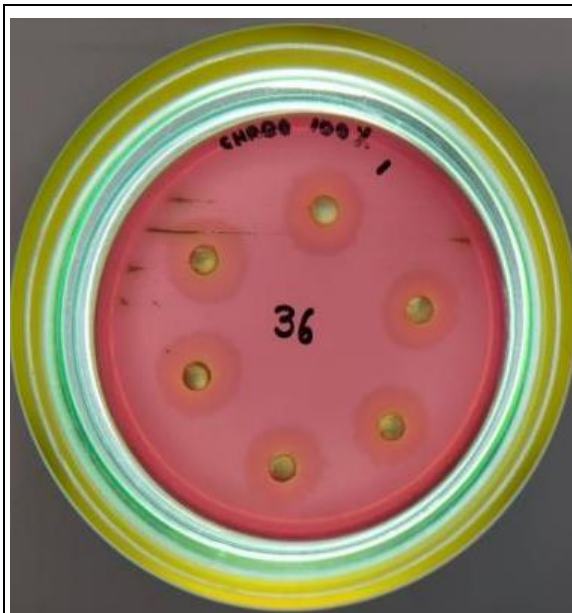


Placas Petri inoculadas con arcilla de hidalgirita (*CHAQO*), aceite esencial de timol, clorhexidina al 0,12% y agua destilada

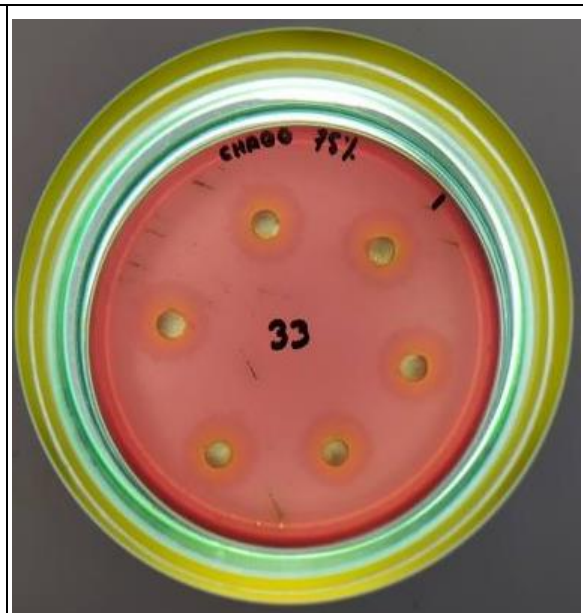


Colocación de las placas Petri en la incubadora en aerobiosis por 24 y 48 horas

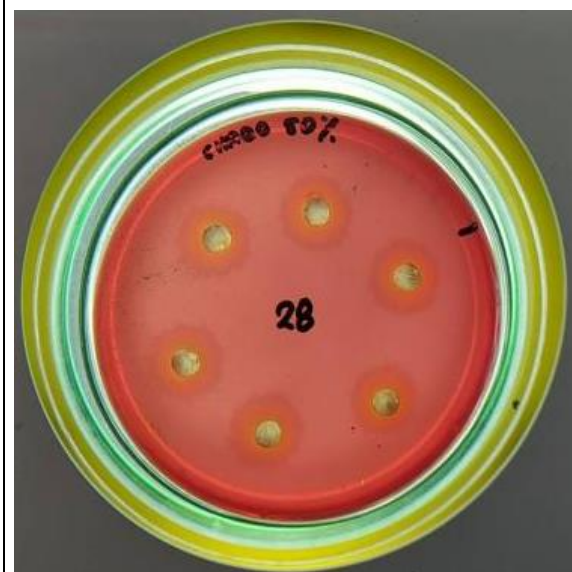
5. Lectura del halo de inhibición y recolección de los resultados



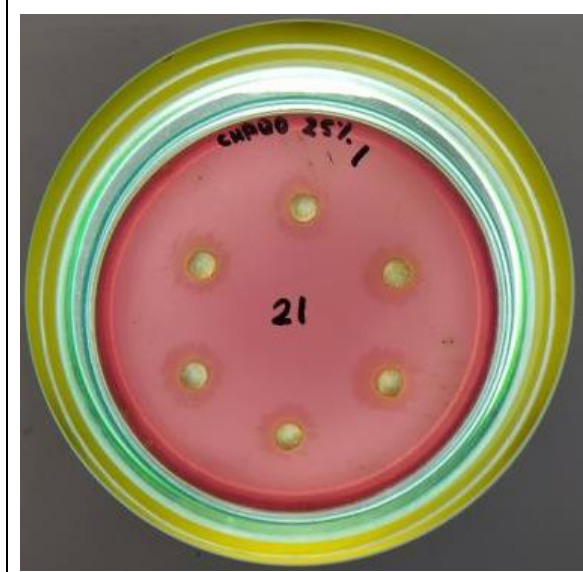
Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 100% a las 24 horas



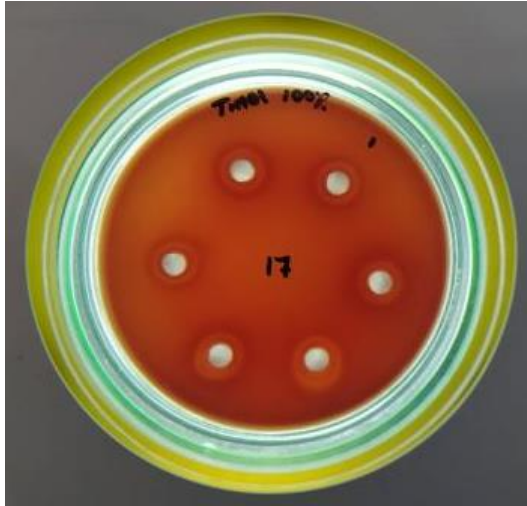
Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 75% a las 24 horas



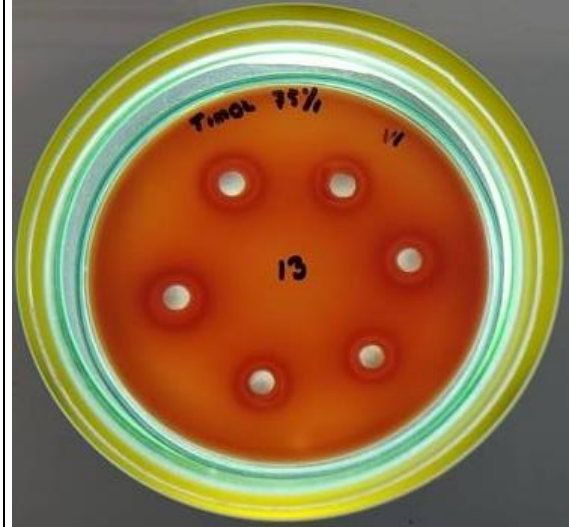
Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 50% a las 24 horas



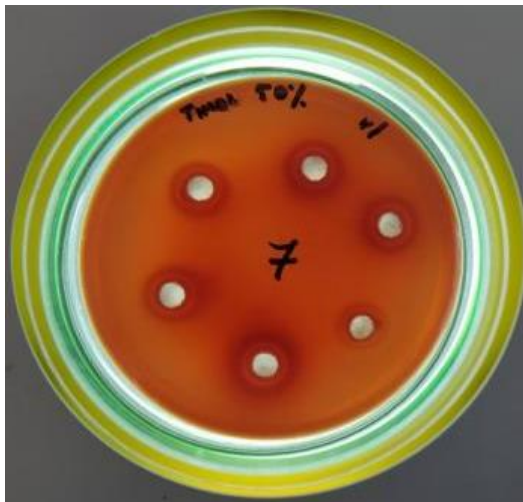
Arcilla de hidralgirita (*CHAQO*) al 25% a las 24 horas



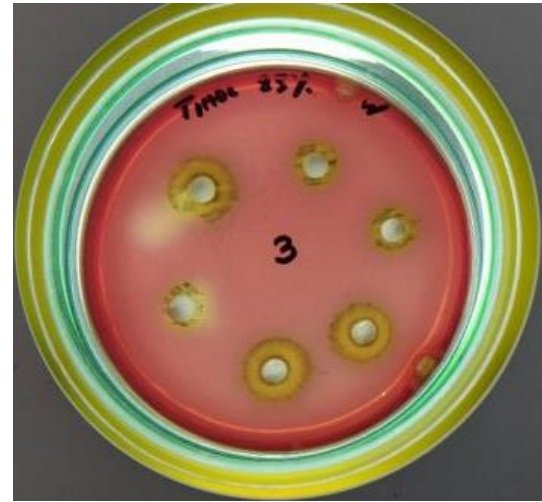
Aceite esencial de timol al 100% a las 24 horas



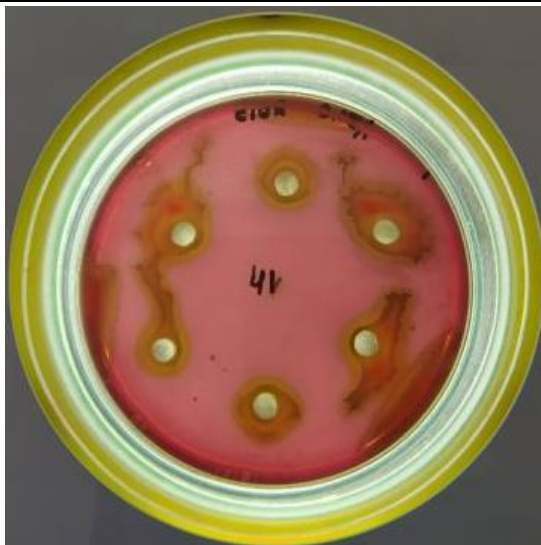
Aceite esencial de timol al 75% a las 24 horas



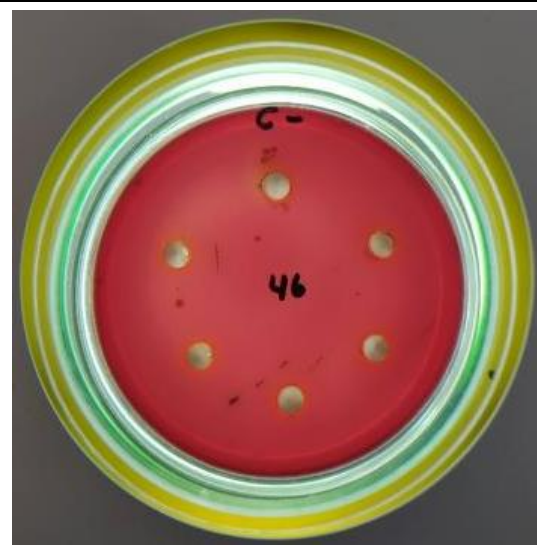
Aceite esencial de timol al 50% a las 24 horas



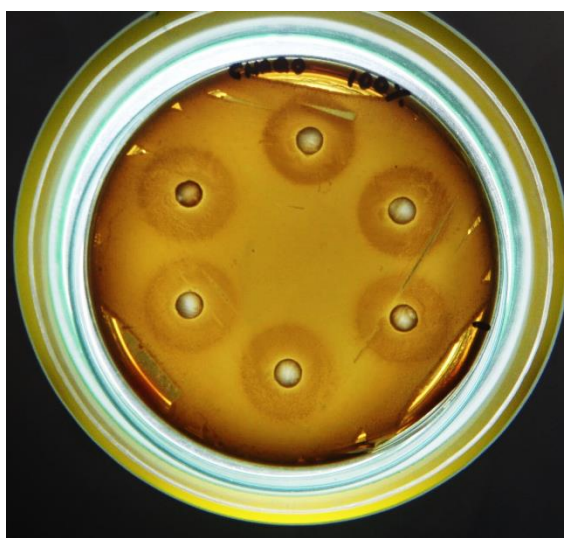
Aceite esencial de timol al 25% a las 24 horas



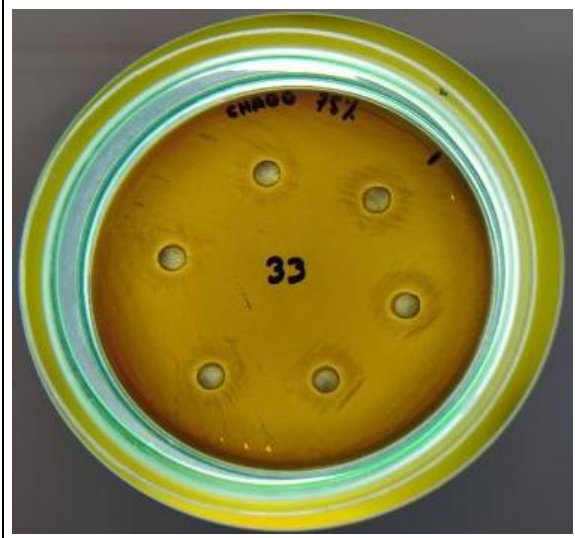
Control positivo (clorhexidina al 0.12%) a las 24 horas



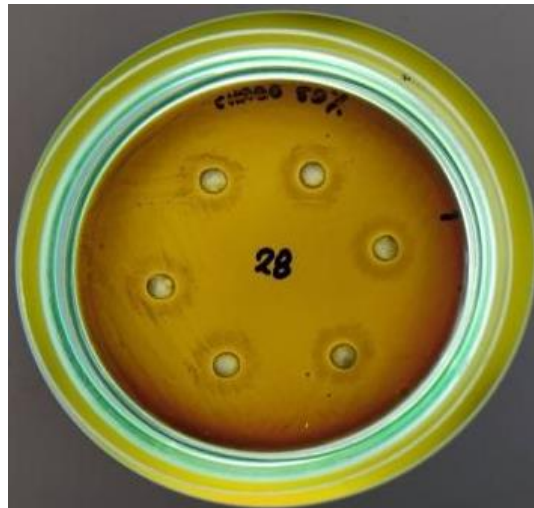
Control negativo (agua destilada) a las 24 horas



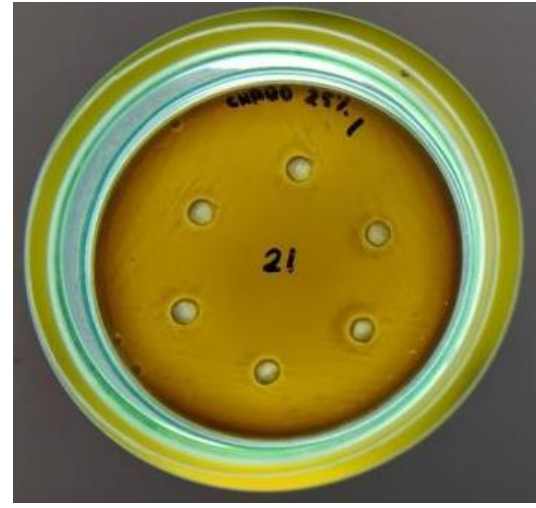
Arcilla de hidralginita (*CHAQO*) al 100% a las 48 horas



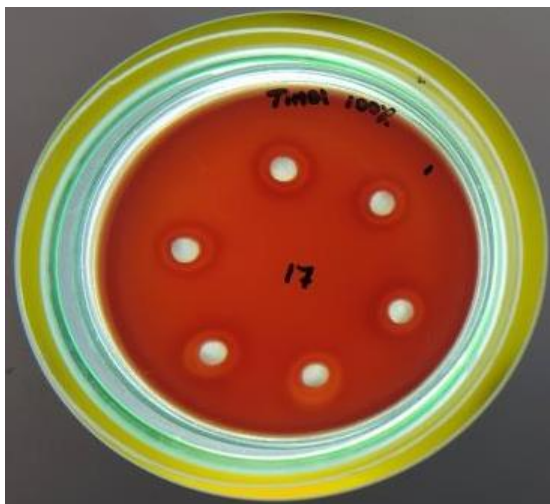
Arcilla de hidralginita (*CHAQO*) al 75% a las 48 horas



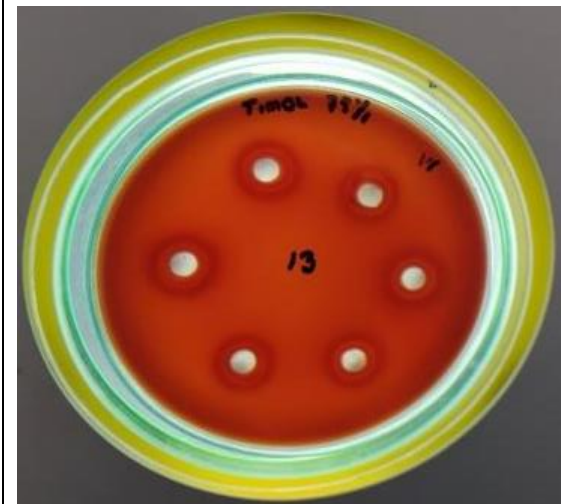
Arcilla de hidralginita (*CHAQO*) al 50% a las 48 horas



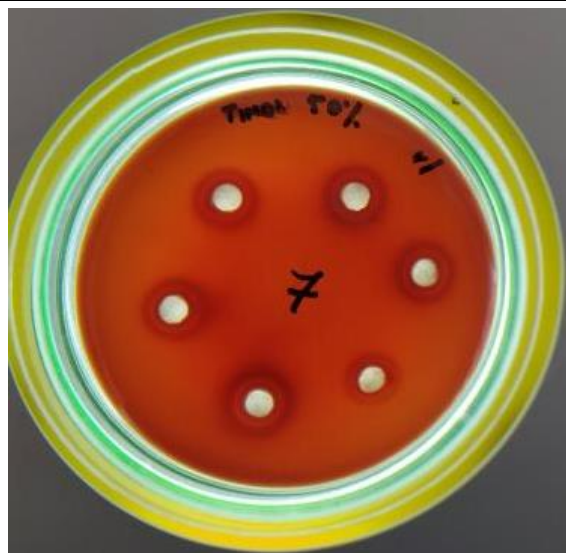
Arcilla de hidralginita (*CHAQO*) al 25% a las 48 horas



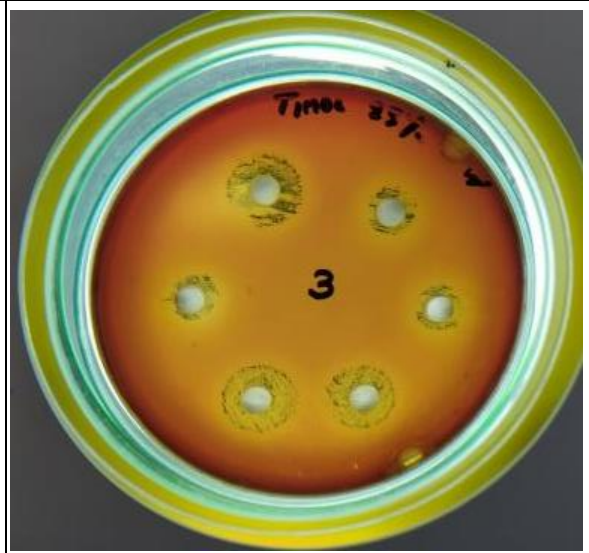
Aceite esencial de timol al 100% a las 48 horas



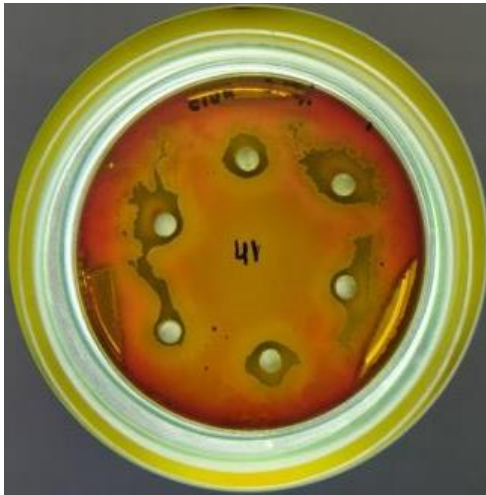
Aceite esencial de timol al 75% a las 48 horas



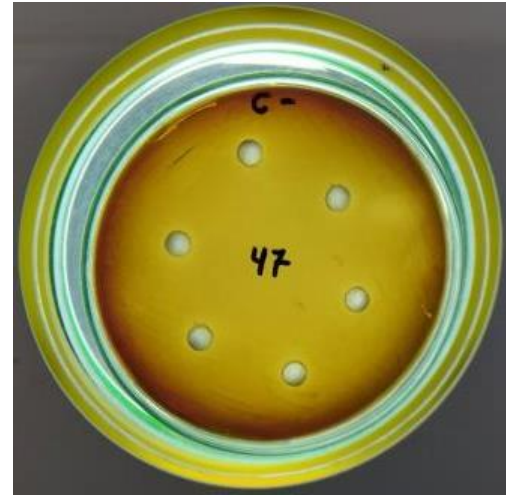
Aceite esencial de timol al 50% a las 48 horas



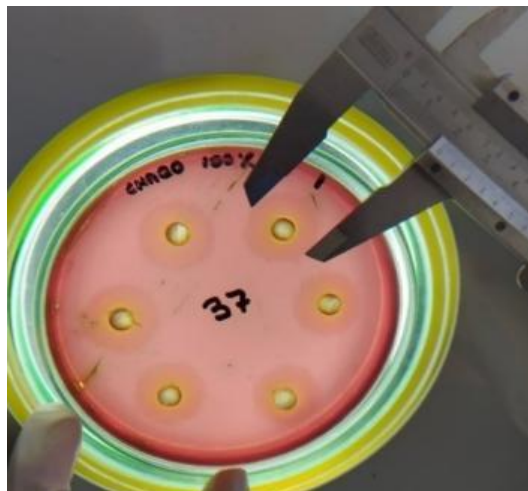
Aceite esencial de timol al 25% a las 48 horas



Control positivo (clorhexidina al 0.12%) a las 48 horas



Control negativo (agua destilada) a las 48 horas



Medición de los halos de inhibición