

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**“EFECTIVIDAD INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
ETANOLICO DEL *Eucalyptus globulus* SOBRE CEPAS DE
Streptococcus mutans y *Candida albicans* PUNO 2017”**

TESIS

PRESENTADA POR:

**LIZBETH VANESSA CAHUANA PINEDA
TANIA VANEZA CONDORI CUEVA**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO –PERÚ

2017



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

“EFECTIVIDAD INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL *Eucalyptus globulus* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* PUNO 2017”

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. LIZBETH VANESSA CAHUANA PINEDA
Bach. TANIA VANEZA CONDORI CUEVA

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

FECHA DE SUSTENTACION: 10-05-2017

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE :
C.D. ERICK ABELARDO CASTAÑEDA PONZE

PRIMER MIEMBRO :
C.D. AUGUSTO FERNANDO ATAYUPANQUI NINA

SEGUNDO MIEMBRO :
C.D. WILBERT AROCUTIPA MOLINA

DIRECTOR DE TESIS :
Dr. JORGE LUIS MERCADO PORTAL

Área: Medicina y patología estomatológica.
Tema: Fitoterapia: productos naturales de uso en odontología.

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme y encaminarme en este proyecto, el cual ejecuté para obtener el Grado de Cirujano Dentista.

A nuestros padres por estar ahí cuando más los necesitábamos, por sus consejos y recomendaciones en los momentos más difíciles, por ser el motor que nos impulsa a levantarnos cada día con el ánimo de avanzar y cumplir nuestros objetivos.

AGRADECIMIENTOS

Al Licenciado de Biología Lorgio Palacios Frisancho, por colaborar como nuestro coasesor durante la ejecución del Proyecto de Tesis en la Universidad Nacional del Altiplano; por brindarnos su tiempo, paciencia y comprensión durante todo el proceso de elaboración para poder culminar y presentar esta tesis para optar el Grado de Cirujano Dentista.

No menos importantes son nuestros familiares, por ello agradecemos su apoyo incondicional, cariño, comprensión.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	9
ABSTRACT.....	10
I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. REVISION DE LITERATURA.....	13
2.1 Antecedentes Del Proyecto	13
Antecedentes Internacionales:	13
Antecedentes Nacionales:	15
Antecedentes Locales	16
2.2 Marco Teórico.....	16
2.2.1.- Caries Dental	16
2.2.2.- Streptococcus Mutans.....	20
2.2.3.- Candidiasis Oral	23
2.2.4.- Cándida Albicans.....	24
2.2.5 Fitoterapia	27
2.2.6 Eucalyptus Globulus Labill	28
2.3.- Hipótesis	36
2.4.- Objetivos.....	36
2.4.1 Objetivo General.....	36
2.4.2 Objetivos Específicos	36
III. MATERIALES Y METODOS	37
3.1 Ambito De Estudio	37
3.2 Tipo De Estudio	37
3.3 Población Y Muestra De Investigación.	37
3.4. Operacionalizacion De Variable	39
3.5 Instrumento Para La Recolección De Datos:	39
3.6 Técnicas Y Procedimientos De Recolección De Datos.	39
IV. RESULTADO	52
V. DISCUSIÓN	64
VI. CONCLUSIONES	67
VII. RECOMENDACIONES	68
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Triada de Keyes.....	7
Figura N° 2 Tronco cilíndrico, recto, grueso alcanza hasta 2m de diametro	29

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1 EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 25% FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	52
TABLA N° 2 EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 50% FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	54
TABLA N° 3 EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 75% FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	56
TABLA N° 4 :EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 100% FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	58
TABLA N° 5 COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i>	60
TABLA N° 6 COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus Globulus</i> AL 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A <i>Candida albicans</i>	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO N° 1 CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 25% ENTRE LA BACTERIA <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	53
GRAFICO N° 2 CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 50% ENTRE LA BACTERIA <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	55
GRAFICO N° 3: CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 75% ENTRE LA BACTERIA <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	57
GRAFICO N° 4: CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> AL 100% ENTRE LA BACTERIA <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	59
GRAFICO N° 5: CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> EN LAS CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100%, ENTRE EL <i>Streptococcus mutans</i>	61
GRAFICO N° 6: CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> EN LAS CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y 100%, ENTRE EL HONGO <i>Candida albicans</i>	63

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas durante los meses de diciembre a abril del 2017. El objetivo general es determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, por lo que se comparó el efecto inhibidor en diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente.

La metodología utilizada es la técnica de cultivo propuesta por el Instituto Nacional de Salud y para la detección del efecto inhibidor a través de la prueba de difusión de pocillos con disco de papel filtro combinado y por el método de Kirby Bauer. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba t, diagramas de barras, ANDEVA y la prueba de significancia de Tukey.

Resultado el extracto etanólico *Eucalyptus globulus* tiene actividad inhibitorio para la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de halo de inhibición 11.85mm para una concentración del 25%, 13.3mm para una concentración del 50%, 13.97mm para una concentración del 75% y 15.54 mm para una concentración del 100%, la actividad antifúngica para *Candida albicans* se dio con un promedio de 9.34 mm para una concentración del 25%, 10.41mm para una concentración del 50%, 11.39mm para una concentración del 75% y 12.45mm para una concentración del 100%, lo que demuestra que a mayor halo inhibitorio se da a mayor concentración, siendo directamente proporcional

Por lo que el extracto etanólico del *Eucalyptus Globulus* presenta efecto inhibitorio sobre la cepa de la bacteria *Streptococcus mutans* y en el hongo *Cándida albicans* de modo que puede ser usado como un agente en el control de la caries dental y candidiasis oral.

PALABRAS CLAVES: Efectividad inhibitoria, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Eucalyptus globulus*

ABSTRACT

The research was carried out in the Laboratory of Microbiology of the Faculty of Biological Sciences during the months of December to April 2017. The general objective is to determine the inhibitory effect of the ethanolic extract of *Eucalyptus globulus* on the bacterium *Streptococcus mutans* and the fungus *Candida Albicans*, so the inhibitory effect was compared at different concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% respectively.

The methodology used is the culture technique proposed by the National Institute of Health and for the detection of the inhibitory effect through the diffusion test of wells with combined filter paper disc and by the method of Kirby Bauer. For the statistical analysis the t test, bar charts, ANDEVA and the Tukey significance test were used.

Results The ethanol extract *Eucalyptus globulus* has inhibitory activity for *Streptococcus mutans* with an average halo of inhibition of 11.85 mm for a concentration of 25%, 13.3 mm for a concentration of 50%, 13.97 mm for a concentration of 75% and 15.54 mm For a concentration of 100%, the antifungal activity for *Candida albicans* occurred with an average of 9.34 mm for a concentration of 25%, 10.41 mm for a concentration of 50%, 11.39 mm for a concentration of 75% and 12.45 mm for a Concentration of 100%, which shows that the greater inhibitory halo occurs at higher concentration, being directly proportional

Therefore, the ethanol extract of *Eucalyptus Globulus* has an inhibitory effect on the *Streptococcus mutans* strain and on the fungus *Candida albicans* so that it can be used as an agent for the control of dental caries and oral candidiasis.

KEYWORDS: Inhibitory effectiveness, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Eucalyptus globulus*

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad del sistema estomatognático con mayor prevalencia en la población mundial, por lo que constituye uno de los mayores problemas de salud pública. La caries es una entidad patológica, infecciosa, crónica, progresiva y transmisible, de origen multifactorial, que es producida por la acción de microorganismos de la placa bacteriana, los cuales por su metabolismo producen ácido, especialmente por la fermentación de hidratos de carbono, originando la desmineralización gradual del esmalte seguida de la destrucción proteolítica rápida de la estructura dental, hasta llegar a la pérdida total del diente. Los principales microorganismos de la placa bacteriana implicados en el inicio y desarrollo de la caries son: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp.* y *Actinomyces sp*

El *Streptococcus mutans* presenta diferentes características que son determinantes en su cariogenicidad, que son muy importantes en la colonización y mantenimiento de esta bacteria sobre el diente; posee elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y congregación; la producción y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que le permite obtener energía y producir ácido durante largos períodos de tiempo; rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos; poder acidógeno, acidófilo y acidúrico; también puede conseguir un pH crítico para la desmineralización del esmalte de manera más rápida que otro microorganismo de la placa.

La candidiasis es la más común de las infecciones micóticas orales causadas por *Cándida*, un microorganismo constituyente normal de la flora del tracto digestivo y vaginal. Diversos estudios han demostrado que la infección ocurre por invasión tisular, ya sea por introducción de un estado hipersensitivo o por producción de una potente toxina. Existen factores predisponentes para la aparición de la candidiasis que incluyen la malnutrición, infecciones concurrentes, tratamiento con antibióticos e inmunosupresores, alteraciones sistémicas como resultado de una inmunodepresión ; puede afectar a la mucosa bucal y labial, paladar duro y blando y a la lengua, en niños y adultos mayores, a esta infección se la denomina candidiasis pseudomembranosa.

Con el advenimiento de nuevas técnicas 252 bacteriológicas, surgió la necesidad de crear nuevos y más confiables tratamientos dentro de los cuales, en diversos estudios, el gluconato de clorhexidina presenta mejores resultados en su capacidad de inhibir el crecimiento de *Streptococcus Mutans*, pero con el inconveniente de producir efectos tóxicos locales como: tinción de dientes y de obturaciones, pigmentación del dorso de la lengua y con menor frecuencia, descamación de la mucosa bucal, gusto amargo o modificación gustativa, sensación de quemadura, sequedad bucal e inflamación ocasional y transitoria de la parótida.

En este sentido, la medicina tradicional, trata de buscar alternativas de solución a enfermedades bucales, con productos naturales, económicos y prácticos. Dentro de estos productos, encontramos diversos estudios con eucalipto, donde entre sus efectos cabe destacar: efecto antibacteriano, antifungico, antiviral, antiinflamatorio, astringente, analgésico, cicatrizante, estimulando y favoreciendo la regeneración tisular, sobre un importante número de microorganismos. Asimismo, algunos estudios ponen de manifiesto una gran susceptibilidad de ciertos patógenos a la acción del eucalipto, esta actividad depende de su procedencia y de la especie bacteriana evaluada.

El presente estudio se realizó *in vitro*, para determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus Globulus* (eucalipto) a diferentes concentraciones, sobre las cepas de *Streptococcus Mutans* y *Cándida Albicans*; de ahí que existe una gama de estudios que comprueban su acción antimicrobiana.

De acuerdo con los resultados obtenidos, este estudio servirá como una alternativa, que beneficie a la población peruana en especial de bajos recursos económicos, además de eso presenta menos efectos adversos y es de fácil acceso para la preservación de la salud bucal, así como establecer una base en la futura elaboración de un producto aplicable en la práctica odontológica, empleando como en este caso un recurso abundante en nuestro país.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DEL PROYECTO

ANTECEDENTES INTERNACIONALES:

MOHAMMED N., (2014), (Liverpool, Londres): Objetivo: El presente estudio se ocupa de la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos metanólico de plantas medicinales tradicionales (*Eucalyptus spathulata*). Método: La eficacia de los extractos de plantas se ha evaluado mediante ensayos con muestras de saliva de los pacientes que sufren de problemas dentales. El ensayo antimicrobiano se llevó a cabo utilizando el método de difusión en pocillos de agar. Resultados: la media de la zona de inhibición era 12.4mm comparando con 15.2mm de gentamicina y 5,1 mm contra *C.albicans*. Conclusiones: se reveló que el extracto metanólico de *Eucalyptus spathulata* fue eficaz en la inhibición de *Streptococcus Mutans* que en *C. Albicans*.¹

DAMJANOVIC B. Y col (2011), (Podgorica, Montenegro): Su objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* Labill Material y Métodos: La composición química del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill., crecido en Montenegro, se analizó por gas, se evaluó la cromatografía de espectrometría de masas y su actividad antimicrobiana contra 17 microorganismos. El rendimiento del aceite esencial fue del 1,8% (w / w) en la base del peso fresco, mientras que el análisis resultó en la identificación de un total de 11 constituyentes, 1,8 cineol (85,8%), α -pineno (7,2%), y β -mircenol (1,5%) son los componentes principales. Resultados: las pruebas de actividad antimicrobiana ha revelado que el aceite esencial de *E. globulus* tiene lugar una fuerte actividad antimicrobiana, especialmente contra *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*. La concentración inhibitoria mínima reveló una menor actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella infantis* (3,13 mg / ml), mientras que la mayor actividad fue contra *S. aureus*, *E. coli*, y *S. pyogenes* (0,09 mg / ml). Conclusión: Este estudio ha demostrado que el aceite esencial de eucalipto *globulus* Labill, crecido en Montenegro posee más una actividad antimicrobiana significativa contra diferentes microorganismos, incluyendo patógenos humanos.²

DIAS R. y col (2010), (Sao Pablo, Brasil): Objetivo: Este estudio fue investigar la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. (*Eucalyptus*) contra especies de *Candida* implicados en las infecciones orales. Material y Métodos: Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (MFC) fueron realizados, respectivamente, utilizando las técnicas de microdilución y la formación de unidades de crecimiento de colonias en medios sólidos. Resultados: El aceite esencial de *E. globulus* L. presento la MIC de 312.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ a 76,2% para las cepas de *Candida* y 625 CFM $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para el 81% de las cepas analizadas. Todas las cepas fueron sensibles al antifúngico sintético. La miconazol y nistatina se utilizaron como controles. Conclusión: el aceite esencial de *E. globulus* L. mostró actividad antifúngica contra especies de *Candida*.³

PRANAY J, y col(2010),(Kurusshetra, India): objetivo: En la presente investigación, la extracción metanólica de la corteza y foliar de *Eucalyptus tereticornis* fueron evaluados para la actividad antimicrobiana contra patógenos humanos que incluía bacterias Gram positivas, *Streptococcus Mutans* (MTCC 497), *Staphylococcus aureus* (MTCC 7443) Y la bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* (MTCC 5704) y una levadura *Candida albicans* (MTCC 3017). y posteriormente se realizó un análisis fitoquímico de los extractos brutos para determinar los componentes fitoquímicos activos responsables de la actividad antimicrobiana. Resultados: Se observó que el extracto metanólico de la corteza de *E. tereticornis* fue más eficaz en la inhibición de los cuatro patógenos de prueba con zona de inhibición que oscilaba entre 17 mm y 27 mm en comparación con el extracto metanólico de hoja (18 a 24 mm). El cribado fitoquímico de la corteza cruda y los extractos de hojas revelaron que ambos extractos contienen Saponinas, taninos, esteroides y flavonoides, mientras que sólo el extracto de corteza consistió en glucósidos cardíacos. Conclusión: indican que la corteza y los extractos de hojas pueden ser explotados como fármacos naturales para el tratamiento de varias enfermedades infecciosas causadas por estos organismos⁴

BACHIR R. Y BENALI M. (2008), (Sidi de Abbes, Argelia) . Objetivo: evaluar las actividades antibacterianas de aceites esenciales de hojas de dos especies de eucaliptos (*globulus* y *Camaldulensis*) contra *Staphylococcus aureus* Gram (+) y *Escherichia coli* Gram (-). Método: La actividad inhibitoria se evaluó mediante tres métodos: aromagrama, microatmósfera y gérmenes en suspensión. Resultados: demostraron que

los aceites esenciales de las hojas de las dos especies presentan un excelente efecto inhibitorio sobre *S. aureus* que el de *E. coli*. Conclusión: Estos datos indican el potencial de utilidad de las dos especies de *Eucalyptus* como agente antibacteriano, antiséptico o desinfectante⁵

ANTECEDENTES NACIONALES:

RODRIGUEZ B Y Col (2016) (Trujillo, Perú):Objetivo: En esta investigación de tipo experimental se estudió la actividad antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) sobre *Cándida sp.* Metodo: Se preparó extractos etanólicos y se reactivaron los cultivos de *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida sp.*, los extractos y cultivos fueron enfrentados mediante la prueba de difusión en disco. Resultado: se encontraron halos de inhibición de crecimiento que evidenciaron el antagonismo producido. El análisis estadístico determinó que no hay diferencias significativas ($p>0.05$) entre los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato sobre *Cándida sp.*Conclucion:el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) tienen actividad antifúngica, sobre *Cándida sp.* Pero no hay diferencias significativas entre la actividad que realizan.⁶

JIMENEZ K. (2010), (La Libertad, Perú): Objetivo: determinar el efecto antimicrobiano, tanto del extracto etanólico como el extracto acuoso de *Eucalyptus Globulus L* (Eucalipto), sobre el crecimiento de la cepa de *Lactobacilluspp*, con el fin de buscar alternativas para la prevención que beneficie a la población. Métodos: Este estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Privada Antenor Orrego; en donde se hicieron diferentes concentraciones del extracto de Eucalipto (100%, 50%, 25%, 12.5, 6.25%,3.13%, 1.56%, 0.78%) las cuales fueron puestas en contacto con el microorganismo de estudio y así se pudo observar la inhibición de las colonias de la cepa. Resultados: los resultados arrojados por el espectrofotómetro, podemos observar, que en ANOVA y en la prueba de Turkey, el extracto acuoso presentó mayor significancia; mientras que el extracto etanólico no las presenta. Los resultados mediante la lectura de placas, indican que el extracto etanólico al 100%,50%, 25%, 12.5, 6.25% y 3.13% de concentración, presenta inhibición en el crecimiento de *Lactobacilluspp*, siendo la CMI al 3.13% y la CMB al 6.25%. Sin embargo el extracto acuoso no presenta efecto antibacteriano sobre la cepa de *Lactobacilluspp*. Conclusión: se determinó que el extracto etanólico tenía mayor

efecto antibacteriano que del extracto acuoso de *Eucalyptus globulus* frente a *Lactobacillus* spp.⁷

HUMBERTO L y col (2001), (Lima, Perú): Se evaluó in vitro la actividad antibacteriana de extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y *Eucalyptus* sp. "eucalipto" utilizando cepas bacterianas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. y *Shigella flexneri*). Se utilizó como solvente de extracción una mezcla de alcohol-acetona (1:1) y la actividad biológica de los extractos obtenidos se evaluó mediante la técnica de difusión en disco. La cáscara del fruto de *Caesalpinia spinosa* y las hojas del *Eucalyptus* sp. mostraron una actividad selectiva sobre las bacterias Gram positivas evaluadas.⁸

ALZAMORA L y col (2001), (Lima, Perú): El objetivo fue la investigación cualitativa de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de cinco plantas empleadas en Medicina Tradicional en el Perú: *Eucalyptus globulus*, *Labill eucalipto*; *Cymbopogon citratus*, (D.C.) *Staff hierba luisa*; *Tagetes pusilla* Lag. Anís serrano; *Senecio tephrosioides*, *Turcz huamanripa* y *Lepechinia meyenii*, (Walp) *Epling salvia*. Los aceites esenciales obtenidos por destilación por arrastre de vapor, se enfrentaron a *Salmonella typhi* ATCC 6539, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. enteritidis* INS, *Vibrio cholerae* ATCC E-7946 OGAWA, *Pseudomonas aeruginosa* GT 28, *Shigella flexneri* INS, *Staphylococcus aureus* INS, *S. aureus* ATCC 6538P y *Candida albicans* ATCC 10231. Se empleó discos de antibióticos como controles. Los aceites esenciales mostraron efecto variado sobre Gram positivos y Gram negativos; ninguno inhibió a *Pseudomonas aeruginosa*.⁹

ANTECEDENTES LOCALES: no existen antecedentes referentes a efecto inhibitorio del eucalipto frente a *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en nuestra región.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1.- CARIES DENTAL

La caries es una enfermedad infecciosa, transmisible y multifactorial, que conduce a la pérdida de minerales de los tejidos duros susceptibles del diente, por acción de

productos ácidos provenientes de la fermentación de los hidratos de carbono de la dieta por la actividad metabólica del biofilm adherido a la superficie dentaria. ¹¹

La OMS define a la caries dental como el reblandecimiento del tejido duro del diente que va evolucionando hasta la formación de una cavidad, afectando la salud general y la calidad de vida de los individuos, convirtiéndose en un problema de salud pública por la alta prevalencia a nivel mundial. ¹²

2.2.1.1.- ETIOLOGÍA DE CARIES DENTAL

Si bien es cierto que la caries dental es una enfermedad multifactorial, esta se fundamenta en las características e interrelaciones de los llamados factores básicos, etiológicos, primarios o principales: dieta, huésped y microorganismos.

Posteriormente algunos autores, señalan que existen factores moduladores, los cuales contribuyen e influyen decisivamente en el surgimiento y evolución de las lesiones cariosas, entre ellos se encuentran: tiempo, edad, salud general, fluoruros, grado de instrucción, nivel socioeconómico, experiencia pasada de caries, grupo epidemiológico y variables de comportamiento.

Los microorganismos, los carbohidratos fermentables y las alteraciones estructurales de los dientes, sumado a una susceptibilidad marcada del huésped son factores que interactúan en la aparición de lesiones cariosas. ¹³

2.2.1.2.- FACTORES DE CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad multifactorial, consiste en un proceso dinámico de desmineralización-remineralización (des-re) que involucra la interacción entre el calcio y fósforo, las estructuras dentales y la saliva (placa fluida) e n función de ácidos producidos por la fermentación de los carbohidratos, por acción de los microorganismos orales. ¹⁰

Son aquellos factores cuya interacción se considera indispensable para la aparición de la enfermedad, ya que de otro modo es imposible que ésta se produzca (Figura N° 1). ¹¹



Figura N° 1 Triada de Keyes Adaptado de: Henostroza G. Caries dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. Primera Edición. Perú. Editorial Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007

A.- DIETA

Los nutrientes indispensables para el metabolismo de los microorganismos limentos. Entre ellos, los carbohidratos fermentables son considerados como los principales responsables de su aparición y desarrollo.

Más específicamente la sacarosa, que es el carbohidrato fermentable con mayor potencial cariogénico y además actúa como el sustrato que permite producir polisacáridos extracelulares (fructano y glucano) y polisacáridos insolubles de la matriz (mutano). Está demostrado que la causa de caries dental es la frecuencia de consumo de carbohidratos fermentables más que la cantidad total de carbohidratos consumidos, teniendo mención especial la adhesividad del alimento que contiene los carbohidratos. La caries avanzará más rápidamente si el consumo frecuente de azúcares se mantiene durante mucho tiempo, o si existe una deficiencia grave de factores protectores naturales. En algunas circunstancias, la adición de ácidos muy erosivos puede exacerbar considerablemente el problema.¹³

B.- HUÉSPED: SALIVA, DIENTE, INMUNIZACIÓN Y GENÉTICA

Saliva. Es un fluido propio de la región bucal y constituye el principal sistema de defensa del huésped contra la caries. Se ha demostrado que al disminuir el flujo salival, se incrementa el nivel de lesiones de caries dental. Además, este riesgo puede verse aumentado también en niños que presentan menor cantidad de flujo salival o mala calidad.¹⁴ La cantidad de saliva que secretan las glándulas salivales está regida por el cerebro, es por ello que la salivación no estimulada normalmente se inhibe durante el

sueño, el miedo o la depresión. Es por ello, que si además a esto se agrega el consumo nocturno de azúcares, el riesgo de Caries es mayor. ¹⁴

Diente. Quienes presentan particularidades fuertemente relacionadas a favorecer el desarrollo de caries dental. Entre estas particularidades se encuentran la anatomía de sus superficies, la alineación de los dientes y su textura, que pueden favorecer la acumulación de la biopelícula dental y dificultar la higiene bucal. ¹³

También debemos tener en cuenta la solubilización de minerales que comienza en la parte más superficial del esmalte; a este nivel los prismas son ricos en fosfato de calcio y carbonatos de calcio, pero a medida que avanza la lesión al interior se va encontrando con presencia de carbonatos. ¹³

Inmunización. Existen indicios que el sistema inmunitario es capaz de actuar contra la microflora cariogénica, produciendo respuesta mediante anticuerpos del tipo inmunoglobulina A salival y respuesta celular mediante linfocitos T. como en otros ámbitos, las diferencias en la respuesta inmune a los microorganismos dependen tanto el antígeno como del huésped. ¹³

Genética. Según la sociedad de la genética se estima que aproximadamente la contribución genética a la caries dental es de aproximadamente un 40%. Los factores predisponentes a la caries dental son sumamente variados lo que hace difícil que intervenga un solo gen. Una alternativa para identificar los genes candidatos como los principales es la revisión del genoma, ya que de otra forma no se podría asociar al proceso de caries dental. Los factores primarios no son los únicos causantes de la caries dental, existen otros factores como son los factores etiológicos modulares, los cuales si bien no causan directamente la enfermedad, contribuyen con el riesgo a presentar la misma. A continuación se definirán solo algunos factores:

Tiempo.- Para que se desarrolle la caries, se necesita de la interacción de los factores primarios y su permanencia en un determinado tiempo. Sin embargo existen otros factores adicionales a los factores etiológicos primarios mencionados, como son: Edad, salud general, grado de instrucción, nivel socioeconómico, experiencia pasada de caries, grupo epidemiológico y variables de comportamiento. ¹⁴

Edad.- debido a que las piezas dentales deciduas tienen características diferentes las piezas permanentes y las piezas permanentes de una paciente senil generalmente presenta diferentes características a las de un adolescente.

Estado de salud general.- ya que existen enfermedades y medicamentos que influyen en el flujo salival y/o en las defensas.

Fluoruros.- debido a que en determinadas cantidades promueven la remineralización de los tejidos dentales, elevan el pH y ejercen una acción antibacteriana ¹¹

C.- MICROORGANISMOS

Entre los microorganismos relacionados a la caries dental se encuentra el *Streptococcus mutans*, al mismo que se lo analizará posteriormente. ¹⁴

Los microorganismos son indispensables para la iniciación de la caries dental; es así como la cavidad oral del recién nacido no tiene cepas de microorganismo cariogénicos, los cuales se creen son transmitidos de la madre al bebé o de una persona muy cercana a él, mediante la saliva, ya sea por besos o por la utilización de los mismos elementos de alimentación. ¹⁶

La cavidad bucal contiene una de las más variadas y concentradas poblaciones microbianas del organismo. Se estima que en ella habitan más de mil especies, cada una de ellas representada por una gran variedad de cepas y que en 1mm³ de biofilm dental, que pesa 1 mg, se encuentran 10⁸ microorganismos. Entre las bacterias presentes en la boca se encuentran tres especies principalmente relacionadas con la caries: *Streptococcus*, con las especies *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. sanguinis* (antes llamado *S. sanguis*); *Lactobacillus*, con las subespecies *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum* y *L. oralis* y los *Actinomyces*, con las subespecies *A. israelis* y *A. naslundii*.

Entre las cuales las principales bacterias que intervienen en la formación de la caries dental es:

2.2.2.- STREPTOCOCCUS MUTANS.

El *Streptococcus mutans* es uno de los microorganismos asociados a la caries dental, fue aislado por primera vez por Clarke en 1924, mientras analizaba dentina cariada. Se

caracteriza por ser Gram positivo, anaerobio facultativo que forman parte de la placa bacteriana, también se caracteriza por ser acidófilo, acidogénico y acidúrico, además tiene la capacidad de generar polisacáridos extracelulares y por ende favorecer la adhesión del mismo a las piezas dentales.¹⁷

Produce ácido láctico, propiónico, acético y fórmico al metabolizar la sacarosa, glucosa y fructosa, de tal forma que los mencionados ácidos circulan por la placa dental hasta el esmalte poroso, en donde liberan hidrogeniones, que disuelven el mineral del esmalte, formando calcio y fósforo que salen del esmalte, todo esto denominado como desmineralización.⁹

Los *Streptococcus* son bacterias que presentan forma de coco, crecen en cadenas o en parejas, no tienen movimiento, no forman esporas y generalmente reaccionan positivamente a la coloración de gram. El *S. mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas en humanos, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción. Su nombre lo recibe de su tendencia a cambiar de forma pudiéndose encontrar como coco o, de forma más alargada, como bacilo.¹²

El *S. mutans* presenta diferentes características que son determinantes en su cariogenicidad, entre éstas tenemos: la producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa, en especial los glucanos insolubles que son muy importantes en la colonización y mantenimiento de esta bacteria sobre el diente; posee elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y congregación; la producción y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que le permite obtener energía y producir ácido durante largos períodos de tiempo; rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos; poder acidógeno, acidófilo y acidúrico; también puede conseguir un pH crítico para la desmineralización del esmalte de manera más rápida que otro microorganismo de la placa.¹⁰

2.2.2.1.- FACTORES DE VIRULENCIA

1. **Acidogenicidad:** El *S. mutans* puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo.

Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.

- 2. Aciduricidad:** Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.
- 3. Acidofilicidad:** El *S. mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H)⁺ fuera de la célula. Esta condición hace que el microorganismo cambie su fisiología.^{15,17}
- 4. Síntesis de glucanos y fructanos:** Por medio de enzimas como glucosil fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la célula a adherirse al diente ser usados como reserva de nutrientes.
- 5. Síntesis de polisacáridos intracelulares:** la célula almacena glucógenos que, ante la falta de ingreso de azúcar por vía exógena con la dieta, puede metabolizarse por la acción de la glucogenofosforilasa. Ante un incremento de productos intermediarios de la glucólisis.
- 6. Producción de dextranasa:** además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano. La infección ocurre generalmente por miembros de la familia especialmente por la madre¹⁵.
- 7. Adhesinas:** *S. mutans* presenta adhesinas de superficie de la familia de adhesinas Spa también llamada de antígeno I /II participan en el proceso de adherencia a las glicoproteínas salivales y a otros microorganismos.
- 8. Proteína asociada a la pared celular (Wap A):** le permite adherirse a las caras libres de las piezas dentinarias y participar en la adherencia dependiente de la sacarosa, pero su papel en la cariogénesis no es claro.
- 9. Bacteriocinas:** *S. mutans* produce diversas bacteriocinas, mutacinas, que participan de un proceso de competición microbiana. Las mutacinas inhiben las microorganismos comensales competidores, como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S.gordonii*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, y aún a otras especies de streptococcus del grupo mutans juegan un papel importante, en la transferencia de cepas más o menos virulentas.¹⁵

2.2.3.- CANDIDIASIS ORAL

Es la más común de las infecciones micóticas orales causadas por *Cándida*, un microorganismo obligado en humanos y constituyente normal de la flora del tracto digestivo y vaginal. Un síntoma muy común lo constituye la sensación de "quemazón" en la mucosa afectada. La candidiasis es una de las afecciones más comunes que afecta la mucosa oral. Tiene 4 formas clínicas de presentación: Pseudomembranosa, Eritematosa, Hiperplásica y candidiasis profunda.⁸

2.2.3.1.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Las infecciones de *Candida albicans* en la cavidad bucal presentan cuadros clínicos muy variados y suelen dividirse en candidiasis superficiales y candidiasis profundas, la primera puede afectar a la mucosa bucal y labial, paladar duro y blando y a la lengua, en niños y adultos mayores, a esta infección se la denomina candidiasis pseudomembranosa, debido a que presenta pseudomembranas, las cuales están formadas de células epiteliales descamativas y necróticas, numerosos micelios de *C. albicans*, presentan un color blanquecino cremoso, los cuales pueden removerse fácilmente con una gasa, dejando un fondo sanguinolento, por presentar ese aspecto también se lo llama muget.⁸

Otro tipo de candidiasis superficial es la candidiasis eritematosa que se localiza en la parte media dorsal de la lengua y en el paladar, cuando se localiza en el paladar se presenta como una zona roja generalizada de tejido atrófico que provoca una sensación de quemazón y cuando se presenta en la lengua tiene un aspecto liso y rojo carnosos debido a la hipotrofia de papilas filiformes, esta condición está asociada a la administración de antibióticos de amplio espectro y va a causar ardor y sensibilidad cuando se ingiera comida o líquidos calientes, ácidos, picantes o saladas.¹⁵

Las candidiasis profundas son aquellas que afectan a las mucosas del aparato digestivo, al aparato urinario, al peritoneo, pulmonar, oculares y al sistema nervioso central, además la candidiasis puede presentar otras formas clínicas como son: queilitis angulares que es una infección bilateral de las comisuras labiales que se presenta como manchas rojas o blancas y grietas que provocan la disminución de la dimensión vertical, otra forma en la que se presenta es la hiperplásica que es una placa de

superficie lisa de color rojo con un punteado blanco amarillento y se localizan en el paladar, dorso y laterales de la lengua y en las comisuras labiales. ¹⁵

2.2.3.2.- ETIOPATOGENIA

La bibliografía moderna plantea que la candidiasis oral obedece a *Cándida albicans*, *Cándida tropicallis* y *Cándida glabrata*. Diversos estudios han demostrado que la infección ocurre por invasión tisular, ya sea por introducción de un estado hipersensitivo o por producción de una potente toxina. Existen factores predisponentes para la aparición de la candidiasis que incluyen la malnutrición, infecciones concurrentes, tratamiento con antibióticos inmunosupresores, alteraciones sistémicas como resultado de una inmunodepresión y factores locales como la mala higiene bucal. ¹⁵

La candidiasis puede afectar a personas de cualquier sexo y de cualquier edad, siendo la más común la candidiasis oral que en ocasiones se propaga por la faringe, laringe o por vía sanguínea, la cual puede producir cuadro grave al llegar a zonas profundas, la transmisión entre personas es posible, como en el caso del muget del recién nacido que puede adquirirlo por la vagina materna y como también se la puede adquirir en el ambiente hospitalario, por lo que también se la conoce a esta infección como oportunista. ¹⁵

2.2.4.- CÁNDIDA ALBICANS

Los hongos del género *Cándida* son levaduras, las cuales no presentan pigmentación carotenoide o melánico, pueden producir pseudohifas o hifas verdaderas, podemos encontrarlas en la microflora oral normal de la cavidad bucal; en la lengua, paladar, mucosa oral; en el estómago, intestino, vagina y en el ambiente, los hongos de este género presentan células de forma redondeadas u oval de 3 a 5 μm , son gram positivas, aerobias, (Liébana, 1995) su medio de cultivo apropiado es el agar de Sabourand con elementos nutritivos como la glucosa y la peptona, con un pH ácido de 5,6 a 7,2 y a una temperatura entre los 20°C y los 38°C. ¹⁵

Estos microorganismos tienen la capacidad de crecer y multiplicarse fácilmente y además tienen diversas formas de cómo causar daño al hombre y a los animales entre estas tenemos la liberación de toxinas que es de gran importancia debido a que estos

tienen la capacidad de producir hepatotoxinas y neurotoxinas que son mortales y como también pueden causar alteraciones gastrointestinales, otra forma de dañar es la invasión y proliferación en los tejidos, produciendo una respuesta inmune a los antígenos fúngicos, y la última acción patógena es la sensibilización, con desarrollo de una respuesta alérgica frente a los antígenos del hongo.¹⁶

2.2.4.1.- ETIOLOGÍA

Los hongos son huéspedes normales del ser humano, pero para que este microorganismo se transforme en patógeno es necesario que haya una alteración en la inmunidad del huésped, entre las causas que provocan estas alteraciones pueden ser intrínsecas que son propias del individuo como son la diabetes, SIDA, neoplasias, tabaquismo, drogadicción, embarazo, vejez y las extrínsecas son aquellas que necesitan un tratamiento prolongado de antibióticos, radiaciones, canalizaciones que favorecen la enfermedad.¹⁶

2.2.4.2.- DIAGNÓSTICO

Cuando se sospecha que hay presencia de candidiasis es necesario realizar pruebas de laboratorio con técnicas directas como son exámenes microscópicos, cultivos e identificación, en el caso de realizar exámenes microscópicos de la cavidad bucal es necesario realizar un raspado en la zona de la lesión con un hisopo¹⁵, se puede utilizar cualquier tipo de tinción microbiológica, entre las más utilizadas está el cloruro de metiltioninio (azul de metileno), la cual va a permitir ver las células de las levaduras, y como también la tinción de Gram, además hay otra tinción hematológica que permite observar este tipo de células es la de Giemsa.¹⁷

Los cultivos son realizados con las muestras orales, las cuales van a ser cultivadas en agar de la dextrosa Sabouraud, teniendo como ventaja que solo crecerán hongos de género *Cándida*, debido a que presenta un pH ácido.¹⁸ La identificación de *Candida albicans* se puede dar por una prueba de filamentación donde se va a observar la presencia de tubos germinativos, otra prueba es la formación de clamidosporas, aquí veremos un micelio verdadero y a lo largo de este aparecen clamidosporas.¹⁷

2.2.4.3.- MEDIO DE CULTIVO

El aislamiento del hongo en un cultivo inicia con una correcta toma de muestra, esta es diferente en zonas superficiales húmedas donde solo se requiere frotar con una torunda de algodón sobre la zona lesionada, mientras que en las zonas superficiales secas es necesario realizar un raspado de la zona lesionada con un instrumento de borde agudo.

17

El medio de cultivo debe ser apropiado y contener agua, sales, nitrógeno que se obtienen de nitratos, sales de amonio y proteínas, además debe tener carbono que se obtiene de los 28 polisacáridos, disacáridos, monosacáridos o alcoholes, de igual forma debe presentar minerales como los fosfatos de sodio, fosfato de potasio, sulfato ferroso, sulfato de amonio, sulfato de magnesio y cloruro de sodio.¹⁵

De todos los medios de cultivo utilizados para aislar *Cándida* en micología se utiliza el medio convencional que es el agar de Sabouraud que contiene glucosa y peptona como elementos nutritivos, además tiene un pH ácido que ayuda a frenar el desarrollo de bacterias que puedan existir en la muestra, en este medio se puede o no utilizarse antibióticos, en el caso de utilizar antibióticos estos pueden ser cloranfenicol o gentamicina que impide el desarrollo de bacterias, además se puede añadir cicloheximida para evitar el desarrollo de hongos saprófitos ambientales.¹⁷

2.2.4.4.- TRATAMIENTO

Al saber que la candidiasis oral es una infección oportunista debemos identificarla y eliminarla, pero antes de esto debemos prevenirla y esto se da cuando recomendamos a los pacientes a que tengan una adecuada higiene oral, enseñarles a que le den una correcta limpieza a sus placas, prótesis o implantes dentales, lengua, si presenta xerostomía se recomendara la administración de saliva artificial e inclusive disminuir la ingesta de carbohidratos.¹⁵

El tratamiento recomendado es la utilización de antimicóticos polienos entre estos tenemos a la nistatina y el miconazol que son fungicidas y tienen un espectro muy amplio, se los puede administrar tópicamente, por vía oral en suspensiones, pastilla o intravenosa, otro tipo de antimicóticos son los azoles que son fungistáticos estos son fluconazol e itraconazol.¹⁸

2.2.5 FITOTERAPIA

La fitoterapia, palabra derivada del griego, phyton (planta) y therapia (tratamiento) es una práctica usada desde la antigüedad. El primer manuscrito conocido al respecto de ésta práctica es el Papiro de Ebers, de 1500 a. C., descubierto por el egiptólogo alemán Georg Ebers en 1827. Actualmente, las investigaciones realizadas con hierbas, generalmente confirman los usos tradicionales de las plantas, ofreciendo a los investigadores la convicción de que hay mucho que aprender con las costumbres populares⁷. A pesar de ser muy antigua y de haberse transmitido de generación en generación, sigue siendo vigente en todo el mundo y especialmente en los países más desarrollados,⁸ siendo de esta forma un importante método de estudio de fitoterapicos.

Grupos farmacológicos diferentes de una misma planta pueden ser responsables de diversas actividades fitoterapicas; podemos destacar los hidrocarbonados (ácidos grasos, alcohol y esterres), carbohidratos (monosacáridos, polisacáridos, fructanos y agentes espesantes), fenoles (taninos, cumarinas, antraquinonas, flavonas, flavonoides y ligninas), aceites volátiles (aceite de limón, rosa, eucaliptos, menta, timol, alcanfor), saponinas (esteroides naturales, ginseng, soja, glucosidos), terpenos (ginkgo, gutapercha, goma) y alcaloides heterocíclicos o no heterocíclicos.⁹

2.2.6 EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL

2.2.6.1 TAXONOMIA⁸

DOMINIO:

Eucariota

REINO:

Plantae

DIVISIÓN:

Magnoliophyta

CLASE:

Magnoliopsida

SUBCLASE:

Rosidae

ORDEN:

Myrtales

FAMILIA:

Myrtaceae

SUBFAMILIA:

Myrtoideae

TRIBU:

Eucalypteae

GÉNERO:

Eucalyptus

ESPECIE:

Eucalyptus Globulus

NOMBRE COMUN:

Eucalipto

2.2.6.2 DESCRIPCION

Es la especie de eucalipto mas conocida y plantada en el mayor numero de países del mundo. Es fácil de establecer, de rápido crecimiento y resiste los vientos y heladas. Es un árbol de buen porte y forma, usado como ornamental por su follaje plateado, fácilmente reconocibles por el penetrante olor a alcanfor de las hojas al estrujarlas¹⁰

Tronco cilíndrico, recto, grueso alcanza hasta 2m de diámetro, llega hasta 60 m de altura. Copa alargada e irregular sobre un fuste limpio de ramas hasta en 2/3 de su altura total.



Figura N° 2 Tronco cilíndrico, recto, grueso alcanza hasta 2m de diámetro, llega hasta 60 m de altura Fuente: investigador

Corteza de 3 cm. de grosor que desprende en tiras al madurar dejando una segunda corteza lisa dando al árbol un aspecto característica en ocasiones expulsa resina

Caracteres botánicos:

Hojas juveniles opuestas, sésiles, de base cordada, de color gris-azulado, de 8-15 cm. de longitud y 4-8 cm. de anchura. Las adultas alternas, pecioladas, con la base cuneada, linear-lanceoladas, de 15-25 cm de longitud, con el ápice acuminado.

Flores axilares, solitarias o en grupos de 2-3, de hasta 3 cm de diámetro, con numerosos estambres de color blanco.

Fruto en cápsula campaniforme de color glauco y cubierta de un polvo blanquecino, de 1.4-2.4 cm. de diámetro.

Semillas fértiles son negras, rugosas y mas grandes, los óvulos abortados son, rojizos y livianos.¹⁹

2.2.6.3 HABITAT Y DISTRIBUCION:

El tipo árbol, de la subespecie *globulus*, se encuentra confinado más que nada a la costa sureste de Tasmania, pero crece también en pequeños bolsones de la costa oeste de Tasmania, en ciertas islas en el estrecho de Bass al norte de Tasmania y en el Cabo

Otway y el Promontorio de Wilson al sur de Victoria, en Australia. *Eucalyptus* deriva del griego que significa “bien cubierto”, por el opérculo que cubre a las flores y globulus, indica la forma del fruto.⁸

El *Eucalyptus Globulus* procedente de Australia, fue introducida en el país entre los años de 1860–1870, mayormente en los valles interandinos de la sierra peruana, y específicamente en el Valle del Mantaro ya se encontraba en el año 1876, esta especie ha logrado aclimatarse perfectamente a las condiciones edáficas y medio ambientales de la sierra, costa e incluso la selva alta, pese a que en su silvicultura no se ha utilizado las técnicas más apropiadas de propagación. Tal es así que se han establecido las plantaciones sin definir el uso final o específico, en suelos pobres, degradados, efímeros y marginales sobre todo en terrenos comunales, el eucalipto viene reemplazando poco a poco en un 95 % a las especies arbóreas nativas y endémicas de la biodiversidad de la flora peruana, Los principales beneficiarios directos e indirectos de esta especie son los campesinos y la población urbanomarginal de las ciudades.¹⁹

Eucalyptus globulus es el árbol maderable que ocupa mas del 90% dela extensión de plantaciones en el Perú, principalmente en la región de la sierra. Este árbol totalmente adaptado a la sierra del Perú (nivel altitudinal de 2000 a 3500 m.s.n.m) , presenta como características típicas relevantes su rusticidad, la aptitud de la madera para construcciones rurales, puntales demina, fabricación de mueble y otro²

2.2.6.4 CLIMA:

A pesar de que el eucalipto posee una gran adaptabilidad climática, las introducciones más exitosas a nivel mundial han ocurrido en lugares con un clima templado y moderado o en altas elevaciones con temperaturas frías en las áreas tropicales. La distribución estacional de la precipitación no es de importancia crítica para la especie. A pesar de que por lo general crece bien en los países con un máximo de precipitación mediterráneo o durante la estación fría, también crece bien en los climas con una precipitación veranera en Etiopía y Argentina²

2.2.6.5 BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA

Longevidad/forma de vida: Árbol perenne.

Madurez sexual: Más de 5 años.

Tipo de reproducción: Tanto sexual, como asexual (brotes de cepa).

Producción de semillas/planta: Del orden de centenas.

Resistencia a factores externos: Presenta sensibilidad frente a los climas fríos y al encharcamiento del terreno. Puede sufrir el ataque de las siguientes plagas: mal azul (*Botrytis* sp.), *Armillaria mellea* (Fungi) y *Stereum hirsutum* (Fungi), *Phytophthora tumafaciens* (bacteria), *Gonipterus scutellatus* (coleoptero). Presenta la capacidad de rebrotar tras incendios¹³

2.2.6.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EUCALIPTO

Dentro de su composición química destaca su contenido en aceite esencial, cuyo principal constituyente es el cineol o eucaliptol (eter óxido terpénico). Contiene también: terpineol, carburos terpénicos (alfapineno), alcoholes alifáticos y sesquiterpénicos (eudesmol), aldehídos (butírico, valerianico, caprónico) y cetonas.

Posee además tanino (sustancia detoxificante), pigmentos flavónicos (heterópsidos del quercetol) y un heterópsido fenólico complejo, el caliptósido, ácidos fenólicos (gálico, caféico), resina y un principio amargo.

- A-tujeno 0,07 %
- α -pineno 0,0006 %
- β -pinene 0,0002 %
- α -phellandrene 0,003 %
- p-cymene 20,43 %
- limoneno 0,001 %
- 1,8-cineol 57,49 %
- linalol 0,001 %
- α -terpineol 0,93 %
- α -eudesmol 0,0046 %

2.2.6.7 PROPIEDADES

Algunas de las propiedades reconocidas para el eucalipto y su aceite esencial han sido objeto de numerosas investigaciones: es el caso de sus propiedades antitusivas,

expectorantes y antisépticas. También se han demostrado experimentalmente sus propiedades hipoglucemiantes.

Cualquiera que sea su vía de administración, el aceite esencial se elimina en gran parte por vía pulmonar, lo que justifica su interés en el caso de las infecciones rinofaríngeas y del tracto bronco-pulmonar.

Los aceites esenciales de eucalipto son extraídos de hojas de árbol, los cuales son indicados para realizar inhalaciones que, gracias a su acción, eliminan y detienen el crecimiento de microorganismos perjudiciales para nuestro aparato respiratorio, tales como los estafilococos o las candidas y los virus de la tuberculosis y la rabia, entre otros. También se utiliza como fungicida (elimina hongos), característica que le permite ser administrado como antiséptico en zonas con pocos recursos para operaciones de desinfección, especialmente ambiental, para combatir la propagación por el aire de enfermedades como el cólera.²⁰

Constituye igualmente un magnífico expectorante, por lo que es frecuentemente utilizado para despejar las vías respiratorias. Además posee propiedades antiinflamatorias lo colocan en una posición aventajada en el tratamiento de enfermedades como la bronquitis, gripe, faringitis, asma, sinusitis o rinitis. También se puede utilizar para eliminar piojos y además para aclarar la piel.²

En el cuidado de la piel el aceite de eucalipto aumenta la circulación sanguínea cutánea y es formidable para las manchas, los furúnculos y los granos. Se puede aplicar puro en cantidades ínfimas en la zona afectada aunque si se usa muy concentrado puede irritar la piel. También resulta demasiado fuerte para añadirlo en recetas para el cutis; ahora bien, una gota mezclada con una cucharada de aceite de jojoba constituye un práctico aceite de masaje antiséptico para espaldas y cutis con manchas.²

2.2.6.8 USOS

- **Acné:** Reduce las espinillas, granos, barros, etc. Disolver 30 ml de aceite esencial en un litro de agua y aplicar esta mezcla con una gasa limpia sobre la herida.

- **Afecciones de la Piel:** Es antiséptico y astringente. Disolver 30 ml de aceite esencial

en un litro de agua y aplicar esta mezcla con una gasa limpia sobre la herida.

- **Aftas Bucales:** Evita las infecciones y cicatriza las llagas bucales. Disolver 30 ml de aceite esencial en un litro de agua, luego hacer gárgaras sin tragar el líquido. Para las llagas externas mojarlas con una gasa.

- **Arañazos, Cortes, Heridas, Pinchazos, etc.:** Disolver 30 ml de aceite esencial en un litro de agua y aplicar esta mezcla con una gasa limpia sobre la herida.

- **Artritis Reumatoide:** Mitiga el dolor de la articulación afectada y disminuye la hinchazón. Disolver 20 ó 30 ml de aceite esencial en un litro de agua y realizar fricciones sobre la articulación afectada.

- **Artrosis:** Disolver 20 ó 30 ml de aceite esencial en un litro de agua y realizar fricciones sobre la articulación afectada.

- **Asma:** Reduce la inflamación y permite respirar mejor al asmático. Poner a hervir un puñado de hojas por litro de agua. Aspirar los vapores tapándose la cabeza con un paño. Fumar cigarrillos preparados con 2 hojas secas. Tomar un par de cigarrillos al día.¹⁹

- **Bronquitis:** Rebaja la inflamación y elimina el exceso de secreciones. Decocción de 60 gramos de hojas por litro de agua. Aspirar los vapores tapándose la cabeza con un paño. Tomar en infusión algo más de media cucharada sopera de hojas secas por taza de agua. Tomar 3 tazas al día.

- **Catarro:** Combatir el catarro, disminuye la tos, elimina el exceso de mucus, suaviza la garganta, etc. Poner a hervir un puñado de hojas por litro de agua. Aspirar los vapores tapándose la cabeza con un paño. Tomar en infusión algo más de media cucharada sopera de hojas secas por taza de agua. Tomar 3 tazas al día.

- **Diabetes:** Disminuye los niveles de azúcar en la sangre. Decocción de una cucharada de hojas secas por taza de agua durante un par de minutos. Colar y tomar un par de tazas al día.¹⁹

- **Dolor de Garganta:** Disminuye la hinchazón de las amígdalas, reduce el escozor y eliminan la infección. Hacer gárgaras con la decocción de un puñado de hojas en un litro de agua.

- **Faringitis:** Ayuda a eliminar los gérmenes que provocan la inflamación y suaviza la faringe. Poner a hervir un puñado de hojas por litro de agua. Aspirar los vapores tapándose la cabeza con un paño. Tomar en infusión algo más de media cucharada sopera de hojas secas por taza de agua. Tomar 3 tazas al día.

- **Laringitis:** Poner a hervir un puñado de hojas por litro de agua. Aspirar los vapores tapándose la cabeza con un paño. Tomar en infusión algo más de media cucharada sopera de hojas secas por taza de agua. Tomar 3 tazas al día.

- **Mal Aliento:** Combate la halitosis. Hacer gárgaras con la decocción de un puñado de hojas por litro de agua. También tomar en infusión unas hojas en agua. Realizar enjuagues bucales.

- **Rinitis:** Desinflama las fosas nasales. Cocimiento de 60 gramos por litro de agua. Aspirar los vapores cubriéndose la cabeza con un paño.²⁰

- **Sinusitis:** Desinflama los senos paranasales y favorece la salida del exceso de mucosidad. Cocimiento de un puñado de hojas. Aspirar los vapores cubriéndose la cabeza con un paño.

- **Tos:** El eucalipto disminuye la necesidad de toser. Hacer vahos con el cocimiento de un par de cucharadas por litro de agua.

- **Tos Ferina:** Hacer vahos con el cocimiento de un par de cucharadas por litro de agua.

USO MEDICINAL:

La utilización de Fitoterapéuticos ha sido más difundida y estudiada en Medicina que en otras áreas de salud, como la Odontología. ;muchos fitofármacos pueden ejercer; por ejemplo, inhibición del crecimiento o desarrollo de bacterias responsables de la placa bacteriana dental humana. Entre los usos tenemos:²⁰

- El eucaliptol y el aceite de naranja han demostrado una actividad solvente de la gutapercha tan eficiente cuanto al xilol y el halotano
- Una sustancia extraída de las hojas de *Eucalyptus Globulus*, la eucaliptona, es un nuevo agente cariostático
- El eucalipto (*Eucalypto globulus Labill*) contiene 3 a 5% de aceite esencial, con 60% ó más de cíñelo ó eucaliptol, principal responsable por su actividad antigripal, balsámica y adstringente, siendo utilizado en el combate de la gingivitis⁸
- Su uso medicinal y el conocimiento popular, relata que presenta una acción antiséptica, desinfectante y expectorante.⁶
- Actividad antiséptica. Las acciones bacteriostática y bactericida han sido estudiadas y demostradas in vitro frente a numerosos gérmenes (estafilococos, neumococo, proteus, coliformes) y frente a hongos y levaduras (Cándida).
- Vallejo J. (2008) señala que la indicación más usual del eucalipto es para alteraciones respiratorias, también para inflamaciones, procesos reumáticos y como hipotensor. En la medicina tradicional India se usa el *Eucalyptus Globulus Labill* para el tratamiento de problemas de la piel²¹.
- Empleado como antiséptico en las fiebres pútridas , en las supuraciones fétidas.
- Como estimulante de la circulación sanguínea y debilitante de la tensión arterial.²

2.2.6.9 CONTRAINDICACIONES:

- No se debe prescribir para administración oral durante el embarazo, lactancia y niños menores de seis años. Tampoco tópicamente a niños menores de dos años o con alergias respiratorias.
- No utilizar en caso de causar reacciones de hipersensibilidad a éste o a otros aceites esenciales.²¹
- Estimula la función de los microsomas hepáticos, con lo que se acelera el proceso de catabolismo, por lo que no debe administrarse junto con otras medicaciones.
- Está contraindicado cuando existan inflamaciones del tracto gastrointestinal, de las vías biliares o hepatopatías.
- No administrar en conjunto con medicamentos sedantes, analgésicos o anestésicos.²¹

2.3.- HIPÓTESIS

H₀: existe efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* PUNO 2017

H_i: no existe efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* PUNO 2017

2.4.- OBJETIVOS

2.4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* PUNO 2017.

2.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diferenciar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a la concentración de 25% frente a cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.
- Diferenciar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a la concentración de 50% frente a cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.
- Diferenciar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a la concentración de 75% frente a cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.
- Diferenciar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a la concentración de 100% frente a cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.
- Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% frente a cepas de *Streptococcus mutans*.
- Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% frente a cepas *Candida albicans*.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 AMBITO DE ESTUDIO

AMBITO GENERAL

El presente trabajo de investigación se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano de la ciudad de Puno, ciudad que se encuentra en la Provincia de Puno y Departamento de Puno, está ubicado en la parte sureste del territorio peruano entre los 13° 00' y 17° 08' latitud Sur y en los 71° 08' y 68° 50' longitud Oeste del meridiano de Greenwich, en un territorio de aproximadamente 72,000 km², su extensión abarca desde la isla Esteves al noroeste, el centro poblado de Alto Puno al norte y se extiende hasta el centro poblado de Jayllihuaya al sur; el espacio físico está comprendido desde la orilla oeste del lago Titicaca, en la bahía interior de Puno (antes Paucarcolla), sobre una superficie ligeramente ondulada, rodeada por cerros, oscilando entre los 3.810 a 4.050 msnm a orillas del Lago Titicaca, contando con una población estimada de 120,790 habitantes . Siendo su actividad agropecuaria, pesquera industrial y minera.

AMBITO ESPECÍFICO

El presente proyecto de investigación se realizó específicamente en el laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano,

3.2 TIPO DE ESTUDIO

La investigación es experimental, de tipo prospectivo, con dos grupos controles, longitudinal, y comparativo, orientada hacia la evaluación del comportamiento de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* en diferentes concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus*. Empleando un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE INVESTIGACIÓN.

POBLACION: Pacientes con mala higiene bucal (saborra lingual) y caries activa, que acudirán a la clínica Odontológica de la UNA- Puno que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión:

- Pacientes con caries dental
- Pacientes portadores de saburra lingual
- Pacientes adultos de 30 a 60 años de edad

Criterios de exclusión:

- Pacientes que estaban bajo tratamiento farmacológico hace 15 días.
- Pacientes bajo tratamiento con colutorios y/o geles de clorhexidina u otro antiséptico bucal, o flúor.
- Pacientes que consumen goma de mascar cuatro o más días a la semana.

MUESTRA:

- cepas de la bacteria *Streptococcus mutans*
- cepas del hongo *Cándida albicans*

3.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLE

Variable	Dimensiones	Naturaleza de la variable	Naturaleza de la variable	Escala de medición	Indicador
(Variable independiente) Extracto etanolico de <i>Eucalyptus globulus</i>	Inhibir el Crecimiento y desarrollo de microorganismos evaluados	Diferentes concentraciones del extracto etanolico de <i>Eucalyptus globulus</i>	Directa	Razón (25%, 50%, 75%, 100%)	Concentración De <i>Eucalyptus globulus</i> Etanólico.
(Variable dependiente) Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	Halo de inhibición	Cuantitativa	Directa	Ordinal	Halos de inhibición del crecimiento microbiano medido en milímetros de diámetro.

3.5 INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS:

FICHA 1: “FICHA CLINICA DE SELECCIÓN”. Se consignan datos, antecedentes personales.

FICHA 2: “CONSENTIMIENTO INFORMADO”.

FICHA 3: “MATRIZ DE DATOS” Para análisis de datos obtenidos en el presente trabajo serán registrados con códigos.

3.6 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

La recolección de datos se hizo, midiendo la presencia del halo inhibitorio con un

vernier digital llevando las medidas a la matriz de datos, las técnicas utilizadas fueron con la supervisión y control continuo por parte del director y licenciado de Biología del Proyecto de Investigación.

A) OBTENCION Y PREPARACION DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *EUCALYPTUS GLOBULUS*

- *Recolección e identificación del Eucalyptus globulus*: Se recolecto las hojas del eucalipto en el Centro Poblado de Camacani, Latitud Sur:15° 56' 34" S - 15.94278666000 Longitud Oeste :69° 51' 27.7" W -69.85769751000, ubicada a una altitud de 3842 msnm. Es la especie de eucalipto más conocida y plantada en el mayor número de países del mundo. Es fácil de establecer, de rápido crecimiento y resiste los vientos y heladas. Es un árbol de buen porte y forma, usado como ornamental por su follaje plateado, fácilmente reconocibles por el penetrante olor a alcanfor de las hojas al estrujarlas

Trasporte al laboratorio:

- Colocamos de manera conjunta en bolsas oscuras, se transportó al laboratorio de Quimica de la UNA-Puno

- Selección y/o eliminación de impurezas: La materia prima debe estar libre de impurezas burdas (polvo, excremento de aves).

- Pesado de hojas de *Eucalyptus globulus*: Pesamos la cantidad necesaria de *Eucalyptus globulus* para obtener el extracto etanólico

- obtención de extracto etanolico: Se coloco en un matraz de 1000 ml la cantidad de 100mg de hojas de eucalipto y 100ml de alcohol posteriormente bien cubierto con papel aluminio en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, durante un periodo de 15 días, agitándolos varias veces en el día.

- Filtrado: Terminado el proceso de maceración, las soluciones etanólico sobrenadantes se decanto cuidadosamente y se filtro previamente a través de papel de filtración rápida. Se sometio a temperatura de refrigeración durante 24h y se procedió a la filtración final con papel de filtración rápida, obteniéndose el extracto etanólico

-Elaboración de las concentraciones del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus*: Las concentraciones del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* se diluyeron en etanol de 96°.

Concentración	Alcohol etanólico	extracto etanólico del Eucalipto
100%	0 ml	100 ml
75%	25 ml	75 ml
50%	50 ml	50 ml
25%	75 ml	25 ml

B) OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

PRODUCTOS DE EXPERIMENTACION

Eucalytus globulus a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%

Control positivo CLORHEXIDINA AL 2% para *Eucalyptus globulus*

Control positivo MICONAZOL para *Candida albicans*

Control negativo agua destilada para ambos agentes infecciosos

BACTERIA Y HONGO INDICADORA

La bacterias que se han utilizado para este estudio es el *Streptococcus mutans*, aislados de la caries dental de las piezas dentarias, y el hongo *Candida albicans* aislados de la saburra lingual.

C) PROCEDIMIENTOS Y TECNICAS

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE EXPERIMENTACIÓN PARA *STREPTOCOCCUS MUTANS* Y *CANDIDA ALBICANS*

De la caries dental y saburra lingual de los pacientes que acuden a la clínica Odontológica de la UNA-PUNO, se tomó la muestra con hisopado estéril, luego fue trasladado al laboratorio de biología de la UNA-PUNO en cinco tubos de ensayo contenido 1ml de suero fisiológico con muestras de caries dental y cinco tubos de ensayo contenido 1ml suero fisiológico con muestras de saburra lingual a los 30 minutos.

SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE LA CEPA BACTERIANA *STREPTOCOCCUS MUTANS*

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

La preparación de los medios de cultivo comprende los siguientes tiempos

fundamentales:

1. Pesar los ingredientes y disolución con calor.
2. Colocar en Baño María un frasco o balón con 100 ml de Agar nutritivo estéril hasta que licué completamente.
3. Ajuste del pH. Por lo general las bacterias exigen una reacción neutra o ligeramente alcalina pH 6,8 - 7,2. Un pH alto o bajo retarda o inhibe el crecimiento de las bacterias. Para determinar el pH, se ha empleado los siguientes métodos: Método del papel indicador universal de Ph
4. Dejar enfriar hasta 45 - 50°C el caldo nutritivo.
5. Añadir asépticamente sangre humana en proporción del 5-8%.
6. Agitar suavemente para mezclar.
7. Repetir en cinco placas Petri, dejar solidificar.
8. El color de este medio es rojo - cereza.
9. sembrar la muestra en el medio de cultivo. Incubar a 37°C por 24 horas.
10. Transcurrido el tiempo se observa el desarrollo de las colonias.

AISLAMIENTO DE LAS CEPAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Se sembró colocando los microorganismos en medios de cultivo agar sangre para que se desarrollen y multipliquen en condiciones óptimas.

Para sembrar se tomó en cuenta:

- a. Realizar la siembra en medios de cultivo Agar Sangre debidamente apropiado y estériles.
- b. Trabajar cerca de la llama del mechero.
- c. Esterilizar a la llama el asa de Kolle, antes y después de la siembra.
- d. Flamear la boca del tubo, antes y después de realizada la siembra.

Se realizo la siembra por Transplante.

Por transplante: El material contiene una sola especie bacteriana, y se realizo con la finalidad de conservar el microorganismo renovando su medio de cultivo para conocer sus propiedades biológicas y bioquímicas.

Siembra de una muestra líquida a un medio solido.

Procedimiento:

1. Se esterilizo el asa por flameado.
2. Se deajo enfriar.
3. Se tomó con la mano izquierda el tubo con la muestra se le dio leve inclinación para evitar, al ser destapado, contaminación con microorganismo del medio ambiente.
4. Con la mano derecha, se sostuvo el asa y ayudado con el dedo meñique de esta misma mano, se sacó el tapón de papel aluminio del tubo .
5. Se introdujo el asa sin tocar las paredes y cargarla con la suspensión. Retirar el asa.
6. Se flameo de nuevo la boca del tubo, y tapar con el tapon.
7. Inmediatamente tomar con la mano izquierda la placa con el medio de cultivo sólido estéril, destapar con cuidado de esterilidad é introducir el asa hasta el fondo, hacer una línea ó estría sin romper el medio de cultivo.
8. Se flameo el asa de Kolle.
9. Se rotulo la Placa
10. Se incubo en la estufa a 37°C por 48 horas.
11. Transcurrido el tiempo se observa desarrollo de la bacteria *Streptococcus Mutans*

**RECOCOCIMIENTO MICROSCOPICO Y PRUEBAS BIOQUIMICAS DE
*STREPTOCOCCUS MUTANS*****Coloración Gram de Hucker (Cristal violeta)**

- a. Frotis en la lámina portaobjeto
- b. Se fijo al calor. No sobrecalentar
- c. Se Dejar enfriar la lámina antes de colorear.
- d. Sostener el portaobjeto entre el pulgar y el índice y bañar la superficie con unas gotas de cristal violeta durante diez segundos .
- e. Lavar con agua de caño y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte
- f. Dejar secar la lámina.
- g. Examinar la lámina coloreada al microscopio con objetivo 100 x de inmersión (aceite).

Pruebas bioquímicas:

- Prueba de catalasa

Reactivo: Peróxido de hidrógeno al 3%: negativo

- Pruebas de coagulasa

Reactivo: Plasma de conejo deshidratado: negativo

- Prueba de oxidasa

Reactivos: N, N, dimetil-p fenilenediamina, Solución acuosa al 1%: negativo

- Agar bilis esculina: negativo

Colocar 5 mL aproximadamente en un tubo con tapa de rosca (16 mm x 125 mm).

Autoclavar a 121 °C, 15 minutos.

Enfriar

Conservar refrigerado (4 – 10 °C).

DIFUSIÓN EN DISCO O KIRBY BAUER PARA *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Preparación del Agar Mueller Hinton

- Se autoclavó y se dejó enfriar hasta que alcance los 45°C - 50°C.
- Agregar 5% de sangre
- Se midió el pH del agar el valor del mismo debe encontrarse entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente.
- Se repartió el medio en 20 placas Petri

Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

Fue preparado en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de 1.5×10^2

Inoculación de las Placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, sumergir un hisopo estéril en la suspensión, rotar el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.

Inocular en la superficie seca de la placa con agar Mueller Hinton con la suspensión estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de colocar los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

Aplicación de los discos

- Se colocó los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta de una aguja presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

- Se distribuyó diez discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm) por placa. Se inoculó 10 µl del extracto etanólico del *Eucalyptus Globulus* preparados a diferentes concentraciones de 100 %, 75 %, 50 % y 25 %

Incubación

- Se colocó las placas petri en posición invertida a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.

- Después de las doce horas de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco sobre la bacteria *Streptococcus mutans*

Lectura de las placas e interpretación de los resultados

- Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa incluyendo el diámetro del disco, usando el calibrador Vernier digital. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

- El punto final se tomó el área que no muestra un crecimiento obvio, visible, que puede ser detectado mediante observación visual, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que puedan ser detectadas solo con mucha dificultad en el borde de la zona.

SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE LA CEPA BACTERIANA *CANDIDA ALBICANS*

MEDIOS DE CULTIVO AGAR SABOUROUD

1. Se esterilizó las placas petri en el autoclave a 37°C por 24 horas.
2. Pesar los ingredientes
3. Se colocó en Baño María en un frasco 100 ml de Agar Sabouroud , agitar suavemente hasta que licué completamente.
4. Se dejó enfriar hasta 45 - 50°C.
5. Se repartió en cinco placas Petri, se dejó solidificar.
6. El color de este medio es beige
7. Se sembró la muestra en el medio de cultivo. Incubar a 37°C por 24 horas.
8. Transcurrido el tiempo se observó el desarrollo de las colonias.

DIFUSIÓN EN DISCO O KIRBY BAUER PARA *CANDIDA ALBICANS*

Preparación del Agar Sabouroud

- Autoclavar y dejar enfriar en baño de agua hasta que alcance los 45°C - 50°C.
- Repartir el medio en 20 placas Petri

Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

Fue preparado en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de 1.5×10^2

Inoculación de las Placas

- Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotar el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.
- Inocular la superficie seca de la placa de agar Sabouroud con la suspensión, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de colocar los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

Aplicación de los discos

- Colocar los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta de una aguja presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

- Distribuir diez discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm) por placa. Inocular con 10 μ l del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* preparados a diferentes concentraciones del 100 %, 75 %, 50 %, 25 %.

Incubación

- Se colocó las placas en posición invertida a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.

- Después de las doce horas de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

Lectura de las placas e interpretación de los resultados

- Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando el calibrador vernier digital. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la placa petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

- El punto final debe se tomó el área que no muestra un crecimiento obvio, visible, que puede ser detectado mediante observación visual, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que puedan ser detectadas solo con mucha dificultad en el borde de la zona.

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- La información recolectada fue manejada de manera confidencial por el investigador, así como su publicación y presentación de datos se efectuó en forma anónima, acorde a los artículos N° 73, 74, 75 y 76 del código de Ética Profesional y Deontológico del Colegio Odontológico del Perú.

- Al ejecutar la presente investigación se contó con la participación voluntaria, autorización por escrito de los sujetos a estudio así como su información necesaria acerca de los fines, métodos, beneficios e incomodidades derivadas de la investigación. (ANEXO 2: “CONSENTIMIENTO INFORMADO”).

- En cuanto a lo social no se ocasionó ningún daño epidemiológico de los participantes, puesto que los materiales clínicos utilizados son estériles y desechables con lo cual se aseguró el bienestar de los participantes sin ninguna injuria por parte de los investigadores.

3.7 DISEÑO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- 1.- Una vez elaborada la base de datos codificada se hizo los análisis, cruces de variables y pruebas estadísticas.

- 2.- La información recolectada se procesó mediante el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión en español de Windows 2016 , utilizando además una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2016 para colocar nuestro matriz de datos.

PRUEBA DE T: La prueba calcula la diferencia entre la media de los promedios de halo de inhibición y la media hipotética en relación con la variabilidad de los halos de inhibición. Por lo que, mayor sea la diferencia y menor sea la variabilidad de la muestra, mayor será la probabilidad de que la media de la población difiera significativamente de la media hipotética.

Para la prueba t, las hipótesis son:

Hipótesis nula

$$H_0: \mu_d = \mu_0$$

La media de las diferencias de los halos de inhibición (μ_d) es igual a la media hipotética de las diferencias (μ_0).

Hipótesis alternativa

$$H_1: \mu_d > \mu_0$$

La media de las diferencias de los halos de inhibición (μ_d) es mayor que la media hipotética de las diferencias (μ_0).

ANALISIS DE VARIANZA (ANDEVA): Modelo estadístico para pruebas dependientes de investigación experimental

Cuya fórmula es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + C_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = es la observación perteneciente j-esima del bloque las observaciones son independientes

μ = es el efecto del medio poblacional

α_i = es el factor j-esima nivel de factor del halo de inhibición

β_j = concentración del tratamiento y halo de inhibición (bloque)

e_{ij} = es la variable aleatoria del error con distribución normal

PRUEBA DE SIGNIFICANCIA DE TUKEY:

La fórmula para el cálculo es la siguiente:

$$W_{ij=qX} = \sqrt{\frac{CME}{2} \left[\frac{1}{r_i+r_j} \right]}$$

Donde:

W_{ij} = comparador para el par de tratamientos i, j

Q = valor de la tabla de Tukey, con grados de libertad de tratamientos y grados de libertad del error

CME = cuadrado medio del error

3.8. MATERIALES

A. RECURSOS HUMANOS:

- Director: Dr: Jorge Luis Mercado Portal
- Licenciado de biología de la UNA Puno : Lorgio Balbino Palacios Frisancho
- Nombre de los tesistas: Bach. Cahuana Pineda Lizbeth Vanessa
Bach. Condori Cueva Tania Vaneza

B. RECURSOS MATERIALES:

- Instrumentales de examen odontológico

- Espejos bucales
- Exploradores bucales
- Cajas metálicas
- Guantes
- Mascarillas
- Algodón

- Materiales de laboratorio para el procesado del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus*

- Vaso precipitado
- Probetas
- Etanol al 96°

-Materiales de laboratorio microbiológico.

- Tubos de ensayo 2 y 5 ml con tapa rosca.
- Vasos de precipitados de 150 y 200 ml
- Placas petri Pyrex
- Asa de siembra
- Pipetas de 1.5 y 10 ml (Pasteur)
- Matraces Erlenmeyer de 125, 250,500 ml.
- Probetas de 25, 100 y 250 ml.
- Gradillas
- Embudos
- Pinza porta Discos

- Goteros
- Micropipeta calibrada.
- Laminas portaobjetos
- Hisopo.

-Medios de cultivo

- Agar Sangre
- Agar Mueller Hinton
- Agar Sabourand

-Reactivos

- Agua destilada
- Etanol 96°
- Solución Fisiológica al 0.9%.
- Ampollas de agua destilada de 5ml

-Instrumentos y Equipos

- Estufa de cultivo
- Microscopio.
- Cocina eléctrica.
- Soporte Universal.

C. ELEMENTOS DE BIOSEGURIDAD

- Mandil color blanco
- Gorra color blanco
- Guantes quirúrgicos estériles
- Mascarilla desechable
- Anteojos transparentes

D. ELEMENTOS AUXILIARES DE REGISTRO

- Cámara fotográfica digital 7,5 mega píxeles
- Computadora Pentium IV
- VERNIER digital

IV. RESULTADO

TABLA N° 1

EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Eucalyptus globulus* AL 25% FRENTE A LA BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*

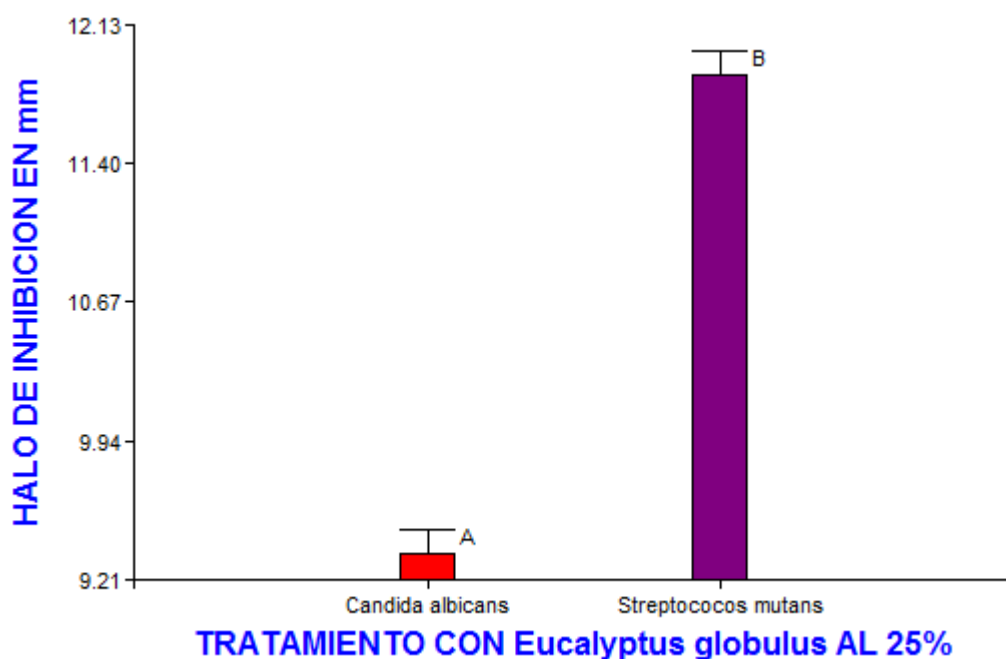
INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	EFECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> al 25%	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Candida albicans</i>
	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm. POR TRATAMIENTO	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm POR TRATAMIENTO
1P	11.51	9.03
2P	11.87	9.57
3P	12.07	9.67
4P	11.63	9.46
5P	12.21	9.00
PROMEDIO	11.85	9.34
D.E	± 0.29	± 0.31
LI	11.49	8.96
LS	12.22	9.73
T_c	90.67	67.12
P	< 0.0001	< 0.0001

Fuente: propio de las autoras

Interpretación.- En la tabla podemos mencionar que, el efecto inhibitorio del extracto etanolico del *Eucalyptus globulus* al 25% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* presente en las piezas dentarias y el hongo *Candida albicans* presentes en la cavidad bucal, se fundamenta en la presencia de halos de inhibición, que son expresados en mm, observado *in vitro*, siendo los resultados del promedio del halo de inhibición para *Streptococcus mutans* de 11.85 mm. Para el efecto inhibitorio del extracto etanolico de *Eucalyptus globulus* al 25% frente a *Candida albicans*, el promedio del halo de inhibición es de 9.34 mm ;entre ambos promedios es de 2.51 mm. Los promedios se sometió al análisis estadístico de t en la frecuencia de la zona de inhibición con extracto etanolico de *Eucalyptus globulus* al 25% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* y al hongo *Candida albicans* siendo su distribución normal y homogéneo, la t calculado de 90.67 para *Streptococcus mutans* y de 67.2 para *Candida albicans* con una probabilidad de $P \leq 0.0001$ para ambos casos.

GRAFICO N° 1

CONTRASTE DE SIGNIFICANCIA DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON
EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* L 25% ENTRE LA
BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*



Interpretación estadística: En el análisis Estadístico observado entre la zona de inhibición del extracto de etanólico del *Eucalyptus globulus* al 25% frente a la bacteria de *Streptococcus mutans* y en el hongo *Candida albicans*, fue notoriamente diferente entre la zona de inhibición en favor a *Streptococcus mutans*, lo que demuestra que es mejor el comportamiento en el tratamiento. Todos estos presentan asociación debido a que los resultados de la prueba de Tukey resultó significativa (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,44050).

TABLA N° 2

EFEECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 50% FRENTE A LA BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*

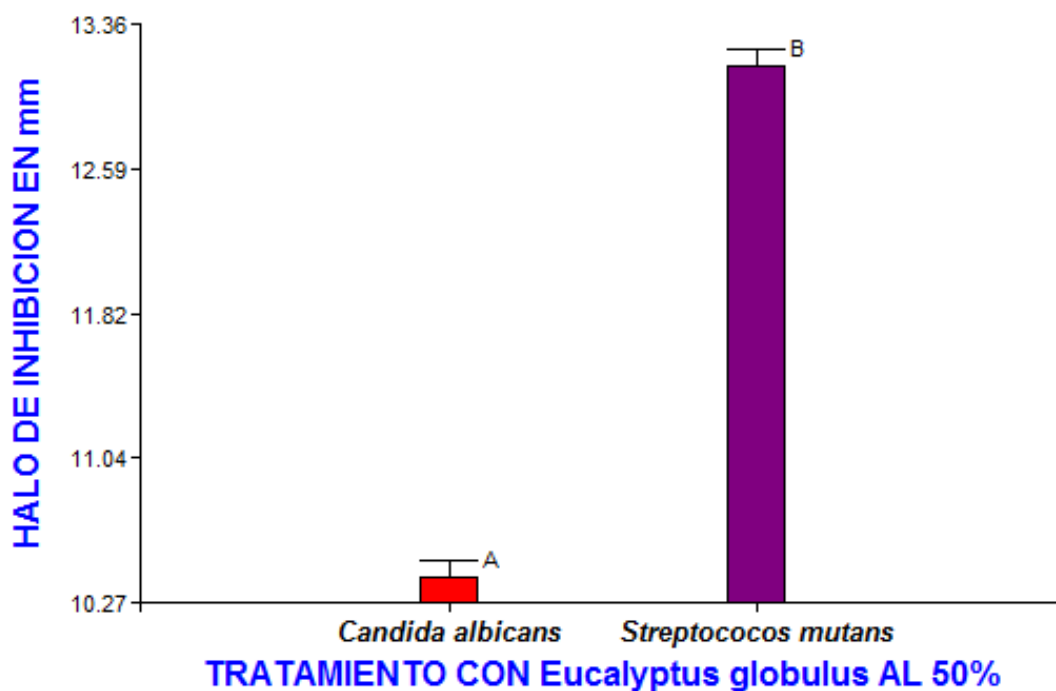
INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	EFECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> al 50%	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Candida albicans</i>
	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm. POR TRATAMIENTO	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm POR TRATAMIENTO
1P	12.91	10.21
2P	13.19	10.50
3P	13.39	10.40
4P	13.30	10.61
5P	12.87	10.34
PROMEDIO	13.13	10.41
D.E	± 0.23	± 0.15
LI	12.84	10.22
LS	13.42	10.60
T	126.34	152.62
P	< 0.0001	< 0.0001

Fuente: Propia de las autoras.

Interpretación.-Los resultados obtenidos se tiene que el mayor promedio de halo de inhibición se da para *Streptococcus mutans* con 13.13 mm. y para *Candida albicans* es de 10.41mm, siendo la diferencia de 2.72 mm, los promedios se sometió al análisis estadístico de t en la frecuencia de la zona de inhibición con extracto etanolico de *Eucalyptus globulus* al 50% frente a la bacteria de *Streptococcus mutans* y al hongo *Candida albicans* con una distribución normal y homogéneo, siendo la t calculada de 126.34 para *Streptococcus mutans* y de 152.62 para *Candida albicans* con una probabilidad de $P \leq 0.0001$ para ambos casos.

GRAFICO N° 2

CONTRASTE DE SIGNIFICANCIA DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON
EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 50% ENTRE LA
BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*



Interpretación estadística: En el análisis estadístico observado entre la zona de inhibición del extracto de etanólico del *Eucalyptus globulus* al 50% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, fue notoriamente diferente entre la zona de inhibición en favor a *Streptococcus mutans*, lo que demuestra que es mejor el comportamiento con el tratamiento. Lo que presentan asociación debido a que los resultados de la prueba de Tukey resultó significativa (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,28671).

TABLA N° 3

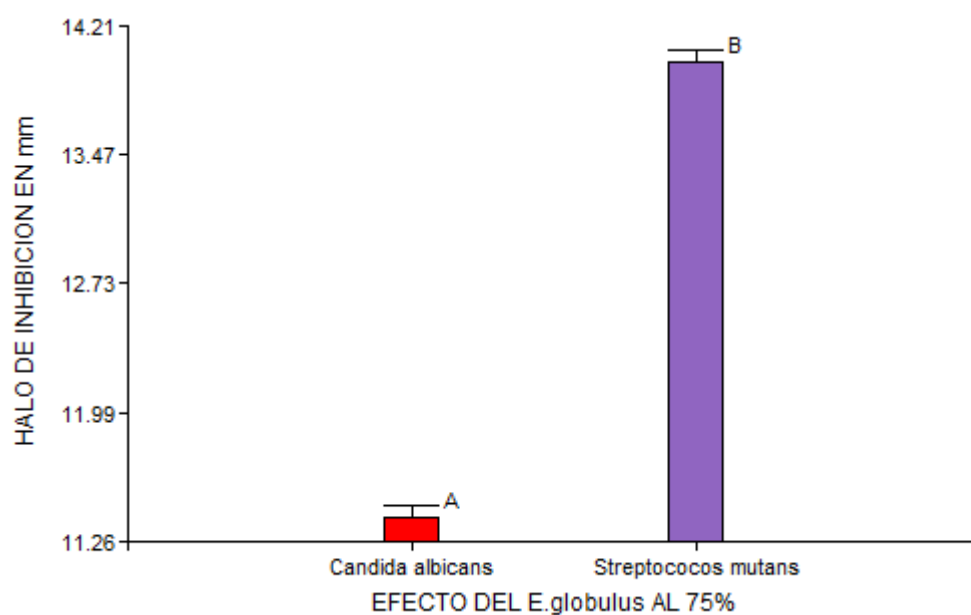
EFEECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 75% FRENTE A LA BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*

EFEECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> al 75%		
INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	<i>Streptococcus mutans</i> PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm. POR TRATAMIENTO	<i>Candida albicans</i> PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm POR TRATAMIENTO
1P	13.84	11.36
2P	13.97	11.50
3P	14.15	11.24
4P	13.86	11.56
5P	14.20	11.29
PROMEDIO	14.00	11.39
D.E	± 0.16	± 0.14
LI	13.80	11.22
LS	14.21	11.56
T	190.11	186.75
P	< 0.0001	< 0.0001

Fuente: Propia de las autoras.

Interpretación.- La tabla se fundamenta en el análisis de los datos de halos de inhibición, que son expresados en mm, dando como resultado al mayor halo de inhibición para la bacteria *Streptococcus mutans* es de 14.00 mm sin embargo para el hongo *Candida albicans* el promedio del halo de inhibición es de 11.39 mm. siendo la diferencia de 2.61 mm, los promedios se sometió al análisis estadístico de t en la frecuencia de la zona de halo de inhibición de *Eucalyptus globulus* al 75% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, siendo la t calculada de 190.11 para *Streptococcus mutans* y de 186.75 para *Candida Albicans* con una probabilidad de $P \leq 0.0001$ para ambos casos.

GRAFICO N° 3

**CONTRASTE DE SIGNIFICANCIA DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON
EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 75% ENTRE LA
BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans***

Interpretación estadística: En el análisis Estadístico observado entre la zona de inhibición del extracto de etanólico del *Eucalyptus globulus* al 75% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, fue notoriamente diferente entre la zona de inhibición en favor de *Streptococcus mutans*, lo que demuestra que se comporta mejor con el tratamiento. Lo que presentan asociación debido a que el resultado de la prueba de Tukey resultó significativo (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,22053).

TABLA N° 4

EFEECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 100% FRENTE A LA BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*

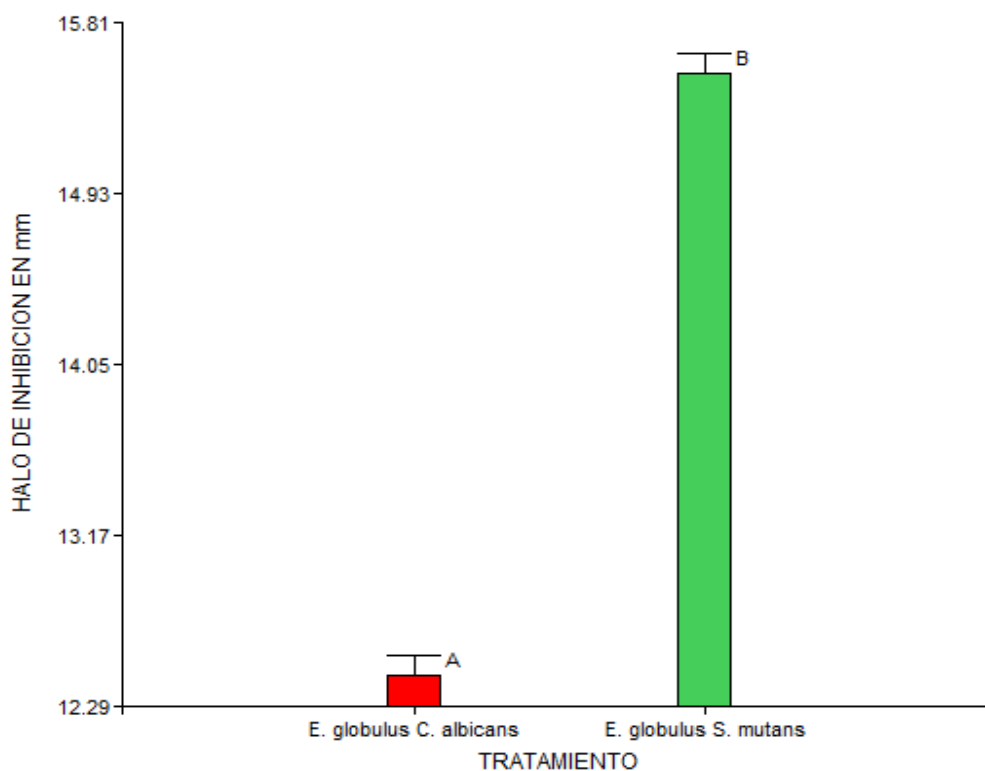
INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	EFEECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> al 100%	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Candida albicans</i>
	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm. POR TRATAMIENTO	PROMEDIO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm POR TRATAMIENTO
1P	15.45	12.42
2P	15.39	12.55
3P	15.66	12.36
4P	16.01	12.62
5P	15.19	12.32
PROMEDIO	15.54	12.45
D.E	± 0.31	± 0.13
LI	15.15	12.30
LS	15.93	12.61
T	111.51	218.93
P	< 0.0001	< 0.0001

Fuente: Propio de las autoras.

Interpretación.-En la tabla podemos observar que la técnica utilizada para la interpretación de la zona de inhibición entre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, se fundamenta en el análisis de los datos de halos de inhibición, que son expresados en mm, dando como resultado con un promedio de halo de inhibición de 15.54 mm para la bacteria *Streptococcus mutans* y para el hongo *Candida albicans* el promedio del halo de inhibición es de 12.45 mm siendo la diferencia 3.09 mm ; los promedios se sometió al análisis estadístico de t en la frecuencia de la zona de inhibición con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% frente a la bacteria de *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans* siendo la t calculada de 111.51 para *Streptococcus mutans* y de 218.93 para *Candida albicans* con una probabilidad de $P \leq 0.0001$ para ambos casos.

GRAFICO N° 4

CONTRASTE DE SIGNIFICANCIA DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON
EXTRACTO ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 100% ENTRE LA
BACTERIA *Streptococcus mutans* Y EL HONGO *Candida albicans*



Interpretación estadística: En el análisis estadístico observado entre la zona de inhibición del extracto de etanólico del *Eucalyptus globulus* al 75% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, fue notoriamente diferente entre la zona de inhibición en favor a *Streptococcus mutans*, lo que demuestra que es mejor el comportamiento con el tratamiento. Lo que presenta asociación debido a que los resultados de la prueba de Tukey resultó significativa (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 34710).

TABLA N° 5

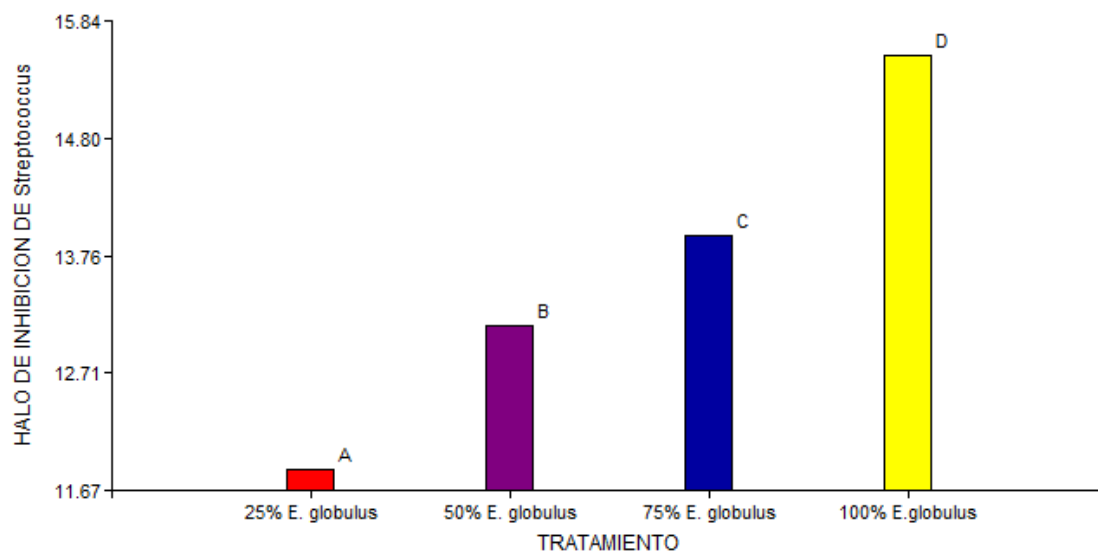
**COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO
ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE A
LA BACTERIA *Streptococcus mutans***

INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> FRENTE A <i>Streptococcus mutans</i> CONCENTRACIONES DE <i>Eucalyptus globulus</i>			
	25%	50%	75%	100%
	1P	11.51	12.91	13.84
2P	11.87	13.19	13.97	15.39
3P	12.07	13.39	13.77	15.66
4P	11.63	13.30	13.86	16.01
5P	12.21	12.87	14.20	15.19
PROMEDIO	11.85	13.13	13.92	15.54

Fuente: propia de las autoras.

Interpretación.- En la presente tabla se puede observar que el mejor comportamiento en su acción inhibitoria se da con el tratamiento del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100%, frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, seguido por la concentración de 75%, que el mismo se comporta mejor a las concentraciones de 50% y 25%, por último el mejor comportamiento se da al 50% en relación al 25%.

GRAFICO N° 5:

**CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO
DE *Eucalyptus globulus* EN LAS CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y
100%, EN *Streptococcus mutans***

Interpretación estadística: En el análisis estadístico observado entre la zona de inhibición del extracto de etanólico del *Eucalyptus globulus* al 25%, 50%, 75% y 100% frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, fue notoriamente diferente entre la zona de inhibición con el tratamiento de extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* al 100%, con relación a las concentraciones de 75%, 50% y 25%, seguido por la concentración de 75% y por ultimo la concentración de 50% actua mejor en el tratamiento en relación a la concentración de 25%, lo que demuestra que es mejor cuanto mayor es la concentración mejor el comportamiento con el tratamiento. Lo que presentan asociación debido a que los resultados de la prueba de Tukey resultó significativa (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,46566).

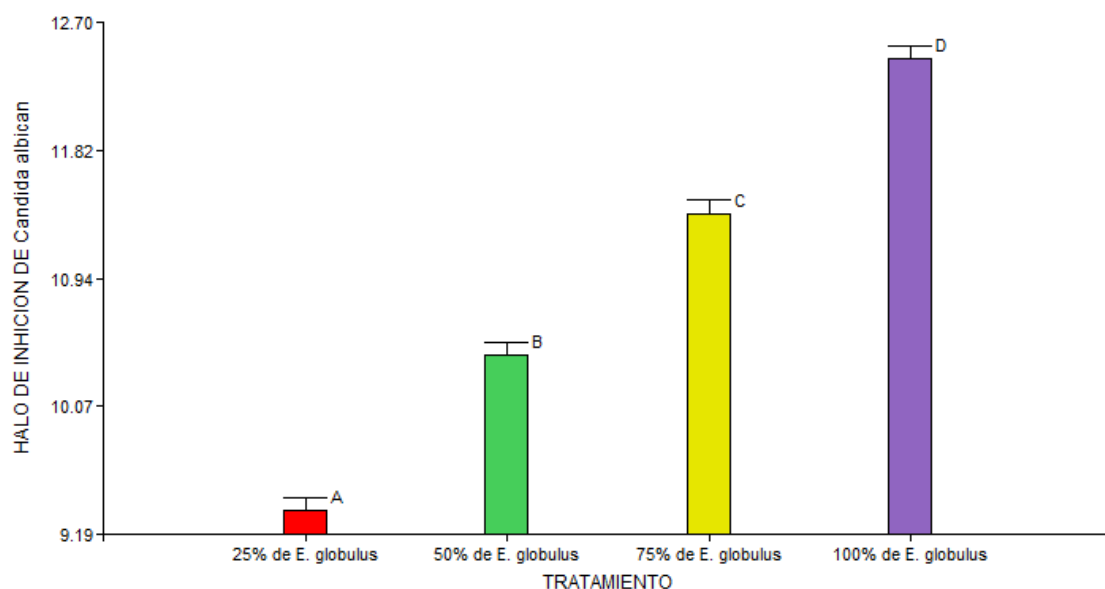
TABLA N° 6
COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO
ETANOLICO DE *Eucalyptus globulus* AL 25%, 50%, 75% Y 100% FRENTE AL
HONGO *Candida albicans*

INOCULO DE CEPAS EN PLACAS PETRY PARA EL TRATAMIENTO	COMPARACION DEL EFECTO INHIBITORIO DE <i>Eucalyptus globulus</i> FRENTE A <i>Candida albicans</i> CONCENTRACIONES DE <i>Eucalyptus globulus</i>			
	25%	50%	75%	100%
1P	9.03	10.21	11.36	12.42
2P	9.57	10.50	11.50	12.55
3P	9.67	10.40	11.24	12.36
4P	9.46	10.61	11.56	12.62
5P	9.00	10.34	11.29	12.32
PROMEDIO	9.34	10.412	11.39	12.45

Fuente: Propia de las autoras

Interpretación.-En la presente tabla se observa que el mejor comportamiento en su efecto inhibitorio se da con el tratamiento con el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100%, frente al hongo *Candida albicans*, con un promedio de 12.454 mm, seguido por el tratamiento con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 75%, frente al hongo *Candida albicans* con un promedio de su halo de inhibición de 11.39 mm, muy cerca está en el tratamiento de extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 50% frente al hongo *Candida albicans*, con un promedio de halo de inhibición de 12.39 mm, por último observamos que el menor efecto antifúngica se da con el tratamiento de extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 25% frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de 9.34 mm.

GRAFICO N° 6

**CONTRASTE DE LA ZONA DE INHIBICIÓN CON EXTRACTO ETANOLICO
DE *Eucalyptus globulus* EN LAS CONCENTRACIONES DE 25%, 50%, 75% Y
100%, EN EL HONGO *Candida albicans***

Interpretación estadística : En el análisis estadístico de comprobación para el mejor efecto antimicrobiano tiene del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en sus diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente frente al hongo *Candida albicans*, es notoriamente diferente y significativo la presencia del halo de inhibición, lo que nos indica que el mejor efecto lo tiene el extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* al 100% con relación a las otras concentraciones, seguido del 75% que es diferente y significativo en relación al de la concentración de 50% y 25% respectivamente. Todos estos resultados presentan asociación por la confirmación de la Tukey siendo significativa (Tukey Alfa = 0,05 DMS = 0,35617), en tal sentido existe relación entre las variables de las concentración de extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente.

V. DISCUSIÓN

En el trabajo realizado por Mohammed N,(2014), (Liverpool, Londres) evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto metanólico del *Eucalyptus spathulata*. sus resultados fueron el efecto inhibidor para *Streptococcus mutans* de 12.4mm de halo de inhibición, en comparación con nuestro estudio de investigación los resultados del halo de inhibición fue de 15.54 mm a la concentración del 100%, siendo la diferencia en un 3.1 mm más de halo de inhibición a favor de nuestro trabajo de investigación. Con respecto al efecto inhibidor para *Candida albicans* sus resultados fueron de 10.9 mm de su halo de inhibición en comparación a nuestro estudio se tiene un halo de inhibición de 12.45mm a una concentración del 100%, siendo ligeramente diferente en 1.5mm a favor de nuestro trabajo, en ambas trabajos el mejor efecto inhibidor fue para la bacteria *Streptococcus mutans*; las diferencias que se tiene en ambos trabajos se debe a la especie del eucalipto y el tipo de extracto ; en comparación con el trabajo de investigación hecho por Damjanovic B. y col (2011), (Podgorica, Montenegro) donde determino la actividad inhibitoria del aceite esencial del *Eucalyptus globulus*, reveló que este aceite esencial tiene una fuerte actividad inhibitoria especialmente contra *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*, conjuntamente con el estudio de Humberto L y col (2001), (Lima, Perú) el extracto del eucalipto posee actividad antimicrobiana contra gram positivos; en relación a nuestro estudio también se demostró la actividad inhibitoria tanto para la bacteria y el hongo.

Dias R. y col (2010), (Sao Pablo, Brasil) investigo la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra especies de *Candida* implicados en las infecciones orales obteniendo como resultado que a la concentración de 625ug.ml^{-1} de *Eucaliptus globulus* fue capaz de promover la muerte celular en 81% de las cepas analizadas con un valor de 39ug.ml^{-1} , en relación al grupo control miconazol presentó 16ug.ml^{-1} sobre el 100% de las cepas, demostrando su efectividad de dicho aceite, en relación a nuestros resultados podemos decir que en ambos casos posee efecto inhibitorio para el hongo a pesar de que nuestros valores están con otras medidas y métodos de tratamiento , con referencia al grupo control en ambos trabajos hizo un mayor efecto en relación al colutorio. Pranay J, y col(2010),(Kuruskshetra, India) en su trabajo de investigación manifiesta que la extracción metanólica de la corteza y de las

hojas del *Eucalyptus tereticornis* fueron evaluados para la actividad inhibitoria contra patógenos humanos que incluía bacterias Gram positivas , *Streptococcus mutans* (MTCC 497), *Staphylococcus aureus* (MTCC 7443) y la bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* (MTCC 5704) y una levadura *Candida albicans* (MTCC 3017), se observó que el extracto metanólico de la corteza de *Eucalyptus tereticornis* fue más eficaz en la inhibición de los cuatro patógenos de prueba con zona de inhibición que oscilaba entre 17 mm y 27 mm en comparación con el extracto metanólico de la hoja con 18 a 24 mm, específicamente en sus resultados obtenidos fue 24mm para *Streptococcus mutans* y 17 mm para *Candida albicans*, nuestros hallazgos fueron diferentes en el efecto, siendo de 15.54mm al 100% del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* para *Streptococcus mutans* siendo diferente en un 8.46 mm más de halo de inhibición y para *Candida Albicans* sus resultados fueron de 12.45mm al 100% del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* con una diferencia de 4.55mm , esta diferencia se debe al tipo de especie del eucalipto y el extracto.

En las evaluaciones realizadas por Jimenez k. (2010), (La Libertad, Perú) tanto del extracto etanólico como el extracto acuoso de *Eucalyptus Globulus* sobre el crecimiento de la cepa de *Lactobacillus* spp, reporta que trabajaron en diferentes concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, las cuales fueron puestas en contacto con el microorganismo de estudio y así se pudo observar la inhibición de las colonias de la cepa, sus resultados con la prueba de ANOVA y con la prueba de Turkey, el extracto acuoso presentó mayor significancia; mientras que el extracto etanólico no las presenta, los resultados mediante la lectura de placas indican que el extracto etanólico al 100%, 50%, 25%, 12.5, 6.25% y 3.13% de concentración, presenta inhibición en crecimiento de *Lactobacillus* spp, siendo la CMI al 3.13% y la CMB al 6.25% lo mismo que se hizo en el presente trabajo con concentraciones similares de 25%, 50%, 75% y 100% podemos decir que los resultados nos demuestra que tiene efecto inhibitor, sin embargo podemos afirmar que hay diferencias en el efecto según las concentraciones y que el etanol mesclado con el eucalipto potencializa el efecto

Lo manifestado por Alzamora y col (2001), (Lima, Perú) cuyo objetivo fue la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de cinco plantas empleadas en Medicina Tradicional en el Perú: *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Cymbopogon citratus* (hierba luisa); Anís serrano; salvia se enfrentaron a *Salmonella typhi*, *S. typhimurium* , *S.*

enteritidis , *Vibrio cholerae* , *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* , *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* y *Candida albicans* , se empleó discos de antibióticos como controles, los aceites esenciales mostraron efecto variado sobre Gram positivos y Gram negativos ; lo que demuestra que tiene efecto inhibitor contra otras bacterias lo que corrobora con nuestros resultados obtenidos en el presente trabajo. Rodriguez y Col (2016) (Trujillo, Perú) investigó la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp, concluye que el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* tienen actividad inhibitoria con un valor de 9 mm de halo de inhibición siendo nuestro resultado mayor con 12.45 mm a una concentración del 100%, lo que confirma su efecto con una diferencia de 3.45mm a favor de nuestro trabajo.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* presentan un efecto inhibitorio sobre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Cándida albicans*, para ser usado como un colutorio en el control de la caries dental y candidiasis oral.

2.- Existe diferencia significativa en el tratamiento con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en la concentración de 25% entre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Cándida albicans* con un promedio de halo de inhibición de 11.85mm y 9.34 mm en favor de *Streptococcus mutans*, con una $P < 0.0001$.

3.- Existe diferencia significativa en el tratamiento con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en la concentración de 50% entre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Cándida albicans* con un promedio de halo de inhibición de 13.13 mm y 10.41 mm en favor de *Streptococcus mutans*, con una $P < 0.0001$.

4.- Existe diferencia significativa en el tratamiento con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en la concentración de 75% entre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Cándida albicans* con un promedio de halo de inhibición de 14.00mm y 11.39mm en favor de *Streptococcus mutans*, con una $P < 0.0001$.

5.- Existe diferencia significativa en el tratamiento con extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en la concentración de 100% entre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Cándida albicans* con un promedio de halo de inhibición de 15.54mm y 12.45mm en favor de *Streptococcus mutans*, con una $P < 0.0001$.

6. A mayor concentración del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* presenta mejor efecto inhibitorio tanto para la bacteria *Streptococcus mutans* y al hongo *Candida albicans*.

7. La bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans* presentan efecto inhibitorio a todas las concentraciones del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* (25%, 50%, 75% y 100%.) para afirmar el efecto se hizo la comparación con clorhexidina 2% y miconazol que son fármacos de elección para el tratamiento.

VII. RECOMENDACIONES

- 1.-Realizar estudios in vitro con los que se pueda corroborar los resultados obtenidos en esta investigación
- 2.-Realizar investigaciones en animales de experimentación y luego en personas para probar la eficacia, tolerancia y seguridad de su uso en seres humanos
- 3.- Se debería recomendar a los pacientes el uso de productos naturales como el eucalipto ya que resulta efectivo, barato y de fácil acceso con la implementación de colutorios bucales.
- 4.- Realizar estudios de investigación con otros microorganismos específicos tomados de pacientes que acudieran a la clínica estomatológica la UNA Puno y que sean causantes de afecciones medico estomatológicas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.-Mohammed N., In vitro: Antimicrobial activity of leaves extracts of eucalyptus spathulata against streptococcus Mutans and candida albicans. Journal of Al Rafidain University College.2014, 33: 183(193)
- 2.-Damjanovic et al. Antimicrobial effect of essential oil isolated from Eucalyptus globulus Labill. from Montenegro. Czech Journal of Food Sciences, 2011, 29(3), : 277-284.
- 3.-Diaz R, De Oliveira E. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de Eucalyptus globulus L. sobre Candida spp. Rev Odontol UNESP. 2010; 39(3): 179-184Marsh P. Microbiología oral. 5ta edición. Venezuela: editorial AMOLCA; 2011
- 4.-Pranay J.antimicrobial activity and phytochemical analysis of eucalyptus tereticornis bark ana leaf methanolic extrants. Journal of pharmaceutical sciences review and research.2010;Vol 4(2):126-128
- 5.- Bachir R, B. R., & Mohamed, B. (2008). Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis. African journal of Pharmacy and pharmacology, 2(10), 211-215.
- 6.- Rodriguez B. Eficacia antifúngica in vitro de Uncaria tomentosa frente a Eucalyptus globulus sobre Cándida sp. [Tesis] Universidad privada anterior Orrego;2016
- 7.- Jimenez K. Efecto antibacteriano "in vitro" del extracto etanólico y acuoso de Eucalyptus Globulus L.(eucalipto) en diferentes concentraciones sobre cepas de Lactilobacillus spp. [Tesis Doctoral]. Perú: Universidad Privada Anterior Orrego; 2010
- 8.-Humberto L.Evaluacion de la actividad antibacteriana in vitro de los extratos de Caesalpinia Spinosa "tara"y Eucalyptus .Facultad de medicina humana de la universidad de san martin de Porres.Lima.
- 9.- Alzamora, Libertad, et al. Medicina tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. En Anales de la Facultad de Medicina. 2001. p. 156-161.
- 8.-Rodriguez G. Géneros Streptococcus y Enterococcus. Temas de bacteriología y virología médica: 273-290
- 10.-Becerra M. Efecto antibacteriano "in vitro" del extracto etanólico y acuoso de Eucalyptus Globulus L.(eucalipto) en diferentes concentraciones sobre cepas de

- Lactilobacillus spp. [Tesis Doctoral]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2010
11. Fontana, M.; Young, D. A.; Wolff, M. S.; Pitts, N. B. & Longbottom, C. Defining dental caries for 2010 and beyond. Rev. Dent. Clin. North Am. 2010: Vol. 54(3):423-40.
- 12.-Espinoza M, León R., Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. Rev estomatol herediana. 2015; Vol. 25(3): 187-198.
- 13.-Alegría A, Prevalencia de caries del tal en niños de 6-12 años de edad atendidos en la clínica pediátrica de la Universidad Alas peruanas utilizando los criterios ICDAS II. [Tesis]. Peru: Universidad Alas Peruanas; 2010.
- 14.- Henostroza G. Caries dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. Primera Edición. Perú: Editorial Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007.
- 15.- Negroni, M. Microbiología Estomatologica. 2da ed. Buenos Aires: Ed. Medica panamericana; 2009.
- 16.- Polsigua T. Antibioticoterapia en el manejo de las patologías de los tejidos blandos de la cavidad bucal. [Tesis]. Universidad de Guayaquil; 2014.
- 17.- Liébana U. Microbiología oral. 2da ed. España: Editorial Mc Graw Hill; 1995
- 18.- Marsh P. Microbiología oral. 5ta edición. Venezuela: editorial AMOLCA; 2011
- 19.-Tarte R. Sevicultura de especies promisorias para producción de leña en América Central. Costa Rica: CATIE- ROCAP; 1986
- 20.- Eucalyptus globulus Labill .Base de datos de invasores Biologicas para Uruguay. Abril ,2011
- 21.-.Skolmen R, Thomas L.. Eucalyptus globulus Labill. Eucalipto goma azul. US Forest Service, 2000.

ANEXOS

ANEXO 01
FICHA CLÍNICA DE SELECCIÓN

FECHA:

I. FILIACION

Nombre:.....Edad:.....Sexo:....
Teléfono:..... Dirección:.....

II. ANTECEDENTES SISTEMICOS

- 1. Quirurgicos:.....
- 2. Medicamentosos:.....
- 3. Patológicos:.....

III. ENFERMEDAD SISTEMICA ACTUAL:.....

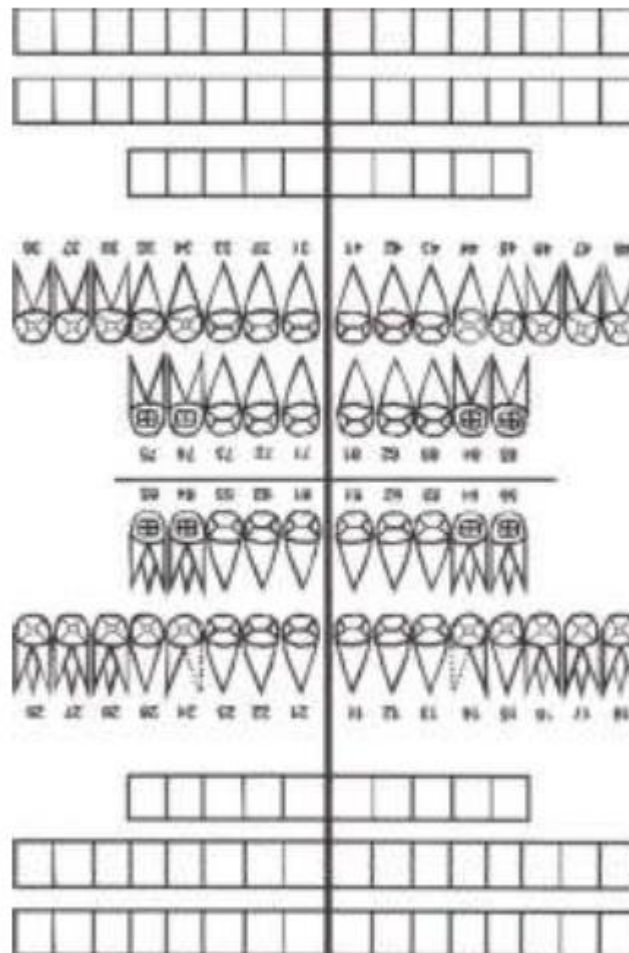
IV. HIGIENE BUCAL

¿Cuántas veces al día cepillas tus dientes? 1 2 3 ninguna

¿Qué utilizas para limpiar tus dientes?

- a) Cepillo dental b) pasta dental c) enjuague bucal d) hilo dental
- e) palillos dentales f) solo agua g) bicarbonato h) ninguno

V. ODONTOGRAMA



ANEXO N° 2

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo identificado
con D.N.I

(otros) N°.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado, así como he sido informado por las estudiantes de la carrera profesional de Odontología acerca del Trabajo de investigación titulado

“EFECTIVIDAD INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL *Eucalyptus globulus* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* Y *Candida albicans*, PUNO 2017” los mismos que serán realizados en el laboratorio de biología, la cual va a consistir en una revisión clínica de la cavidad bucal y obtención de muestra de caries activa y saburra lingual, no poniendo en riesgo la salud, cuyos datos obtenidos serán consignados en la ficha de registro.

Se me ha informado de las ventajas y los beneficios que se va a obtener, realizándome preguntas que considere oportunas, todas las cuales han sido absueltas y con respuestas que considero suficiente y aceptables.

Tomo el compromiso de cumplir con las indicaciones que señale para la toma de muestras.

Por lo tanto en forma consiente y voluntaria doy mi consentimiento para formar parte de este estudio.

Los datos obtenidos serán totalmente confidenciales.

Puno, Perú Fecha:

.....

.....

Firma de la Tesista

Firma del Asesor / Coordinador

.....

Firma del Paciente

ANEXO N°3

SOLICITO: AUTORIZACION PARA
OBTENER MUESTRAS PARA EL
PROYECTO DE INVESTIGACION

SEÑOR DIRECTOR DE ESTUDIOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE
ODONTOLOGIA

Yo, Lizbeth Cahuana Pineda con código
102651, domiciliada en Jr. Carlos Dreyer N|
162. Yo Tania Condori Cueva con código
083593 , domiciliada en Jr. San Martin de
Porres N° 228. Nos presentamos ante usted
y exponemos.

Que al haber sido aceptado nuestro proyecto de investigación que titula
“EFECTIVIDAD INHIBITORIA DEL EXTRACTO ETANOLICO *IN VITRO* DEL
Eucalyptus globulus SOBRE LOS MICROORGANISMOS DE *Streptococcus mutans* y
Candida albicans, PUNO -2017”, solicitamos la debida autorización para que
realicemos la obtención de muestras de caries activa y saburra lingual.

POR LO EXPUESTO:

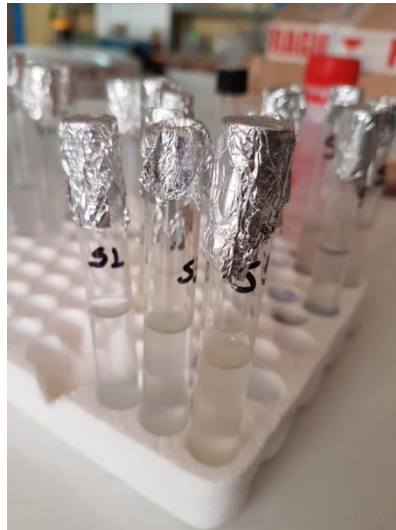
Consciente de su compromiso con la educación, seguros estamos de poder contar con su
receptividad para fortalecer los procesos de formación de los futuros profesionales de la
escuela profesional que usted dignamente dirige.

Atentamente:

Lizbeth Cahuana Pineda
cód. 083593

Tania Condori Cueva
cod. 102651

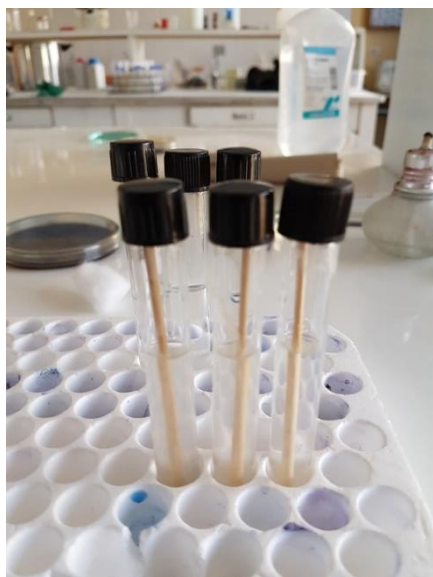
ANEXO N°4



MUESTRAS DE STREPTOCOCCUS



PRUEBAS BIOQUIMICAS



MCFARLAND



ESTERILIZACION DE PLACAS EN EL AUTOCLAVE

ANEXO N° 5

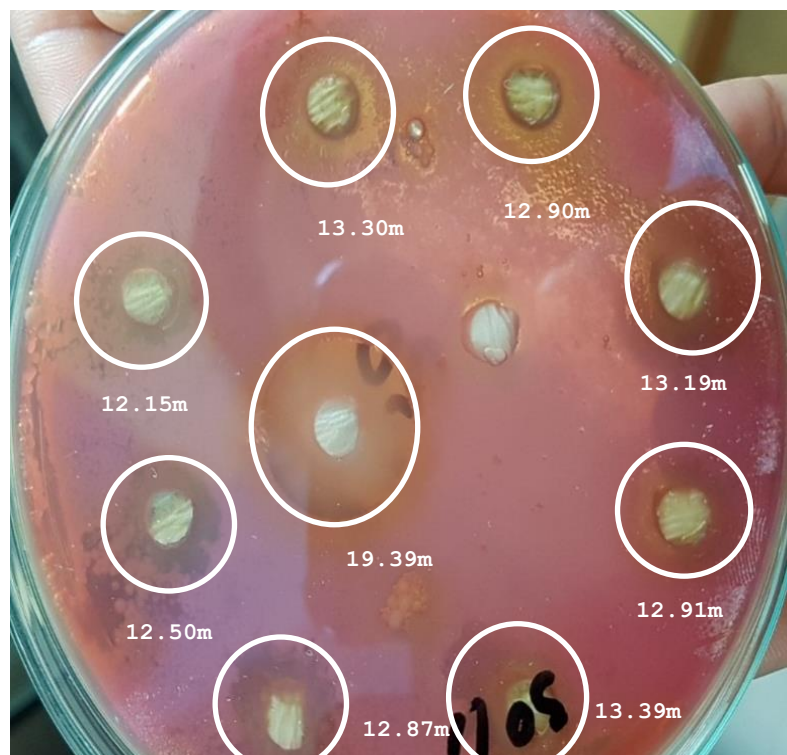
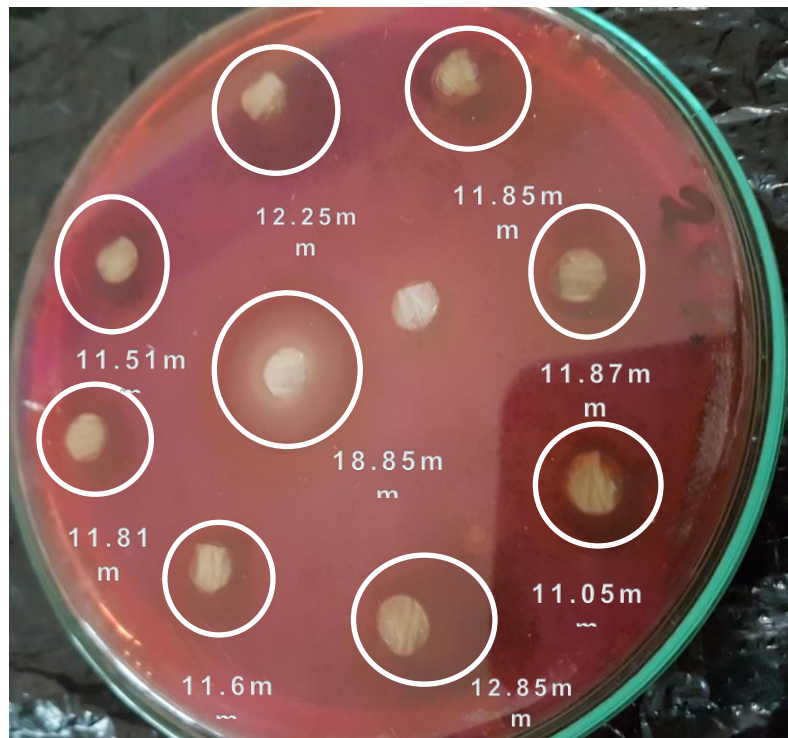
Extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en las a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%.

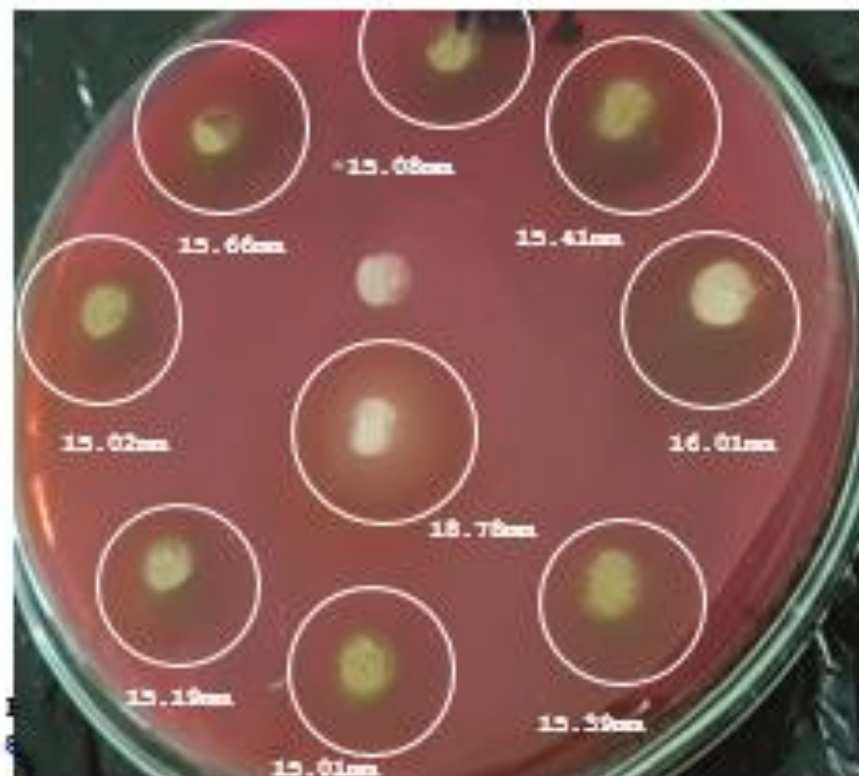
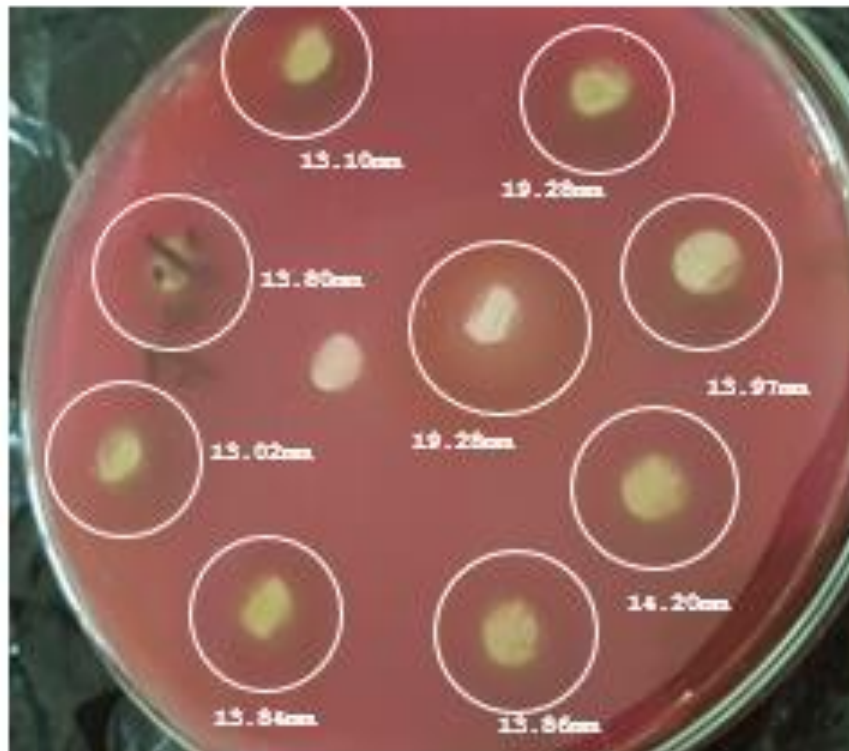
Concentración	Alcohol etanólico	Extracto de <i>Eucalyptus globulus</i>
100%	0 ml	100 ml
75%	25 ml	75 ml
50%	50 ml	50 ml
25%	75 ml	25 ml



ANEXO N° 6

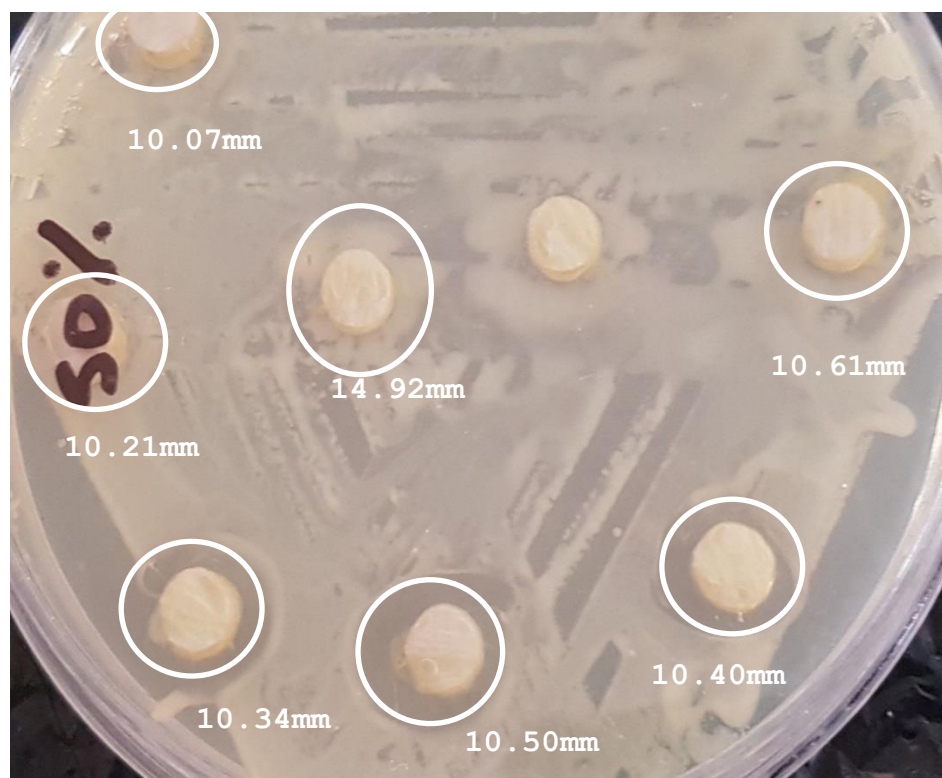
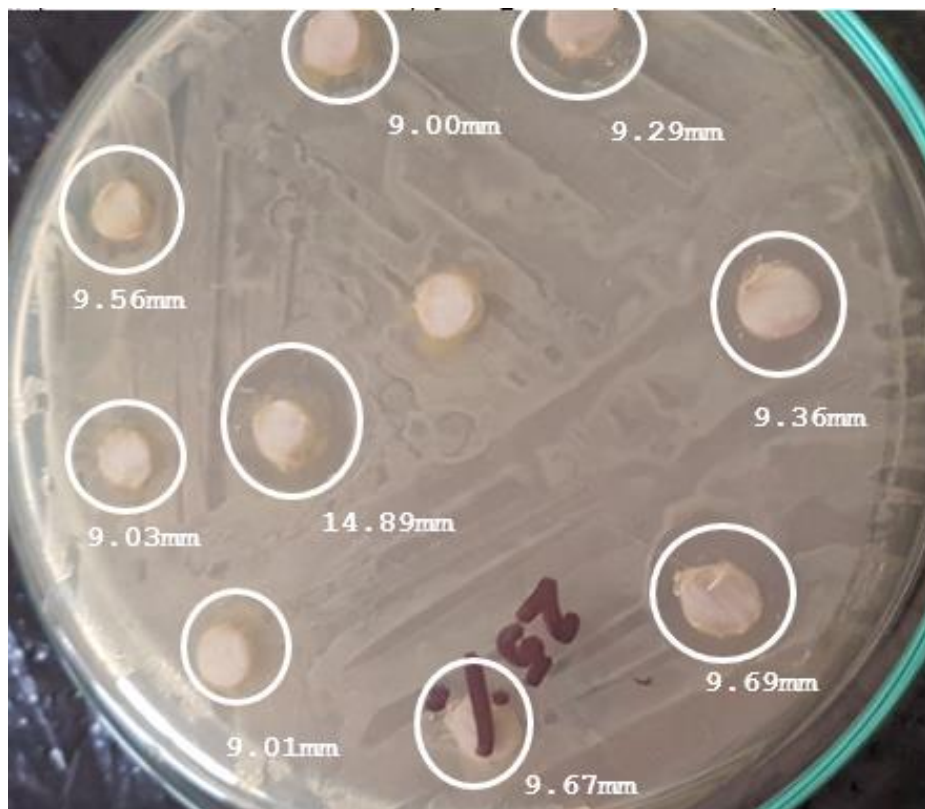
Halos de inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans* a las concentraciones y control positivo (Clorhexidina 0.12%) y negativo (agua destilada).

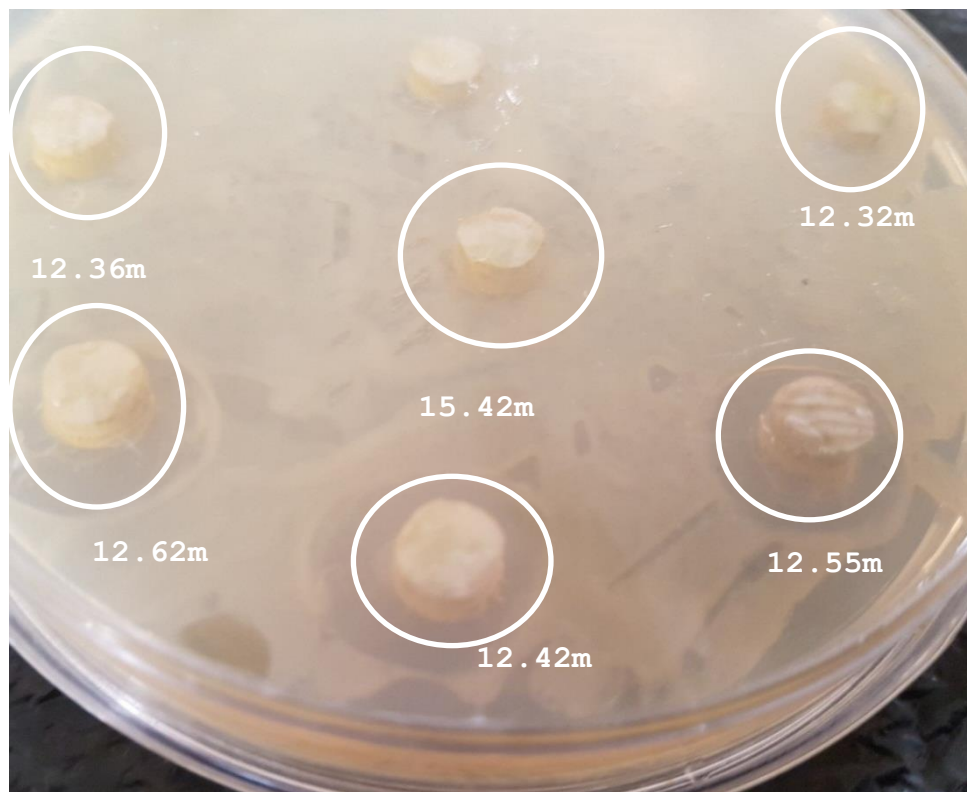
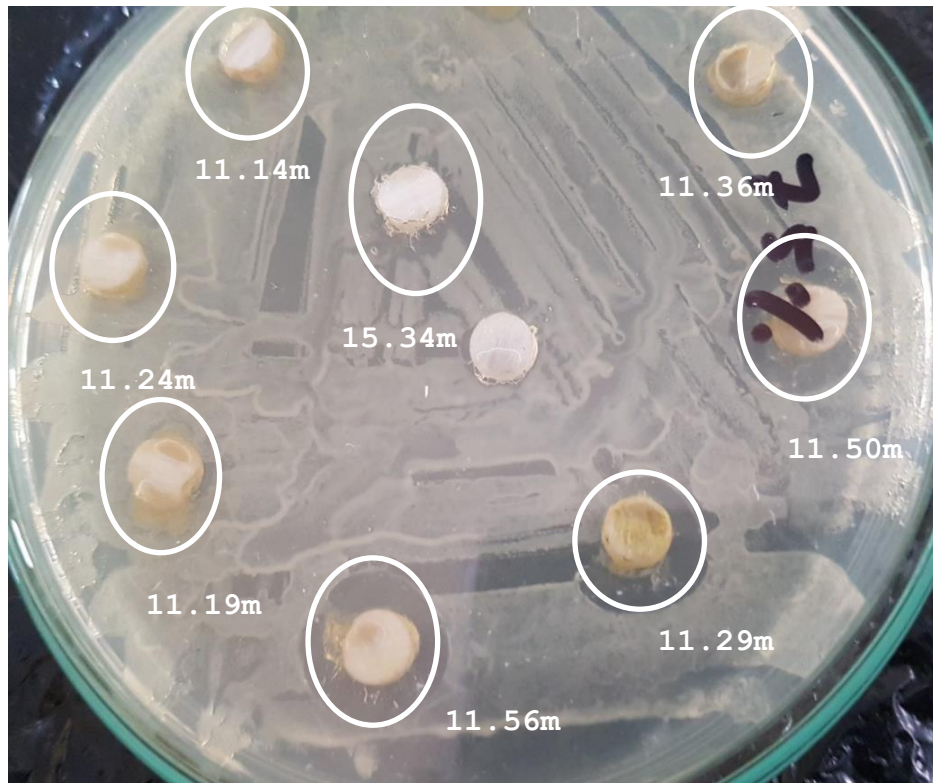




ANEXO N° 7

Halos de inhibición de crecimiento de *Candida albicans* a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%. de *Eucalyptus globulus* y control positivo (Clorhexidina 0.12%) y negativo (agua destilada).





ANEXO N° 8

MATRIZ DE DATOS

tratamiento	Halos de inhibicion de Streptococcus Mutans																			
	25%					50%					75%					100%				
	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa
1	10.72	11.22	12.03	11.99	11.57	12.28	13.92	12.98	13.62	12.98	13.56	13.71	13.57	14.29	14.19	15.89	14.82	16.51	15.82	15.35
2	11.35	11.56	11.54	10.68	11.96	12.58	12.87	13.47	13.09	12.85	13.46	13.95	12.69	13.65	13.65	14.18	15.31	15.72	14.91	14.06
3	11.93	12.01	12.06	11.07	11.45	13.13	13.85	13.97	12.58	12.42	13.92	13.33	13.68	12.89	13.95	15.86	14.75	15.13	14.73	15.54
4	10.75	11.66	11.54	10.59	12.13	12.24	13.26	13.51	13.16	12.53	12.94	13.18	13.58	13.72	14.02	14.92	15.92	14.75	14.08	14.72
5	10.69	11.32	11.65	10.06	11.05	12.36	12.76	13.06	12.99	13.65	13.82	13.34	13.29	13.62	13.47	14.81	14.09	16.03	15.19	15.51
6	11.59	11.48	12.94	10.58	11.26	12.69	13.96	12.74	12.78	12.53	13.95	13.59	12.92	13.99	13.55	15.44	14.81	15.74	15.42	15.75
7	10.39	11.43	12.55	11.96	12.44	12.87	12.36	12.48	13.83	12.89	13.79	14.19	13.53	13.25	13.43	15.08	15.96	15.07	14.92	14.61
8	11.68	11.87	11.58	10.58	12.11	12.96	13.65	12.99	12.48	13.52	12.59	13.58	13.04	13.26	14.29	14.57	14.8	14.62	14.8	15.73
grupo control (+)	19.01	19.5	18.87	19.52	19.46	19.3	19.51	19.45	19.23	19.02	18.98	19.02	19.36	18.62	18.25	19.35	19.12	19.36	19.24	18.63
grupo control (-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

tratamiento	Halos de inhibicion de Candida Albicans																			
	25%					50%					75%					100%				
	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa	1placa	2placa	3placa	4placa	5placa
1	9.13	9.65	9.85	9.52	9.26	10.39	10.54	10.53	10.71	10.42	11.03	11.54	11.35	11.64	11.31	12.45	12.53	12.42	12.65	12.47
2	8.92	9.62	9.72	9.43	8.93	10.25	10.45	10.32	10.64	10.35	11.42	11.61	11.24	11.59	11.46	12.52	12.65	12.36	12.77	12.54
3	9.01	9.43	9.66	9.46	8.08	10.14	10.56	10.55	10.72	10.46	11.36	11.43	11.41	11.64	11.34	12.4	12.59	12.46	12.5	12.49
4	9.28	9.51	9.71	9.48	9.03	10.63	10.48	10.34	10.52	10.33	11.55	11.54	11.36	11.51	11.23	12.52	12.64	12.41	12.64	12.35
5	9.12	9.62	9.85	9.54	9.14	10.25	10.68	10.43	10.61	10.21	11.44	11.61	11.29	11.65	11.48	12.36	12.4	12.33	12.79	12.46
6	9.02	9.72	9.69	9.43	9.32	10.39	10.52	10.51	10.53	10.48	11.52	11.46	11.11	11.67	11.49	12.47	12.65	12.46	12.62	12.34
7	8.96	9.66	9.73	9.68	9.18	10.28	10.64	10.42	10.07	10.34	11.04	11.53	11.26	11.53	11.34	12.55	12.63	12.03	12.51	12.49
8	8.82	9.75	9.64	9.54	9.03	10.14	10.53	10.03	10.36	10.46	11.35	11.47	11.31	11.65	11.34	12.36	12.61	12.74	12.73	12.35
grupo control (+)	15.36	15.89	15.64	15.23	15.12	15.36	15.48	15.02	15.13	15.56	15.63	14.23	14.26	15.46	15.26	14.36	14.59	14.96	14.98	14.84
grupo control (-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ANEXO N° 9



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA
LABORATORIOS

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA-PUNO

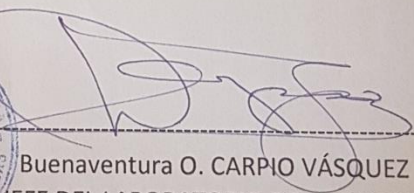
HACE CONSTAR:

Que las Bachilleres LIZBETH VANESSA CAHUANA PINEDA Y
TANIA VANEZA CONDORI CUEVA, egresadas de la Escuela Profesional de
Odontología de la Universidad Nacional Del Altiplano, han realizado su trabajo de
Investigación titulada “EFECTIVIDAD INHIBITORIA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
ETANOLICO DEL *Eucalyptus globulus* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans*, y
Candida albicans PUNO-2017”. Realizado en los meses de enero a febrero del 2017.

Se emite la presente constancia a solicitud de la interesada para los
fines que se estime por conveniente

Puno, 19 de Abril del 2017.




Buenaventura O. CARPIO VÁSQUEZ
JEFE DEL LABORATORIO DE ZOOLOGÍA