

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



**“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA INFUSIÓN Y ACEITE
ESENCIAL DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) SOBRE LAS CEPAS
DE *Streptococcus mutans* PUNO - 2017”**

TESIS

PRESENTADA POR:

DELIA CANO ARAUJO

BONET ANTONELA QUISPE EDUARDO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

PUNO – PERÚ

2017

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

“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA INFUSIÓN Y ACEITE ESENCIAL
DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) SOBRE LAS CEPAS DE *Streptococcus*
mutans PUNO - 2017”

TESIS PRESENTADA POR:
DELIA CANO ARAUJO
BONET ANTONELA QUISPE EDUARDO

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:
CIRUJANO DENTISTA

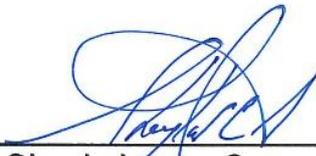


APROBADA POR EL JURADO SUPERVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:


Dr. Jorge Luis Mercado Portal

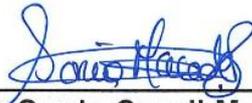
PRIMER MIEMBRO:


M. Sc. Sheyla Lenina Cervantes Alagon

SEGUNDO MIEMBRO:


M. Sc. Kandy Faviola Tuero Chirinos

DIRECTOR / ASESOR:


Mg. Sonia Caroll Macedo Valdivia

Área : Ciencias de la Salud
Tema : Medicina y patología estomatológica

FECHA DE SUSTENTACION: 04-12-2017

DEDICATORIA

A Dios por darnos la vida, por darnos la fortaleza, por su infinito amor, por brindarnos la oportunidad de aprender cada día un poco más.

A nuestros padres quienes, con su constante cariño, apoyo y sacrificio, nos ayudaron e a lograr nuestras metas, por motivarnos a seguir creciendo.

A los docentes que nos apoyaron en el transcurso de nuestra carrera profesional.

A nuestros hermanos, por sus consejos, su constante estímulo, compañía y apoyo moral.

A todas aquellas personas que conocimos a lo largo de este camino y hoy forman parte de nuestras vidas, gracias por la paciencia y ayuda brindada.

AGRADECIMIENTO

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano – Puno por darnos la oportunidad de realizarnos profesionalmente.

A la escuela profesional de Odontología, por habernos brindado los conocimientos teórico-práctico para realizarnos profesionalmente.

A nuestra asesora la Mg. Sonia Caroll Macedo Valdivia, por sus constantes orientaciones, apoyo moral y culminación de la presente investigación.

Y muy especialmente a nuestros padres y hermanos por su aliento y motivación en la ejecución y culminación de la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	ix
RESUMEN.....	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN.....	12
1.2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION	14
1.3. FORMULACION DEL PROBLEMA.....	19
1.4. IMPORTANCIA Y UTILIDAD DEL ESTUDIO.....	19
1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	19
II. REVISION DE LITERATURA	21
2.1.1. CARIES DENTAL	21
2.1.1.1. FACTORES ETIOLÓGICOS	21
2.1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL	22
2.1.2. STREPTOCOCOS MUTANS	23
2.1.2.1. ADQUISICIÓN <i>STREPTOCOCOS MUTANS</i>	23
2.1.2.2. FACTORES DE VIRULENCIA	24
2.1.3. TARA (<i>Caesalpinia spinosa</i>).....	24
2.1.3.1. Descripción botánica de la <i>Caesalpinia spinosa</i>	24
2.1.3.2. Distribución geográfica de la <i>Caesalpinia spinosa</i>	25
2.1.3.3. Ubicación Taxonómica	25
2.1.3.4. Composición química de la Tara	25
2.1.3.5. Actividad Terapéutica	26
2.2. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACION	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION.....	28
3.2. POBLACION Y MUESTRA	28
3.2.1. POBLACION	28
3.2.2. MUESTRA	28
3.2.2.1 Criterios de selección de muestra:	29
3.3. TECNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS.....	31

3.4.1.	MATERIALES DE LABORATORIO	31
3.4.4.	PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO	33
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	37
4.1	RESULTADOS	37
4.2.	DISCUSIÓN	50
V.	CONCLUSIONES	53
VI.	RECOMENDACIONES	54
	ANEXOS	58

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1.- Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 50% frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	38
FIGURA N° 2.- Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 75% frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	40
FIGURA N° 3.-Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 100% frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	42
FIGURA N° 4.-Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 100% frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	45
FIGURA N° 5.- Comparación del halo de inhibición a las 24 y 48 horas con el tratamiento con infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), AL 50, 75 y 100%, aceite esencial <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y control negativo (Agua destilada) frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	47
FIGURA N° 6.- Comparación de contraste con la prueba estadística de Tukey del halo de inhibición a las 24 y 48 horas con el tratamiento con infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), AL 50, 75 y 100%, aceite esencial <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) y control positivo (Clorhexidina al 0.12%) frente a las cepas de <i>Streptococos mutans</i>	49

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1.- Efecto inhibitorio de la infusión al 50% de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.	37
TABLA N° 2.-Efecto inhibitorio de la infusión al 75% de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.	39
TABLA N° 3.-Efecto inhibitorio de la infusión al 100% de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.	41
TABLA N° 4.- Efecto inhibitorio de la infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) entre las concentraciones de 50, 75 y 100% sobre la cepa de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.....	43
TABLA N ^a 5.- Efecto inhibitorio del aceite esencial al 100% de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.....	44
TABLA N° 6.- Comparación del efecto inhibitorio de infusión y aceite de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), el control positivo y control negativo sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i> en 24 y 48 horas.....	46
TABLA N° 7.- Sensibilidad de las Cepas de <i>Streptococos mutans</i> ante la infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara), control positivo y control negativo en 24 y 48 horas.....	48

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- APD:** Agar de patata y dextrosa
- CG:** Cromatografía de Gas
- CMB:** Concentración mínima bacteriana
- CMI:** Concentración mínima inhibitoria
- CPD:** Caldo de patata y dextrosa
- DE:** Desviación estándar
- DMS:** Diferencia mínima significativa
- EM:** Espectrometria de Masas
- g:** Gramo
- GE:** Grupo experimental
- kg:** Kilogramo
- LI:** Límite inferior
- LS:** Límite superior
- m³:** Metro cúbico
- ml:** Mililitro
- NCCLS:** National Comite for Clinical Laboratory Standards
- O.M.S.:** Organización Mundial de la Salud.
- PEG 200:** Polietilenglicol 200
- RNA:** Ácido ribonucleico
- rpm:** Revoluciones por minuto
- T:** Prueba de T
- Trolox:** (6-hydroxy-2, 5, 7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid). Se utiliza en aplicaciones biológicas o bioquímicas para reducir el estrés oxidativo o daño.
- TMS:** Tiempo medio de supervivencia
- v/p:** volumen peso
- UFC:** Unidades formadoras de colonias
- µg:** Micro gramo
- µl:** Micro litro

RESUMEN

OBJETIVO: Fue determinar el efecto inhibitorio in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, Puno - 2017.

MATERIALES Y MÉTODOS: La muestra estuvo conformada por 7 cultivos por cada placa Petri haciendo un total de 28 mediciones por cada aplicación. El grupo experimental estuvo conformado por la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) a concentraciones de 50, 75 y 100% y aceite esencial, la Clorhexidina al 0.12% como control positivo y agua destilada para control negativo. Se empleó la técnica de cultivo propuesta por el Instituto Nacional de Salud, la detección del efecto inhibitorio fue a través de la prueba de difusión de pocillos con disco de papel filtro por el método de Kirby Bauer. El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba t de Student, el análisis de varianza, diagramas de barras, y la prueba de significancia de Tukey. **RESULTADOS:** La infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en sus concentraciones de 50, 75 y 100% con un promedio de 14.20mm, 16.57mm y 17.11mm a las 24 horas y un promedio de 12.30 mm, 13.39 mm y 14.63 mm a las 48 horas respectivamente. El aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* tiene un efecto inhibitorio mayor con respecto a la infusión con un promedio de 18.09mm a las 24 horas y con 15.04mm a las 48 horas. **CONCLUSIONES:** La infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) in vitro tiene un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, y a mayor concentración mayor efectividad. El efecto del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* es mayor en comparación a la infusión. Los grupos experimentales son más efectivos a las 24 horas que a las 48 horas.

Palabras Clave: Efectividad inhibitoria, *Streptococcus mutans*, *Caesalpinia spinosa*, infusión, aceite.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the inhibitory effect in vitro of the infusion and essential oil of *Caesalpinia spinosa* (Tara) on the strains of *Streptococcus mutans*, Puno - 2017.

MATERIALS AND METHODS: The sample consisted of 7 cultures per petri dish making a total of 28 measurements per application. The experimental group consisted of the infusion of *Caesalpinia spinosa* (Tara) at concentrations of 50, 75 and 100% and essential oil, chlorhexidine 0.12% as a positive control and distilled water for negative control. The culture technique proposed by the National Institute of Health was used, the detection of the inhibitory effect was through the test of diffusion of wells with filter paper disc by Kirby Bauer method. The research work was carried out in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences of the National University of the Altiplano. For the statistical analysis we used the Student's t test, the analysis of variance, bar charts, and the Tukey test of significance. **RESULTS:** The infusion of *Caesalpinia spinosa* (Tara) has an inhibitory effect on the strains of *mutans* Streptococcus in its 50%, 75% and 100% concentrations with an average of 14.20mm, 16.57mm and 17.11mm at 24 hours and an Average of 12.30 mm, 13.39 mm and 14.63 mm at 48 hours respectively. The essential oil of *Caesalpinia spinosa* has a greater inhibitory effect with respect to the infusion with an average of 18.09mm at 24 hours and 15.04mm at 48 hours. **CONCLUSIONS:** The infusion of *Caesalpinia spinosa* (Tara) in vitro has an inhibitory effect on the strains of *Streptococcus mutans*, and at a higher concentration, greater effectiveness. The effect of the essential oil of *Caesalpinia spinosa* is greater in comparison to the infusion. The experimental groups are more effective at 24 hours than at 48 hours.

Keywords: Inhibitory effectiveness, *Streptococos mutans*, *Caesalpinia spinosa*, infusion, oil.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

En la actualidad una de las enfermedades que más prevalece en la cavidad oral es la caries dental que es una enfermedad del sistema estomatognático por lo que constituye uno de los mayores problemas de salud pública.¹

La caries dental 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.² Los principales microorganismos de la placa bacteriana implicados en el inicio y desarrollo de la caries son: *Streptococos mutans*, *Lactobacillus sp* y *Actinomyces sp*.²

El *Streptococos 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.²

Existen diferentes métodos para la prevención de la caries dental y la enfermedad periodontal que consiste básicamente en la remoción mecánica de la placa dental, además del uso de agentes antimicrobianos tales como Clorhexidina, importante como coadyuvante en la primera fase de la terapia de las enfermedades bucales; sin embargo, se plantea el desafío de buscar nuevas alternativas en agentes antimicrobianos y una disminución de las reacciones adversas que estos presentan 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.^{1,2}

En este sentido, la medicina tradicional, trata de buscar alternativas de solución a enfermedades bucales, con productos naturales, económicos y prácticos.

Las plantas medicinales desde tiempos antiguos han sido consideradas como el primer recurso terapéutico para tratamientos o manutención de la salud, como medicina casera. Desde entonces estos conocimientos han evolucionado y las plantas han pasado a constituir importantes fuentes de productos naturales biológicamente activos.

En el Perú últimamente se han realizado diversos estudios en diferentes plantas medicinales, comprobándose las propiedades de sus componentes como: antibacterianas, antihemorrágicas, analgésicas, antiinflamatorias, etc.²

Dentro de ellas la *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene una amplia utilización empírica, desde la época incaica es usada por sus propiedades curativas como: antiinflamatorio, antiinfecciones, antimicóticas y antibacterianas lo que constituiría un recurso alternativo.³

Se realizaron estudios anteriores con extracto etanólico y extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) comprobando su efectividad antibacteriana sobre diferentes microorganismos dentro de ellos: *Enterococos fecalis*³, *Streptococcus pyogenes*⁴, *Staphylococcus aureus*⁵, *Porphyromonas gingivalis*⁶ y bacterias en la flora salival mixta⁷. Además, el aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efectividad sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente⁸ y efectividad antifúngica sobre *Candida albicans*.⁹

Es debido que a las últimas investigaciones en este estudio se pretende determinar la efectividad inhibitoria in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre cepas de *Streptococos mutans* en diferentes concentraciones para que pueda ser utilizada como una alternativa para la prevención y disminución de la incidencia de caries dental, ya que esta planta medicinal es de fácil acceso, manejo, bajo costo, y sobre todo no presenta efectos colaterales.³

1.2. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

1.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Haro A. (2015) Quito - Ecuador. Objetivo: Evaluar la capacidad antibacteriana in vitro entre el Extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100 % e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis* mediante halos de inhibición. Se realizó un estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *E. faecalis*. Metodología: Embebieron sensidiscos con 50uL de cada solución y colocándolos en medios de cultivo Mueller Hilton previamente preparados con colonias jóvenes de *E. faecalis* ATCC 29212, incubando las muestras a 37°C de 24 a 72 horas. Resultados: Demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 horas el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%. Adicional a esto, se investigó el efecto de sustentividad de las soluciones en el transcurso de 48 y 72 horas; encontrando que el extracto de Tara 100% posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor.³

1.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Abanto M. (2016) Trujillo – Perú. Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano IN VITRO del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a cepas de *Streptococos mutans*. Metodología: Se realizó la prueba de suceptibilidad, utilizando el método de difusión de discos. Para hallar la concentración mínima inhibitoria se empleó el método de dilución en tubos, ensayando concentraciones de 40, 60 y 80% de *Caesalpinia spinosa*; de cada cultivo se sembró en placas con agar mueller himton/ sangre para determinar las unidades formadoras de colonias. Los resultados mostraron que el mayor halo de inhibición fue de 14.80mm y la mínima concentración inhibitoria fue del 40%. Se concluye que el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) posee actividad antibacteriana in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Streptococos mutans*.¹⁰

Castro A., et al. (2016) Lima – Perú. Objetivo: Determinar la composición química del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara), obtenido por el método de destilación por arrastre con vapor de agua con un rendimiento de 0,125% v/p, así como su capacidad antioxidante y actividad antibacteriana frente a *Streptococos mutans* ATCC 35668.

Metodología: Para la identificación de los constituyentes químicos se emplearon Cromatografía de Gas y Espectrometría de Masas (CG/EM), encontrándose 23 compuestos. La evaluación de la actividad antioxidante se realizó aplicando los métodos de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y del radical ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS⁺), determinándose que el IC₅₀ para los dos métodos fue > 200 µL/mL, utilizando como referente de captación para ambos Trolox[®], que presentó IC₅₀ (3,8 µg/mL). Resultados: La determinación de la actividad antibacteriana se efectuó por el método de difusión en agar, donde el aceite de Tara en concentraciones de 100, 50 y 25%, formó halos de inhibición de 21, 18 y 16 mm, respectivamente, frente a *Streptococos mutans*, siendo el control negativo etanol 96° y el control positivo ciprofloxacino, que presentó un halo de 25 mm. Se concluyó que la composición química del aceite esencial obtenido de *Caesalpinia spinosa* presenta actividad antioxidante, aunque no es significativa en comparación con el compuesto de referencia Trolox[®], mientras que su actividad antibacteriana en las concentraciones utilizadas tuvo resultados significativos.¹¹

Centurión K. (2015) Trujillo – Perú. Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano IN VITRO del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococos mutans* ATCC 35668. La muestra estuvo conformada por 64 observaciones, distribuidas en 4 grupos de 4 placas Petri cada uno, en cada placa se colocó el porcentaje de concentración de estudio, frente a tres controles: control positivo (Clorhexidina al 0.12%), control negativo (Etanol) y un porcentaje de concentración similar (para comparación). Los resultados mostraron que la concentración al 30% del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* mostró el mayor halo de inhibición (34.5 mm) y concentración mínima inhibitoria. La presente investigación concluye que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) posee efecto antibacteriano in vitro sobre el *Streptococos mutans* ATCC 35668.¹²

Terán Y., et. al (2015) Trujillo – Perú. Objetivo: Utilizar aceite esencial, a fin de evaluar su efecto in vitro sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) y a la vez determinar las CMI y CMBs. Metodología: De legumbres secas de tara se obtuvo aceite esencial, el que se extrajo por medio del sistema de hidrodestilación. Fueron evaluadas *S. aureus* ATCC 25923, cepa sensible y la cepa SARM ATCC 43300, el cultivo SARM HRDT347 por medio de la prueba de difusión en agar y excavado en

placa, así como con la de dilución en caldo. Para determinar las CMI's y las CMB's, las diluciones utilizadas de aceite esencial de la Tara fueron 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 y 0.009 % respectivamente. Los resultados Nos permitieron llegar a las siguientes Conclusiones: Existe efecto inhibitorio del aceite esencial Tara sobre la viabilidad de cultivos SARM; las CMI's para *S. aureus* ATCC 43300 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.156% del aceite esencial, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 es 0.039%; las CMB's para *S. aureus* ATCC 4330 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.312% del aceite esencial, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 es 0.156%.¹³

Benites C. (2015), Trujillo - Perú. Objetivo: Comparar el efecto antimicrobiano in vitro de cuatro concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Candida albicans* ATCC 90028. Material y Métodos: Se llevó a cabo un estudio de tipo comparativo, prospectivo, experimental. La población estaba conformada por el conjunto de placas inoculadas con las cepas de *Candida albicans*, aplicándoseles el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) observando su efecto antibacteriano para dichas cepas. Resultados: En el presente trabajo se observó que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tuvo efecto inhibitorio in vitro frente a *Candida albicans*, al utilizar las diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), y este efecto se incrementa en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas en el estudio, dando como CMI el 50%. Con respecto a los halos de inhibición, al medirlos según escala de Durafford, se logró obtener una sensibilidad media (++) en las concentraciones de 75% y 100% y una sensibilidad limite en las concentraciones de 25% y 50%. Conclusiones: En el presente trabajo se demuestra que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efecto inhibitorio in vitro frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 90028, siendo la CMI del 50%.⁹

Zarate M. (2015) Trujillo – Perú. Objetivo: Evaluar el efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*. Se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Tara), sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas del Hospital Regional Docente de Trujillo. Metodología: Investigación de tipo experimental, aplicada, prospectiva, comparativa, transversal. Se investigaron 80 muestras de orina de pacientes con infección de vías urinarias por *Escherichia coli* y 80

muestras de adultos con faringo amigdalitis por *Streptococcus pyogenes*, se aplicó a las cepas aisladas el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*, para observar el efecto antibacteriano in vitro para dichas cepas. Resultados: Se demostró que el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* comparado con amoxicilina presentó una alta sensibilidad, y comparado con Cotrimoxazol presentó el mismo efecto. Y en cepas de *Escherichia coli*, haciendo una comparación con el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* con gentamicina presentó el mismo efecto in vitro, pero menor efecto frente a Ciprofloxacino. Conclusiones: El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* tiene efecto antibacteriano In vitro contra *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*.⁴

Montenegro A. (2014). Lima – Perú. Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana de un extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Metodología: Para el análisis de este estudio se utilizó cepas de *Porphyromonas gingivalis* previamente identificadas por los laboratorios MICROBIOLOGIC, el estudio investigó la actividad antibacteriana, del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara” en cinco concentraciones (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml) sobre la cepa ATCC 33277 *Porphyromonas gingivalis* mediante el test de difusión en Agar. Resultados: Mostraron que el mayor halo de crecimiento es decir de 25 mm lo tuvieron la concentración de 12,5 mg/ml y la concentración de 50 mg/ml, ambos en un 25% de los casos. Por su parte, para el grupo control negativo (Alcohol 96°) se observó que los mayores halos fueron de 7 mm (50 % de los casos) y los menores de 6 mm (50% de los casos) y para el grupo control positivo (Clorhexidina 0.12 %), se observa que el mayor halos de inhibición miden 9 mm (en el 25 % de los casos) y el menor de 8 mm (75 % de los casos) con una media de 8,25 mm. Concluyeron que el extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) posee actividad antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis*, aunque entre las cinco concentraciones no existe diferencia significativa.⁶

Guevara J. (2014) Lima – Perú. Objetivo: Comprobar la actividad antimicrobiana de tres biovariedades de Tara frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a oxacilina. Metodología: Se evaluó 31 cepas de *S. aureus* oxacilina sensibles y 29 resistentes, aislados de muestras clínicas, frente a tres cocimientos de Tara de las zonas de Huamanga, Huarochirí y Tarma. Se preparó el cocimiento de Tara y se impregnó

discos en blanco para utilizarlos como un antibiograma por disco difusión. Principales medidas de resultados: Diámetro de los halos de inhibición. Resultados: Los tres cocimientos presentaron actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*; el cocimiento de Huamanga presentó mayor halo de inhibición frente a cepas sensibles y resistentes. El cocimiento de Huarochirí mostró mayor halo de inhibición en cepas oxacilino resistentes que sensibles; la diferencia fue significativa. El cocimiento de Huarochirí tuvo una actividad menor y fue significativa, frente a los cocimientos de Huamanga y Tarma. Conclusiones: El cocimiento de Huarochirí presentó menor actividad que los de Huamanga y de Tarma.⁸

Huarino M, et al, (2012) Lima - Perú. Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre la flora salival mixta (EACS); Metodología: El análisis se hizo mediante el método de difusión en placa, se usó la flora mixta salival, para enfrentarlas a las soluciones de 6,25, 12,5, 25, 50 y 75 mg/mL del EACS y compararlas con los controles positivo Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. Resultados: Mostraron efecto antibacteriano del EACS sobre flora mixta salival muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración, para la concentración del 6.25% se observa que los mayores diámetros de los halos de inhibición miden 12.32 mm, para la concentración del 12.5% ,13.8 mm, para la concentración del 25% ,14.92 mm; para la concentración del 50%,15.48 mm, para la concentración del 75%,17.32 mm; mientras que para el grupo control positivo clorhexidina 0.12%(CH) se observa que inhibición miden 9.2 mm y para el grupo control negativo Alcohol 70° se observa que los diámetros de los halos de inhibición miden 2.28 mm. Se concluye que se ha evidenciado el efecto antibacteriano sobre la flora mixta salival.⁷

Añanca E. (2009) Tacna – Perú. Objetivo: Determinar la capacidad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de vainas de Tara frente a bacterias patógenas clínicamente conocidas. Metodología: Las vainas previamente molidas (polvo), fueron el material vegetal del que se obtuvo y estandarizaron las diferentes concentraciones del extracto, las cuales fueron impregnadas en disco de antibiogramas, a partir de una extracción acuosa. El material microbiológico estuvo constituido por dos cepas conocidas como: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* obtenidos de pacientes ambulatorios, mediante exudados faríngeos se lograron aislar e identificar experimentalmente. Ambas

cepas frente a las diferentes concentraciones nos permitieron determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) por los métodos de macrodilución determinación del perfil de sensibilidad, por el método de Kirby-Bauer y la determinación de la concentración mínima bactericida CMB. Resultados: Demostraron que el extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta inhibición, sobre ambas cepas de estudio. Conclusiones: Teniendo como base la escala de Duraffourd se determinó que para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, presentó una actividad antimicrobial con sensibilidad media (15 a 19mm), frente al extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) de esta manera se logra validar los usos medicinales (folclóricos) respaldados por las investigaciones científicas realizadas.⁵

1.2.3. ANTECEDENTES LOCALES:

No se encuentra bibliografía.

1.3. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto inhibitorio in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (TARA) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno -2017?

1.4. IMPORTANCIA Y UTILIDAD DEL ESTUDIO

Siendo este un estudio de tipo experimental, brindara una contribución científica y una aplicación práctica, en el sentido de mejorar la salud bucal de la población.

Proporcionará información que sirva de base, ayuda, consulta, o referencia a futuras investigaciones similares.

1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto inhibitorio IN VITRO de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno - 2017.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto inhibitorio de la infusión al 50% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en 24 y 48 horas.

- Determinar el efecto inhibitorio de la infusión al 75% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio de la infusión al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.
- Comparar los resultados obtenidos por medición de halos de inhibición generados por la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en concentraciones de 50%, 75%, 100% sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.
- Determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.
- Comparar los resultados obtenidos por medición de halos de inhibición generados por la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans*.

1.6. CARACTERIZACION DEL AREA DE INVESTIGACION

AMBITO GENERAL

La presente investigación se realizó en el Distrito de Puno, Provincia de Puno, Departamento de Puno. Se encuentra ubicado en la parte sur oriental de Perú en la meseta del Collao. Estratégicamente sus límites son: por el norte con los departamentos de Cusco y Madre de Dios; por el sur con los departamentos de Moquegua y Tacna; por el oeste con los departamentos de Cusco y Arequipa y por el este con la República de Bolivia se encuentra en el altiplano entre los 3812 y 5500 msnm, cuenta con diversos atractivos de carácter natural (Lago Titicaca, lagunas, ríos, ceja de selva, flora, fauna, etc.) ruinas arqueológicas, templos coloniales y variado folclore; cabe mencionar que la capital de Puno, está ubicada a orillas del Lago Titicaca.

AMBITO ESPECÍFICO

Esta investigación se realizó en los laboratorios de la ciudad universitaria de la Universidad Nacional del Altiplano. Ubicado en la Av. Sesquicentenario N° 1150. Laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias donde se hizo el Aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* y laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, donde se realizó el procedimiento, análisis y lectura de resultados.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 MARCO TEORICO

2.1.1. CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad cuyo proceso es dinámico, crónico, infeccioso post-eruptivo, transmisible que se caracteriza por una disolución gradual y la destrucción de los tejidos mineralizados de los dientes.^{14, 15} También es una enfermedad infectocontagiosa, de etiología multifactorial asociada a la interrelación de varios factores, imprescindible para que se inicie la lesión.¹⁷ Dichos factores son: el huésped, las bacterias y la dieta. Posteriormente fue adicionado un nuevo factor, el tiempo, que permitió esclarecer de una forma más precisa la formación de la caries dental.^{16, 17}

Según la OMS ha definido la caries dental como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y que evoluciona hasta la formación de una cavidad y es la tercera calamidad sanitaria, después de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer.¹⁸

2.1.1.1. FACTORES ETIOLÓGICOS

Paul Keyes en 1960, estableció que la etiopatogenia de la caries obedece a la interacción simultánea de tres factores principales: un factor “microorganismo” que en presencia de un factor “sustrato” (ingesta de Carbohidratos), logra afectar a un factor “diente” (también denominado huésped). Dicho investigador, refirió tanto en forma teórica como experimental que la interacción entre estos tres factores constituye, la base fundamental para el desarrollo de la caries dental.¹⁹

a. Huésped: La composición de su superficie y su localización hace que los dientes retengan más o menos placa dentobacteriana.

Los factores que determinan una distinta susceptibilidad ante la cariogénesis son básicamente: la saliva y la morfología del diente.²⁰

b. Tiempo: La placa dentobacteriana es capaz de producir caries debido a su condición acidogénica y acidurica que poseen los microorganismos que la colonizan, de tal forma que los carbohidratos fermentables en la dieta no son suficientes, sino que además éstos

deben actuar durante un tiempo prolongado para mantener un pH ácido constante a nivel de la interface placa - esmalte.²⁰

c. Dieta: El *Streptococos mutans* para poder producir glucano y polisacáridos responsables de la adhesión bacteriana, necesitan de un sustrato que consiste en la ingesta de hidratos de carbono, más específicamente la sacarosa, que es el carbohidrato fermentable con mayor potencial cariogénico. Durante el proceso de la caries, las bacterias orales fermentan los hidratos de carbono y producen ácidos que disuelven el esmalte dentario.²²

d. Bacterias: Se estima que en ella habitan entre 200 y 300 especies.^{28,29} Aquellas capaces de adherirse a la película adquirida (formada por proteínas que precipitaron sobre la superficie del esmalte) y congregarse formando un "biofilm" (comunidad cooperativa) de esta manera evaden los sistemas de defensa del huésped que consisten principalmente en la remoción de bacterias saprófitas y/o patógenas no adheridas por la saliva, siendo estas posteriormente deglutidas. Inicialmente en el biofilm se encuentra una gran cantidad de bacterias Gram positivas con poca capacidad de formar ácidos orgánicos y polisacáridos extracelulares, pero estas posteriormente, debido a las condiciones de anaerobiosis de las capas más profundas son reemplazadas por un predominio de bacterias Gram negativas y es en este momento cuando es denominada a la placa "cariogénica" es decir, capaz de producir caries dental. Las bacterias se adhieren entre sí pero es necesario una colonización primaria a cargo del *Streptococcus mutans*, además se encuentran *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus* y otros.²⁰

2.1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL

Según la OMS la caries dental afecta entre el 60 % y 90 % de la población escolar. El Perú es uno de los países de Latinoamérica más afectados por las enfermedades bucales, como se demuestra al precisar que entre el 90 y 95% de la población peruana (equivalente a 30 millones de habitantes según proyección 2013, sufre de caries dental, además de tener uno de los índices más altos de caries en niños menores de 12 años.²³

En 2009, las enfermedades bucales fueron la segunda causa de consulta externa en los establecimientos de salud del Ministerio de Salud y representaron 8,5% de todas las consultas. Según el reporte oficial ofrecido por Ministerio de Salud del Perú (MINSa) en el 2005. Los resultados mostraron como promedio 90% de prevalencia de caries dental

en la población escolar. La prevalencia en el área urbana fue 90,6% y en el rural 88,7%. El promedio de piezas cariadas, perdidas y obturadas en la dentición temporal y permanente (índice ceo-d/ CPO-D) a nivel nacional fue de 5.84 y el promedio de piezas cariadas, perdidas y obturadas en la dentición permanente para la edad de 12 años (CPO-D-12) a nivel nacional fue 3.67 (IC95%: 3,37-3,97).²⁴

2.1.2. STREPTOCOCOS MUTANS

Microorganismo presente en la cavidad bucal. Son cocos Gram - positivos, no móviles, anaerobios facultativos.²¹ Fue aislado e identificado por Clarke a partir de lesiones cariosas. Lo denominó “mutans” por las formas mutantes en que presenta: cocobacilo (forma ovalada) en un medio ácido y coco (forma redondeada) en un medio alcalino.

Streptococcus mutans produce polisacáridos a partir de la sacarosa por la acción de dos enzimas, la glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF). La GTF es capaz de sintetizar glucano a partir de la glucosa; la FTF, fructano a partir de la fructosa.²⁵

Otra característica del *Streptococos mutans* es su corto efecto post-pH, que puede definirse como el tiempo necesario para recuperar su actividad de crecimiento habitual, tras estar sometido a un bajo pH éste vuelve a la normalidad. Según lo expuesto, no es de extrañar que estas especies bacterianas sean las que consigan alcanzar más rápidamente el pH crítico 5.5 necesario para iniciar el proceso de desmineralización. *Streptococos mutans* forma parte de la microbiota normal de la boca y aparece junto con la erupción de las piezas dentarias, pero se hace patógeno al aumentar su proporción relativa en la boca.¹⁶

2.1.2.1. ADQUISICIÓN *STREPTOCOCOS MUTANS*.

El *Streptococos mutans* se encuentra de forma permanente en la cavidad oral después de la erupción dental, debido a que requiere de tejido duro no descamativo para su colonización. La principal fuente de adquisición y transmisión de *Streptococos mutans* en los niños es la saliva de la madre transmitida cuando hay un contacto salival con la comida que se le dará al bebé, estas evidencias provienen de estudios que demuestran un patrón idéntico de DNA cromosomal en las bacterias de los niños y de las madres.

Se ha demostrado que el tiempo exacto de colonización de esta bacteria es a los 26 meses de edad, periodo que ha sido denominado “ventana de infectividad”. Es importante recordar que el *Streptococos mutans* forma parte de la flora oral microbiana, por lo que se puede encontrar en pacientes con y sin caries.²⁵

2.1.2.2. FACTORES DE VIRULENCIA

Son aquellas condiciones o características específicas que hacen patógeno a este microorganismo. Entre ellas tenemos:

Acidogénesis: Rápidamente se metabolizan los azúcares por la vía glicolítica, así se alcanza el pH crítico de desmineralización de 4.5 – 5.5 el *Streptococos mutans* presenta distintos mecanismos enzimáticos para el transporte de azúcares al interior de la célula. Estos sufren un proceso de fermentación y producción de ácidos, principalmente ácido láctico.

Acidofilia: La acidificación del biofilm, producto de la fermentación de carbohidratos favorece el crecimiento de *Streptococos mutans* y al mismo tiempo inhibe el crecimiento de microorganismos comensales.²⁶

Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.¹⁶

2.1.3. TARA (*Caesalpinia spinosa*)

2.1.3.1. Descripción botánica de la *Caesalpinia spinosa*

La Tara es un árbol siempre verde de 3-5 m. de altura, a veces más, con la copa globosa y ramas cortas, estriadas, puberulentas de jóvenes, con espinas cónicas recurvadas entre los nudos; tronco corto, a menudo ramificado desde la base y dando la apariencia de varios troncos, con la corteza rugosa de color gris.¹²

Sus flores son hermafroditas, zigomorfas; cáliz tubular, púber con segmentos obtusos, de tres mm de longitud, el superior con fibras pectinadas; corola con cinco pétalos libres, amarillos, orbiculares, espatulados o raramente oblongos, estambres, filamentos filosos o glandulares, blancos, anteras rojizas, con dehiscencia longitudinal, pistilo curvado verdoso.⁶

Sus frutos son legumbres rojizas, oblongas, ligeramente comprimidas de seis a once cm de longitud, indehiscentes de color rosado, con el mesocarpio arenoso, esponjoso, y nueve a doce semillas de unos 1 x 0,5 x 0,3 cm, reniformes, de color marrón pardo con la superficie lustrosa dura, y con uno de los dos lados más grande.⁶

2.1.3.2. Distribución geográfica de la *Caesalpinia spinosa*.

El Perú es el país que tiene mayor área de bosques de Tara, con el 80 % de la producción mundial, seguido muy de lejos por Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador y Venezuela. También es cultivada en el norte y este de África, Estados Unidos, Brasil y Argentina.^{6,12}

Hábitat

Eco regiones de la costa y la serranía entre los 0 - 4500 msnm, en bosques secos mayormente a partir de los 1000 msnm, reportada en todos los departamentos del país. Muy usada como cerco vivo, árbol de sombra y árbol ornamental.^{6,12}

2.1.3.3. Ubicación Taxonómica

Nombre científico: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

Taxonomía

Reino: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ROSIDAE

Orden: FABALES

Familia: FABACEAE

Género. *Caesalpinia*

Especie: *spinosa*

Nombre Vulgar: "Tara"^{6,12}

2.1.3.4. Composición química de la Tara

Taninos

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina).^{27,28}

Los taninos son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas), la

astringencia se explica al unirse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva.

Es indudable la importancia que los taninos vegetales han adquirido a través de los años, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrado aplicaciones tan variadas. Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar proteínas; ésta propiedad fue también aplicada en los tejidos vivos, constituyendo la base para su acción terapéutica, empleándolos en medicina, en tratamientos del tracto gastrointestinal y para las excoiaciones y quemaduras de la piel. En este último caso las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. También se prescriben como astringentes. Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal.

Flavonoides

Los flavonoides forman un complejo con las proteínas solubles y extracelulares y el complejo de la pared de la célula bacteriana, impidiendo el desarrollo de las células bacterianas.

Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores.²⁸

Los flavonoides, quedan unidos a muy diversos grupos químicos, por ejemplo, los flavonoides glucosados portan moléculas de azúcares o sus derivados. También pueden encontrarse flavonoides parcialmente polimerizados dando lugar a dímeros, trímeros, o complejos multi enlazados, como los taninos condensados.

2.1.3.5. Actividad Terapéutica

Las acciones farmacológicas de la Tara dependen de los taninos que son un derivado de los flavonoides que están relacionadas con sus propiedades. Las principales son:²⁸

- a. Antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- b. Astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por su capacidad astringente se usa por vía externa como cicatrizante y por vía interna antidiarréicos.
- c. Antisépticos, tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen un efecto antifúngico.
- d. Protectores, los taninos aplicados en forma de pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos.
- e. Antioxidante, son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C).

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas.

Acción vitamina C (factor antiescorbuto), Antihemorrágicos, Antirrítmicos, Protectores de la pared vascular o capilar, Antiinflamatorios, Antirradicales libres, Antihepatóxicos, Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos, diuréticos y antiurémicos, antiespasmódicos.

2.2. HIPOTESIS DE LA INVESTIGACION

H₁: La infusión al 50% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene efecto inhibitorio IN VITRO sobre las cepas de *Streptococos mutans*.

H₂: El aceite esencial al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene efecto inhibitorio IN VITRO sobre las cepas de *Streptococos mutans*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION

TIPO DE INVESTIGACION:

Según la intervención del investigador:

Experimental: Existe intervención del investigador; los datos no revelan la evolución natural de los eventos.

Según la planificación de la toma de datos:

Prospectivo: Los datos fueron recogidos a propósito de la investigación.

Según el número de ocasiones en que se mide la variable:

Longitudinal: Las variables de estudio serán medidas dos ocasiones.

Según el número de variables:

Analítico: Presenta más de dos variables.

DISEÑO DE INVESTIGACION:

Explicativo: Se Investigó los orígenes de problema, estableciendo relaciones de causa - efecto entre las variables independientes y la variable dependiente.

3.2. POBLACION Y MUESTRA

3.2.1. POBLACION

Cepas de *Streptococos mutans* obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano.

3.2.2. MUESTRA

De tipo probabilístico porque todas las muestras tienen la probabilidad de ser incluidas en la investigación.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

$$n=2(Z\alpha/2+Z\beta)^2(DE)^2/d^2$$

Se usó la fórmula para comparar dos o más medias:

n: Tamaño de cada grupo de estudio

α : Probabilidad de cometer error tipo I

β : Probabilidad de cometer error tipo II

Z: Valor estándar de la distribución normal asociada a un tipo de error

DE: Desviación estándar

d: Diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias

Considerando los requerimientos de una confianza del 99% ($\alpha = 0.01$, $Z = 2.57$) y una potencia en la prueba del 80% ($\beta = 0.20$, $Z = 0.84$), para ($DE/d = 0.50$)

$$n=2(2.87+0.84)^2 (0.5)^2$$

$$n= 6.8$$

$$n=7$$

Con estos valores se determinó una muestra de 7 repeticiones en 24 placas Petri, obteniendo un total de 28 aplicaciones para cada grupo de experimentación.^{16,17}

GRUPOS DE ESTUDIO**Diseño de los grupos de experimentación**

Se considerará la concentración del producto, el tiempo de crecimiento y el halo de inhibición en mm.

- Infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50%
- Infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 75%
- Infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%
- Aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100%
- Clorhexidina al 0.12%
- Agua destilada

3.2.2.1 Criterios de selección de muestra:**Criterios de inclusión.**

- Placas con siembra adecuada de *Streptococos mutans*.
- Placas que después del proceso de incubación presentaron halos de inhibición en óptimas condiciones.

Criterios de exclusión.

- Placas que después del proceso de incubación no mostraron halos de inhibición por defectos de técnica de laboratorio.
- Soluciones que presenten alteraciones en su consistencia, color, esterilidad, caducidad y conservación.

OPERACIONALIZACION DE VARIALES

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES				
VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
(variable independiente) Efecto inhibitorio de la infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	Es una leguminosa natural del Perú, que posee propiedades Astringentes, antiséptico, antioxidante, antiinflamatorios, Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos.	Concentración - 50% - 75% - 100%	10 ul por cada disco de papel filtro.	50% (50 gr/125ml) 75% (75 gr/187.5ml) 100% (100 gr/250ml)
(variable independiente) Efecto inhibitorio del aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	Capacidad del aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) Consiste en inhibir el crecimiento de microorganismos que se desarrollan en un medio dado	Concentración - 100%	Concentración del aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> puro	Aceite puro al 100%
(variable dependiente) <i>Streptococos mutans</i>	Es una bacteria que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o biofilm dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental.	-Halos de inhibición. -Tiempo	- Vernier Observación	mm 24hrs 48hrs

3.3. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

TÉCNICA

Observación directa.

INSTRUMENTOS

- Documental: Fichas de recolección de datos.
- Mecánico: Vernier digital y/o regla milimetrada.

3.4.1. MATERIALES DE LABORATORIO

- Autoclave (horno a presión de calor húmedo).
- Microscopio óptico compuesto con objetivo de inmersión y láminas porta y cubre objetos.
- Estufa de Incubadora Microbiológica.
- Jarra Microbiológica de Anaerobios.
- Placas Petri.
- Matraz.
- Pipeta calibrada.
- Tubos de ensayo.
- Mechero Bunsen.
- Safranina, alcohol cetona, lugol
- violeta de genciana.
- Solución peptonada.
- Solución para medio de transporte.
- Medios de cultivo.
- Agua destilada
- Suero fisiológico.
- Cocina eléctrica.
- Jeringas desechables de 5 ml. y tuberculina.
- Hisopos estériles.
- Bandeja porta objetos.
- Regla metálica milimetrada para medir espacios.
- Pinzas porta algodón.
- Algodón y gasa.

3.4.2. ELEMENTOS DE BIOSEGURIDAD

- Equipo de protección personal. (EPP)
- Mandil color blanco.
- Gorra color blanco.
- Guantes quirúrgicos estériles.
- Mascarilla desechable
- Detergente, desinfectantes y jabón carbólico.
- Escobilla para lavado de manos.

3.4.3. INFRAESTRUCTURA

- Laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.
- Laboratorio de suelos de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.4.4. ELEMENTOS AUXILIARES DE REGISTRO

- Cámara fotográfica digital 7,5 mega píxeles y computadora
- Regla milimetrada
- Papel, lápiz y lapiceros.

3.4. PROCEDIMIENTO Y RECOLECCION DE DATOS

3.4.1. OBTENCION DE *Caesalpinia spinosa* (Tara)

Se realizó la compra de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en el departamento de Cuzco – Anta.

3.4.2. OBTENCION DE LA INFUSION DE *Caesalpinia spinosa* (Tara)

Las infusiones se prepararon de forma similar al uso cotidiano (infusiones acuosas). De las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se pesaron 100 gr y se llevaron a 250 ml de agua destilada, se dejó en ebullición durante 5 min en un recipiente tapado para evitar, en lo posible, una pérdida acuosa por evaporación. Posteriormente se filtró y se distribuyó en volúmenes de 50, 75 y 100%. Cada infusión se almaceno en un frasco previamente esterilizados por medio de autoclave, cada frasco fue rotulado para su posterior identificación.³¹

3.4.3. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Caesalpinia spinosa* (Tara)

Para la extracción del aceite esencial se trabajó con 10 Kg de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se retiraron las semillas, utilizando un sistema de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua que es una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla. La fracción de aceite esencial extraída se almacena en un frasco para los análisis posteriores.^{11, 13}

Métodos

Cuando se usa vapor saturado o sobrecalentado, generado fuera del equipo principal, ya sea por una caldera, una olla de presión o un matraz adecuado, esta técnica recibe el nombre de “destilación por arrastre con vapor”, propiamente dicha.³²

También se puede usar el llamado “método directo”, en el que el material está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor. En este caso, se ponen en el mismo recipiente el agua y el material a extraer, se calientan a ebullición y el aceite extraído es arrastrado junto con el vapor de agua hacia un condensador, que enfría la mezcla, la cual es separada posteriormente para obtener el producto deseado. Este método es usado de preferencia cuando el material a extraer es líquido o cuando se utiliza de forma esporádica.^{32, 33}

Una variante de esta última técnica es la llamada “hidrodestilación”, en la que se coloca una trampa al final del refrigerante, la cual va separando el aceite del agua condensada, con lo cual se mejora y se facilita el aislamiento del aceite esencial. También puede montarse como un reflujo, con una trampa de Clevenger para separar aceites más ligeros que el agua.³³

3.4.4. PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

A. Preparación del medio de cultivo

La preparación de los medios de cultivo comprende los siguientes tiempos fundamentales:

1. Pesada de los ingredientes y disolución con calor.
2. Adición de las sustancias de sostén: Agar-nutritivo, gelatina, etc.

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 el siguiente método:

- Método del papel indicador universal de pH
- 4. Repartición en placas Petri.
- 5. Esterilización a 121 °C a 15 libras de presión/pulg por 20 minutos.
- 6. Control de la esterilidad en la estufa a 37°C por 24 horas.
- 7. Almacenamiento de los medios en la nevera hasta el momento de usarlos.

B. Preparación de agar sangre

- Se colocó en Baño María un frasco o balón con 100 ml de Agar nutritivo estéril hasta que licuó completamente.
- Se dejó enfriar hasta 45 - 50°C.
- Se añadió asépticamente sangre (humana) en proporción del 5-8%.
- Se agitó suavemente para mezclar. Repetir en placas Petri.
- Se dejó solidificar.
- El color de este medio es rojo - cereza.
- Se controló la esterilidad y se guardó en nevera.

C. Siembra y aislamiento

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

Se realizó la siembra por Trasplante.

El material contiene una sola especie bacteriana, y se realizó 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 sólido.

Procedimiento

1. Se esterilizó el asa de Kolle por flameado.
2. Se dejó enfriar.
3. Se tomó con la mano izquierda el tubo con la muestra se le dio leve inclinación para evitar, contaminación con microorganismo del medio ambiente, al ser destapado.

Trabajar cerca del mechero

4. Con la mano derecha, se sostuvo el asa y ayudado con el dedo meñique de esta misma mano, se sacó la lámina metálica del tubo con la cepa.
5. Se flameo la boca del tubo, e introdujo el asa sin tocar las paredes y se cargó con cepa. Se retiró el asa.
6. Se flameó de nuevo la boca del tubo, y se tapó con la lámina metálica.
7. Inmediatamente tomar con la mano izquierda el tubo con el medio de cultivo sólido estéril, destapar con cuidado de esterilidad e introducir el asa hasta el fondo, y apoyando la aguja sobre la superficie, hacer una línea o estría sin romper el medio de cultivo.
8. Flamear la boca del tubo y el asa de Kolle.
9. Rotular la Placa, con el nombre y fecha
10. Incubar en la estufa a 37°C por 24 a 48 horas.
11. Transcurrido el tiempo se realiza la observación.

D. Obtención de la bacteria indicadora

El transporte de las cepas, se hizo en un tubo de ensayo cuidadosamente esterilizado contenido de 3 ml. De solución peptonada. Las cepas fueron homogenizadas en cuatro tubos de ensayo contenido de caldo nutritivo, obteniéndose una dilución de 3 ml por cada tubo. Se llevó a la incubadora por 24 horas a 37°C. Transcurrido este tiempo se realizó la siembra en, Agar sangre. El medio de cultivo Agar sangre nos sirvió para determinar la hemólisis de la bacteria e identificar si es alfa o beta para proceder su aislamiento. La identificación de colonias de *Streptococcus mutans*, se realizó en base a la observación de la morfología colonial y la adherencia de la colonia al agar.

A. Preparación del inóculo por el Método de Kirby Bauer

- Inoculación de la suspensión bacteriana

Transcurrido la inoculación de la suspensión bacteriana, después de 10 minutos se procedió a realizar los pocillos en la placa Petri para luego introducir los 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). No deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, para evitar la superposición de las zonas de inhibición de antibiograma. Colocar los discos sin contenido y estéril para aplicar con una pipeta automática la infusión *Caesalpinia Spinosa* (Tara) a concentraciones al 50%, 75% y 100%, aceite esencial, control positivo y negativo

en un volumen de 10 ul, para cada uno de los 7 pocillos por placa, se llevó a incubar la totalidad de las muestras a una temperatura de 37°C por 24 y 48 horas determinadas en medio anaerobio.

B. Métodos realizados para la medición de los halos de inhibición.

Para la medición de los halos de inhibición se tomó en cuenta la totalidad de los 7 pocillos con el tratamiento desarrolladas en la placa Petri, precisión del recuento.

- 1.- Se realizó la medición del diámetro del halo de inhibición en milímetros. Con un vernier digital, para una mejor medición.
- 2.- Sumar el número las medidas del halo de inhibición de los 7 pocillos por placa para sacar los promedios respectivos.

El efecto antibacteriano se consideró en función al diámetro de los halos de inhibición del crecimiento del microorganismo según la escala de Durafford: nula (-) si es inferior o igual a 8 mm; sensibilidad limite (sensible = +) de 9 a 14 mm; media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm y sumamente sensible (S.S. = +++) si es igual o superior a 20 mm.

3.5. DISEÑO Y ANALISIS ESTADISTICO

Para interpretar los resultados una vez obtenidos del presente estudio; en concordancia con los objetivos e hipótesis, se utilizó pruebas estadísticas inferenciales. Se empleó la prueba de TUKEY entre los grupos de estudio, para establecer si hay diferencias significativas entre los tiempos. Se utilizó el Análisis de varianza (ANOVA), esta prueba permite evaluar si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de halo de inhibición y los efectos conjuntos de dos o más variables, un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo, la prueba de t de Student y diagramas de barras.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 RESULTADOS

TABLA N^o 1.- Efecto inhibitorio de la infusión al 50% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE T STUDENT		EFECTO INHIBITORIO DE INFUSION AL 50% DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) SOBRE <i>Streptococos mutans</i>	
TIEMPO	24 horas	48 horas	
PROMEDIO	14.20mm	12.30mm	
D.E	± 0.70	± 0.48	
LI	13.93mm	12.12mm	
LS	14.47mm	12.49mm	
P	≤ 0.0001	≤ 0.0001	

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar el efecto inhibitorio de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50% sobre las cepas de *Streptococos mutans*, se aprecia que el promedio de los halos inhibitorios a las 24 horas fue de 14.20mm y de 12.30mm a las 48 horas, teniendo una diferencia de 1.9mm a favor de los halos inhibitorios a las 24 horas; la Desviación estándar (DE) fue mayor a las 24 horas ± 0.70 que a las 48 horas ± 0.48 . Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios $p \leq 0.0001$, según el Análisis de Varianza; teniendo un efecto mayor según los halos de inhibición a las 24 horas mediante la prueba de Tukey con una probabilidad de $p < 0.05$.

FIGURA N° 1.- Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50% frente a las cepas de *Streptococcus mutans*.

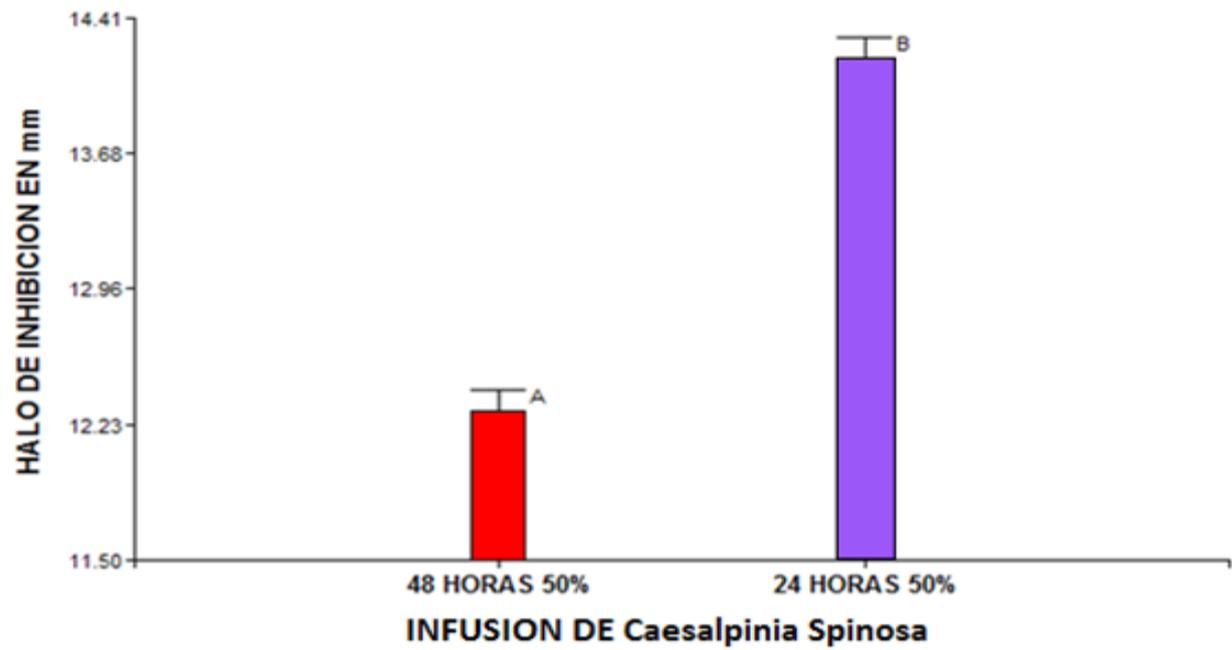


TABLA N^a 2.-Efecto inhibitorio de la infusión al 75% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.

PRUEBA ESTADÍSTICA EFECTO INHIBITORIO DE INFUSION AL 75% DE
DE T STUDENT *Caesalpinia spinosa* (Tara) SOBRE Streptococos mutans

TIEMPO	24 horas	48 horas
PROMEDIO	16.57mm	13.39mm
D.E	± 0.40	± 0.37
LI	16.42mm	13.25mm
LS	16.73mm	13.54mm
P	≤ 0.0001	≤ 0.0001

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar el efecto inhibitorio de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 75% sobre las cepas de *Streptococos mutans*, se aprecia que el promedio de los halos inhibitorios a las 24 horas fue de 16.57mm y de 13.39mm a las 48 horas, teniendo una diferencia de 3.18mm a favor de los halos inhibitorios a las 24 horas; la Desviación estándar (DE) fue mayor a las 24 horas ±0.40 que a las 48 horas ±0.37. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios $p \leq 0.0001$, según el Análisis de Varianza; teniendo un efecto mayor según los halos de inhibición a las 24 horas mediante la prueba de Tukey con una probabilidad de $p < 0.05$.

FIGURA N° 2.- Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 75% frente a las cepas de *Streptococos mutans*.

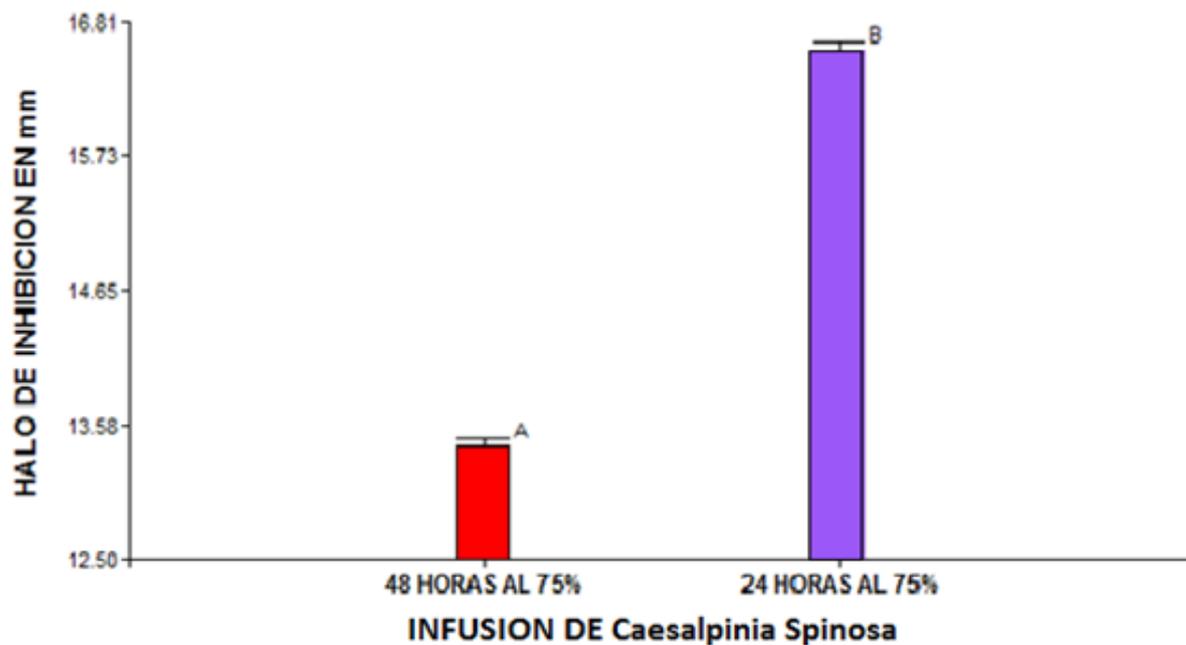


TABLA N^a 3.-Efecto inhibitorio de la infusión al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.

PRUEBA ESTADÍSTICA EFECTO INHIBITORIO DE INFUSION AL 100% DE		
DE T STUDENT <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) SOBRE Streptococos mutans		
TIEMPO	24 horas	48 horas
PROMEDIO	17.11mm	14.63mm
D.E	± 0.44	± 0.62
LI	16.94mm	14.39mm
LS	17.28mm	14.86mm
P	≤ 0.0001	≤ 0.0001

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar el efecto inhibitorio de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% sobre las cepas de *Streptococos mutans*, se aprecia que el promedio de los halos inhibitorios a las 24 horas fue de 17.11mm y de 14.63mm a las 48 horas, teniendo una diferencia de 2.48mm a favor de los halos inhibitorios a las 24 horas; la Desviación estándar (DE) fue mayor a las 48 horas ±0.62 que a las 24 horas ±0.44. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios $p \leq 0.0001$, según el Análisis de Varianza; teniendo un efecto mayor según los halos de inhibición a las 24 horas mediante la prueba de Tukey con una probabilidad de $p < 0.05$.

FIGURA N° 3.-Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% frente a las cepas de *Streptococos mutans*

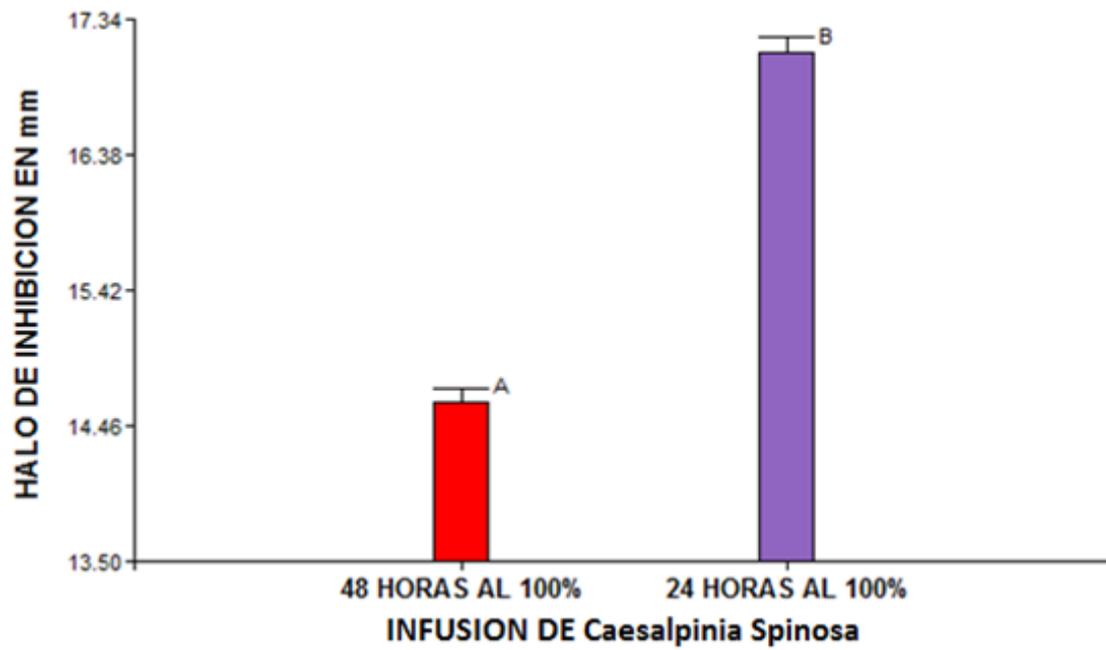


TABLA N^a 4.- Efecto inhibitorio de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) entre las concentraciones de 50, 75 y 100% sobre la cepa de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.

Efecto inhibitorio de la infusion de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) sobre las cepas de <i>Streptococos mutans</i>			
CONCENTRACION	50%	75%	100%
TIEMPO			
24 horas	14.20mm	16.57mm	17.11mm
48 horas	12.30mm	13.39mm	14.63mm

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar los promedios de la actividad inhibitoria de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en las concentraciones de 50, 75 y 100% a las 24 y 48 horas frente a las cepas de *Streptococos mutans* se encontró que el mayor halo de inhibición se da a una concentración del 100% a las 24horas con un promedio de 17.11mm y el menor halo de inhibición se da a una concentración de 50% a las 48horas con un promedio de 12.30mm, resultando que a mayor tiempo disminuye el promedio de halo de inhibición. Sometido los datos a la prueba de Análisis de Varianza resulta un $p \leq 0.0001$.

Para observar mejor la diferencia significativa entre las diferentes concentraciones a las 24 y 48 horas se sometió a la prueba estadística de Tukey de $p < 0.05$, por lo que el mejor comportamiento se da con la aplicación de infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% frente a las cepas de *Streptococos mutans* a las 24 y 48 horas.

TABLA N^o 5.- Efecto inhibitorio del aceite esencial al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas.

PRUEBA ESTADÍSTICA EFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE AL 100% DE DE T STUDENT <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) SOBRE <i>Streptococos mutans</i>		
TIEMPO	24 horas	48 horas
PROMEDIO	18.09mm	15.04mm
D.E	± 0.51	± 0.52
LI	17.89mm	13.44mm
LS	18.29mm	13.85mm
P	≤ 0.0001	≤ 0.0001

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% sobre las cepas de *Streptococos mutans*, se aprecia que el promedio de los halos inhibitorios a las 24 horas fue de 18.09mm y de 15.04mm a las 48 horas, teniendo una diferencia de 4.45mm a favor de los halos inhibitorios a las 24 horas; la Desviación estándar (DE) fue mayor a las 48 horas ±0.52 que a las 24 horas ±0.51. Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de los halos inhibitorios $p \leq 0.0001$, según el Análisis de Varianza; teniendo un efecto mayor según los halos de inhibición a las 24 horas mediante la prueba de Tukey con una probabilidad de $p < 0.05$.

FIGURA N° 4.-Promedio de halo de inhibición a las 24 y 48 horas con aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% frente a las cepas de *Streptococos mutans*.

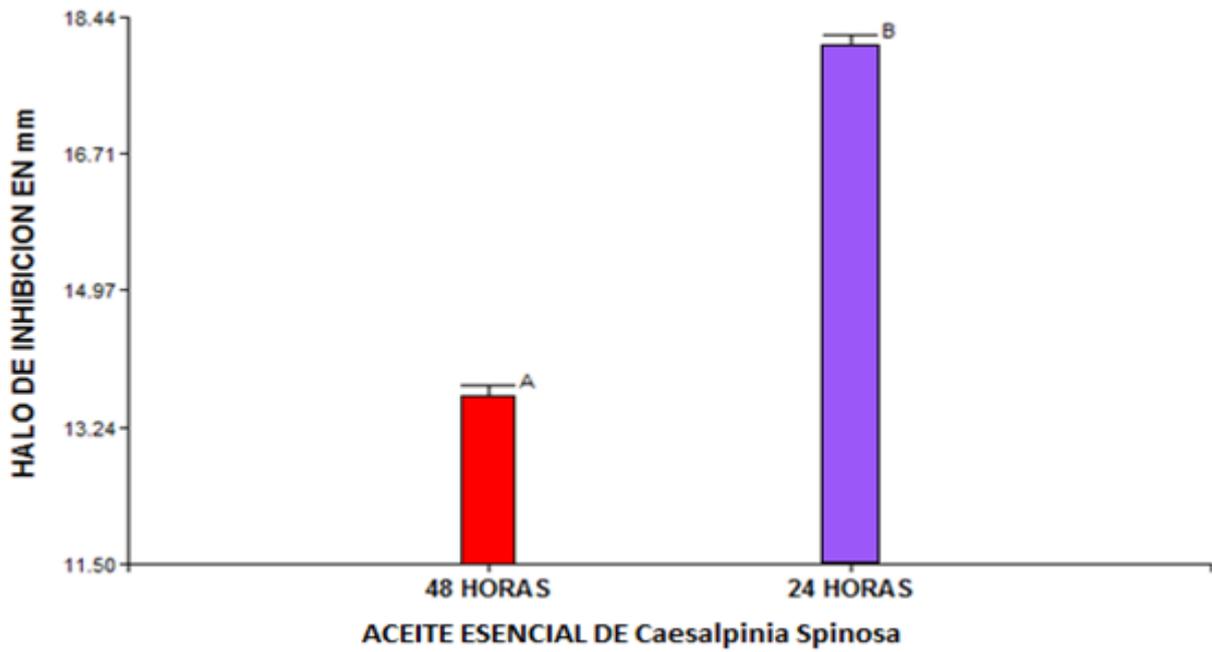


TABLA N^a 6.- Comparación del efecto inhibitorio de infusión y aceite de *Caesalpinia spinosa* (Tara), el control positivo y control negativo sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en 24 y 48 horas.

PROMEDIO DE HALO TIEMPO	INFUSION DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)			ACEITE DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	CONCENTRACIONES 50%	75%	100%	CONCENTRACION 100%	ANTIBIOTICO Clorhexidina al 0.12%	SOLUCION Agua Destilada
24 HORAS	14.20 mm	16.57 mm	17.11 mm	18.09 mm	21.71 mm	0 mm
48 HORAS	12.30 mm	13.39 mm	14.63 mm	15.04 mm	21.71 mm	0 mm

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

La actividad inhibitoria entre los promedios de las aplicaciones de infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara), en concentraciones de 50, 75 y 100%, aceite esencial al 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara), el control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y control negativo (agua destilada) a las 24 y 48 horas frente a la cepas *Streptococcus mutans*, resultando que el mayor halo de inhibición se da con el control positivo con un promedio de 21.71 mm en relación a las demás aplicaciones, seguido por la aplicación con aceite esencial con un promedio de 18.09 mm a las 24 horas, y con infusión al 100% con un promedio de 17.11 mm a las 24 horas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa con un $p \leq 0.0001$. Se observa que a las 24 horas existe un mayor promedio de halo de inhibición en las aplicaciones de *Caesalpinia spinosa*. (Tara).

FIGURA N° 5.- Comparación del halo de inhibición a las 24 y 48 horas con el tratamiento con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara), al 50, 75 y 100%, aceite esencial *Caesalpinia spinosa* (Tara), control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y control negativo (Agua destilada) frente a las cepas de *Streptococos mutans*.

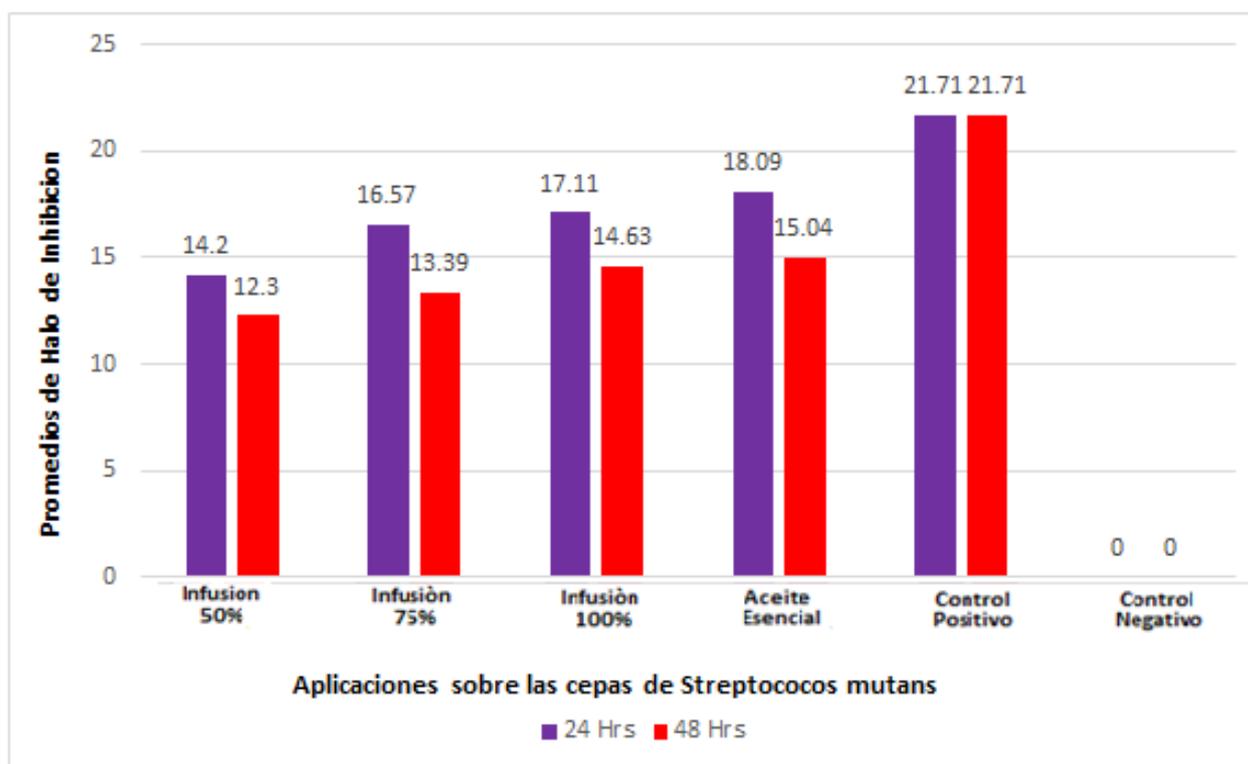


TABLA N^a 7.- Sensibilidad de las Cepas de *Streptococos mutans* ante la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara), aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara), control positivo y control negativo en 24 y 48 horas.

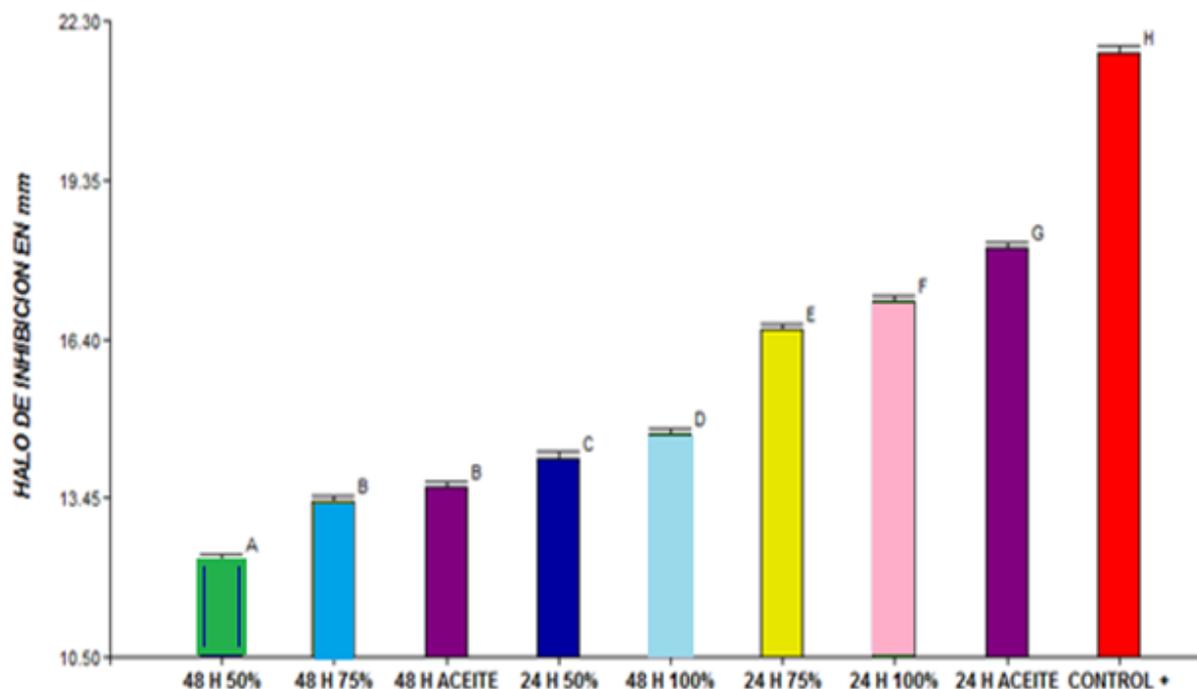
Aplicaciones	Infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 50%	Infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 75%	Infusión de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) al 100%	Aceite esencial de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	Control positivo	Control negativo
Nula (-) inferior o igual a 8 mm						(-) 24 – 48 hrs
Sensibilidad limite (+) de 9 a 14 mm	(+) 24 -48 hrs	(+) 48 hrs				
Sensibilidad media (++) de 15 a 19 mm		(++) 24 hrs	(++) 48hrs	(++) 48 hrs		
Sumamente sensible (+++) igual o sup.a 20 mm.			(+++) ²⁴ hrs	(+++) ²⁴ hrs	(+++) ²⁴⁻⁴⁸ hrs	

Fuente: Base de datos.

INTERPRETACION:

Al comparar la sensibilidad de las Cepas de *Streptococos mutans* ante la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara), control positivo y control negativo en 24 y 48 horas se observa que es sumamente sensible a la infusión al 100%, al aceite esencial al 100% a las 24 horas y al control positivo (Clorhexidina al 0.12%) las 24 y 48 horas, se mantiene en cuanto a sensibilidad; se encontró sensibilidad limite a la infusión al 50% a las 24 y 48 horas y a la infusión al 75% a las 48 horas. Las cepas de *Streptococos mutans* tienen sensibilidad nula al control negativo. A mayor concentración de *Caesalpinia spinosa* (Tara) las cepas de *Streptococos mutans* son más sensibles.

FIGURA N° 6.- Comparación de contraste con la prueba estadística de Tukey del halo de inhibición a las 24 y 48 horas con el tratamiento con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara), al 50, 75 Y 100%, aceite esencial *Caesalpinia spinosa* (Tara) y control positivo (Clorhexidina al 0.12%) frente a las cepas de *Streptococos mutans*.



INTERPRETACION ESTADISTICA

Se hizo la prueba estadística de significancia de Tukey con una probabilidad de $p < 0.05$, confirmando que el mejor comportamiento se da con la aplicación del control positivo en relación a los demás, sin embargo el aceite esencial al 100% se comporta mejor en relación a la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50,75 y 100%, frente a las cepas *Streptococos mutans* a las 24 y 48 horas.

4.2. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación fue experimental, longitudinal, tuvo como propósito determinar el efecto inhibitorio IN VITRO de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*. Utilizando tres concentraciones diferentes 50, 75 y 100% para la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y aceite esencial al 100%. Ambos controlados en dos tiempos 24 y 48 horas, lo que no fue considerado por otros estudios.

En el Perú se realizaron estudios en diferentes plantas medicinales, comprobándose las propiedades de sus componentes². Dentro de ellas la *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene una amplia utilización empírica, existen estudios en el cual la *Caesalpinia spinosa* desde la época incaica es usada por sus propiedades curativas como: antiinflamatorio, antiinfecciones, antimicóticas y antibacterianas lo que constituiría un recurso alternativo.³ Estudios anteriores con extracto etanólico y extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) comprobaron su efectividad inhibitoria sobre diferentes microorganismos dentro de ellos: *Enterococcus fecalis*³, *Streptococcus pyogenes*⁴, *Staphylococcus aureus*⁵, *Porphyromonas gingivalis*⁶ y bacterias en la flora salival mixta⁷. Además, el aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efectividad sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente⁸ y efectividad antifungica sobre *Candida albicans*.⁹

Abanto M. (2016). Determinó el efecto antibacteriano IN VITRO del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a cepas de *Streptococcus mutans*, se empleó el método de difusión en tubos, ensayando concentraciones de 40, 60 y 80% de *Caesalpinia spinosa*; de cada cultivo se sembró en placas con agar Mueller Hinton/ sangre. Los resultados mostraron que el mayor halo de inhibición fue de 14.80 mm a una concentración de 80% y la mínima concentración inhibitoria fue al 40% con un halo de inhibición de 8.10mm. Comparando la anterior investigación con los resultados del presente estudio se puede afirmar que a mayor concentración de *Caesalpinia spinosa* existe mayor efectividad antibacteriana.

En nuestro estudio se utilizó la técnica de cultivo propuesto por el Instituto Nacional de Salud cuyo medio de cultivo es el Agar Mueller Hinton con 5% de sangre, como Abanto M.¹⁰ y Terán et al¹³. Para la obtención de las infusiones se prepararon de forma similar al

uso cotidiano (de las infusiones acuosas). De las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se pesaron 100 gr y se llevaron a 250 ml de agua destilada, se dejó en ebullición durante 5 min. Posteriormente se filtró y se distribuyó en volúmenes de 50, 75 y 100%, para la obtención del aceite se utilizó 10 kg de *Caesalpinia spinosa* (Tara) utilizando hidrodestilación por arrastre con vapor de agua, como Terán Y. Se trabajó en un total de 28 muestras por cada aplicación empleado sobre las cepas de *Streptococos mutans* y para la detección del efecto inhibitor se utilizó la prueba de difusión de discos, se utilizaron discos de papel filtro y se incubaron a las durante 24 y 48 horas.

La investigación es de tipo longitudinal, no encontrándose investigaciones similares. El efecto antibacteriano se consideró en función al diámetro de los halos de inhibición del crecimiento del microorganismo: nula (-) si es inferior o igual a 8 mm; sensibilidad límite (sensible = +) de 9 a 14 mm; media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm y sumamente sensible (S.S. = +++) si es igual o superior a 20 mm, como Huarino M. y Centurion K.

En esta investigación se encontró que la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en concentraciones de 50, 75 y 100% tiene un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans* siendo más efectiva a las 24 horas y habiendo una diferencia significativa a las 48 horas, debido a que la Tara pierde su efecto inhibitorio. Los resultados obtenidos fueron aceptables considerando que se trató de la infusión, en comparación con extractos etanólicos. Ya que a una concentración de 50% se obtuvo un promedio de halo de inhibición de 14.20mm, considerándose un resultado positivo según el método de sensibilidad de Duraffourd C.

Según Álvarez M. y López C. Mostraron que el extracto acuoso puede ser una forma más común y utilizable en la población, mientras el extracto etanólico es una mezcla de sustancias químicas tal vez con una o varios principios activos puede actuar de manera antagónica o sinérgica, además que podría afectar los principios activos y tendría limitaciones para usarlo in vivo.

Castro A., et al. Determinaron que el aceite de *Caesalpinia spinosa* (Tara) posee una actividad antibacteriana sobre los *Streptococos mutans*, lo realizaron por el método de difusión en agar, donde el aceite de tara en concentración de 100%, formó halos de inhibición de 21mm, frente a *Streptococos mutans*, siendo el control negativo etanol 96°

y el control positivo Ciprofloxacino, que presentó un halo de 25 mm. Obteniendo resultados similares a nuestra investigación con un promedio de 18.09 mmm de halo de inhibición a una concentración de 100% a las 24 horas, siendo el tiempo una variable no considerada en los otros estudios.

En forma similar Centurión K. (2015) Demuestra que la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre los *Streptococos mutans* aumenta a medida que se eleva la concentración. Los resultados pueden diferir a factores intrínsecos y externos: variedad vegetal, tipo de suelo, temperatura ambiental, cultivo, método de extracción los cuales pueden afectar la composición química. Se encontró que los taninos son metabolitos que se encuentran en diferentes partes de la planta. Estos son solubles en agua, etanol, acetona; y otorgan resistencia a la planta contra parásitos. Para el hombre es útil por su actividad farmacológica, como: antihemorrágico local, antidiarreico y antibacteriano; ya que, al combinarse con las proteínas de la membrana celular de las bacterias son desnaturalizadas. Los flavonoides son otros principios activos encontrados en el estudio fitoquímico del extracto de *Caesalpinia spinosa*.

La mayoría de estudios realizados hasta el momento sobre plantas medicinales buscan explicar y dar a conocer sus propiedades antibacterianas frente a ciertos microorganismos, dando así diversas alternativas a tratamientos, surgiendo en la actualidad diversos estudios que confirma dichas propiedades. En el ámbito odontológico es muy utilizada las propiedades de diversas plantas medicinales como parte de tratamientos preventivos, obteniéndose en presentaciones como enjuagues.

De esta manera, el estudio por lo antes expuesto lleva a aceptar la hipótesis propuesta al inicio de la investigación, pudiendo afirmar que la infusión y aceite de *Caesalpinia spinosa* (Tara) tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Streptococos mutans*. También en el presente estudio se buscó dar una alternativa accesible, económica y de fácil utilización como es la infusión para el uso preventivo en los pacientes.

V. CONCLUSIONES

1. La infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50% presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a las 24 horas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa.
2. La infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 75% presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a las 24 horas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa.
3. La infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a las 24 horas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa.
4. Al comparar el efecto inhibitorio de la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 50, 75 y 100% sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a las 24 horas a una concentración de 100%.
5. El aceite de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans* en 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a las 24 horas, existiendo una diferencia estadísticamente significativa.
6. Al comparar el efecto antimicrobiano de la infusión al 50, 75, 100% y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% sobre las cepas *Streptococos mutans*, se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Es decir que el aceite esencial es más efectivo que la infusión; sin embargo, la infusión presenta mayor actividad inhibitoria a medida que aumenta la concentración mayor será su efecto inhibitorio. Las cepas de *Streptococos mutans* son sumamente sensibles a la infusión y aceite esencial al 100% a las 24 horas y al control positivo a las 24 y 48 horas.

VI. RECOMENDACIONES

En estudios posteriores se recomienda:

1. Realizar estudios experimentales in vitro con *Caesalpinia spinosa* (Tara) de diferentes localizaciones geográficas.
2. Realizar estudios experimentales in vitro con *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a patógenos de la cavidad bucal para ampliar el espectro de la actividad inhibitoria.
3. Realizar estudios in vivo con infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) para verificar su tolerancia y seguridad.
4. Recomendar a los pacientes el uso de productos naturales como la *Caesalpinia spinosa* (Tara) ya que resulta de fácil acceso, manejo y bajo costo.

VII. REFERENCIAS

1. Vila S, Dho S, Vasek O. Relación de la placa bacteriana, el estado de salud gingival y el pH salival con higiene bucodental. Resumen. 2005 Junio - Noviembre; 11(1).
2. Ponce A, Millones P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. Ciencias de la Salud. 2015; 2(2).
3. Haro A. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5.25% sobre el *Enterococcus faecalis*. [Tesis]. Universidad Central de Ecuador., Trujillo; 2015.
4. Zarate M. Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre cepas de *Streptococcus Pyogenes* y *Escherichia Coli* aisladas de pacientes de Hospital Regional Docente de Trujillo. 2014; 26(1):1-9.
5. Añanca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) En cepas de *Staphylococcus Aureus* y *Streptococcus Pyogenes*. [Tesis]. Tacna: Universidad Jorge Basadre Grogman, Tacna; 2015.
6. Montenegro A. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Porphyromonas gingivalis*. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 2014.
7. Huarino M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) sobre la flora salival mixta. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 2011.
8. Guevara J. Evaluación del conocimiento de diferentes biovariedades de *Cesalpinia Spinosa* (Tara) frente a cepas de *Staphylococcus Aureus* sensibles y resistentes a oxacilina. An. Fac. Med. 2014; 75(2).
9. Benites C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Cesalpinia spinosa* (Tara) sobre cepas de *Candida Albicans* ATCC 90028 [Tesis]. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo; 2015.
10. Abanto Vilca M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175. [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo; 2016.
11. Castro AJ, Ramos NJ, Juarez JR, Ruiz JR. Composición química del aceite esencial de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a *Streptococcus Mutans*. Ciencia e Investigación. 2016; 19(2).

12. Centurion Villar KM. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. [Tesis]. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo; 2015.
13. Teran Rojas YA, et al. Efecto in vitro del aceite esencial de los frutos de *Caesalpinia Spinosa* (molina) Kuntze, Tara sobre la viabilidad de los cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *Pueblo Cont.* 2015 Enero - Junio; 26(1).
14. Veyga N, Pereira C, Adete O. Prevalence and determinans of dental caries in portuguese children. Elsevier. 2014; 171(995-1002).
15. Graciamo M, Correa Y, Martinez MC, Burgos A, Ceballos J, Sanchez I. *Streptococcus mutans* y caries dental en América latina. *RNO.* 2012; 8(14).
16. Castro AV. Inhibición del crecimiento in vitro de *streptococcus mutans* por papaina y sanitren. [Tesis]. Chile: Universidad de Chile; 2005.
17. Sanchez K, Garcia Y, Sandoval M, Aguilera K, Galdàmez J. Actividad cariosa y efectividad antimicrobiana de aloe vera y *syzygium aromaticum* sobre el *Streptococcus mutan*, aislado de la cavidad oral. *Artículos científicos del congreso de investigaciones.* 2015 Febrero; 1(7).
18. Cigales R, Chaviano M, Sanghez S, Robaina R, Garcia M. Comportamiento epidemiológico de urgencia por caries dental. *Rev. Med. Electron.* 2011 Diciembre; 4(1-7).
19. Medina R, Moreno L, Velasco M, Gutierrez S. Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *streptococcus mutans* ATCC 25175 in vitro. *NOVA.* 2015; 3(3): p. 25-30.
20. Vitoria M. promoción de la salud bucodental. [Online]; 2011 [cited 2017 Octubre 10. Available from: [//www.aepap.org/previnfad/Dental.html](http://www.aepap.org/previnfad/Dental.html).
21. Any M, Kaohnteb J, Dayaghi M. Inhibitory activity of garlic (*allium sativum*) extract on multidrugs-resistant *Streptococcus mutans*. *Journals Indian Soc. Pedod. Prevent. Dent.* 2007 December; 2(1): p. 164-168.
22. Henostroza G. Diagnóstico de caries dental. *Ripano SAC.* 2011: p. 182-191.
23. Chumpitaz DR, Ghezy HL. Prevalencia e incidencia de caries a partir de vigilancia epidemiológica realizada a escolares en Chiclayo. *Kiru.* 2013; 10(2): p. 107-115.
24. Epidemiología de la caries dental en América Latina. [Online]; 2014 [cited 2017 Octubre 10. Available from: <http://www.revistaodontopediatria.org/ediciones/2014/2/art-4>.

25. Gutierrez PS. Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la Odontología. Rev. Bogotá Pontificia Universidad Javeriana. 2006; 1(2).
26. Negroni N. Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica. Segunda ed. Buenos Aires: Panamericana; 2009.
27. San Roman I. Actividad Antimicrobiana in vitro del extracto etanolico de *Romarinus officinalis* (Romero). [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 2013.
28. Purca T. Efectividad antibacteriana in vitro del extracto etanolico de los *Rosmarinus officinalis* romero sobre flora salival. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; 2013.
29. Cahuana Pineda V, Condori TV. Efectividad inhibitoria in vitro del extracto etanolico del *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. [Tesis]. Universidad Nacional del Altiplano, Puno; 2017.
30. Humberto L, Lengua V. LA, León M. G. Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y *Eucalyptus*. UNMS Horizontes. 2008 Noviembre; 2(1-2).
31. Santa Cruz A. Estudio sobre el efecto inhibitorio de la infusión de té negro (*camellia sinensis*), sobre el crecimiento de microorganismos cariogenos, (*Streptococos mutans* y *Lactobacillus acidophillus*), in vitro. [Tesis]. Guatemala. Universidad de San Carlos; 200.3
32. Ávila, Z. G. et al. Química Orgánica, Experimentos con un enfoque ecológico, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, UNAM, México; 2001.
33. Cerpa, M. G., Hidrodestilación de Aceites Esenciales: Modelado y Caracterización. [Tesis Doctoral], Universidad Valladolid (UVa); 2007. Difusión: <http://hydrodistiller.110mb.com/presentacion.html>

ANEXOS

Anexo 1

MATRIZ DE DATOS

REPETICIONES	FICHA DE RECOLECCION DE DATOS								
	MEDIDA DE HALO DE INHIBICION EN LA PLACA PETRI								
	INFUSION						Control Positivo	ACEITE	
	100%		75%		50%			100%	
	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS		24 horas	48 horas
1	14.5	17.5	13	16	12.5	14	23	18	13.5
2	14	17.5	13.5	16.5	12	15	21	19	14
3	14.5	17	13.5	16.5	12.5	14	22	19.5	14.5
4	13.5	17	13.5	17	12	14	22	19.5	14.5
5	14	17.5	14	16	12	14.5	21	18	13.5
6	14	17	13.5	16.5	12.5	14	21	18	13.5
7	13.5	17	13.5	16	12	14	22	18	13
8	14.5	17.5	13	16.5	13	14	23	18.5	14
9	15	16	13.5	17	12.5	15	21	19	14
10	14.5	16	13	17	12	14.5	22	18.5	14.5
11	15	16.5	13.5	16.5	12.5	15	22	19	14
12	15	16.5	13.5	16	13	15	21	18.5	13.5
13	14	17	13	16.5	12.5	13.5	21	19	14
14	14.5	17.5	12.5	16.5	12	13.5	22	19	14.5
15	15	17	14	17	12.5	14	23	18	14
16	14	17	13.5	16.5	12.5	15	21	17	13
17	15	17.5	13	16	13	14	22	18	14
18	15.5	17.5	13.5	17	13	15	22	17.5	13.5
19	14.5	17	14	17	13	15.5	21	17	13
20	15	17.5	14	17	12.5	15	21	17.5	13.5
21	14.5	17.5	13	17.5	12	15	22	18	13.5
22	14.5	17	13.5	16.5	11	13	23	17.5	13
23	15	17	13.5	16	12	13.5	21	17	13
24	14.5	17	13	16.5	12	13	22	18	14
25	14.5	17.5	13.5	16.5	12	13.5	22	17.5	13.5
26	16	17.5	13.5	16.5	12.5	13.5	21	17	13
27	16	17	13	16.5	12	13.5	21	18	13
28	15	17.5	13.5	17	11.5	14	22	17	13

Anexo 2

ANALISIS ESTADISTICO

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
48 horas 100%	28	14.63	0.62	14.39	14.86	125.22	<0.0001
24 horas 100%	28	17.11	0.44	16.94	17.28	206.70	<0.0001
48 horas 75%	28	13.39	0.37	13.25	13.54	192.00	<0.0001
24 horas 75%	28	16.57	0.40	16.42	16.73	218.28	<0.0001
48 horas 50%	28	12.30	0.48	12.12	12.49	136.20	<0.0001
24 horas 50%	28	14.20	0.70	13.93	14.47	107.56	<0.0001
24 horas aceite	28	18.09	0.77	17.79	18.39	124.24	<0.0001
48 horas aceite	28	13.64	0.52	13.44	13.85	137.63	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	56	0.95	0.95	2.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	141.45	1	141.45	950.52	<0.0001
TRATAMIENTO	141.45	1	141.45	950.52	<0.0001
Error	8.04	54	0.15		
Total	149.48	55			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.20670

Error: 0.1488 gl: 54

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
48 HORAS AL 75%	13.39	28	0.07 A
24 HORAS AL 75%	16.57	28	0.07 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	56	0.72	0.72	4.52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	50.16	1	50.16	140.06	<0.0001
TRATAMIENTO	50.16	1	50.16	140.06	<0.0001
Error	19.34	54	0.36		
Total	69.50	55			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.32066

Error: 0.3581 gl: 54

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
48 HORAS 50%	12.30	28	0.11 A
24 HORAS 50%	14.20	28	0.11 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	84	0.86	0.85	3.32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	134.40	2	67.20	239.73	<0.0001
CONCENTRACION	134.40	2	67.20	239.73	<0.0001
Error	22.71	81	0.28		
Total	157.10	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.33784

Error: 0.2803 gl: 81

CONCENTRACION	Medias	n	E.E.	
50% 24 HORAS	14.20	28	0.10	A
75% 24 HORAS	16.57	28	0.10	B
100% 24 HORAS	17.11	28	0.10	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	56	0.92	0.92	4.15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	276.79	1	276.79	637.24	<0.0001
TRATAMIENTO	276.79	1	276.79	637.24	<0.0001
Error	23.46	54	0.43		
Total	300.25	55			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.35314

Error: 0.4344 gl: 54

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
48 HORAS	13.64	28	0.12	A
24 HORAS	18.09	28	0.12	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	84	0.79	0.78	3.71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	75.54	2	37.77	151.75	<0.0001
CONCENTRACION	75.54	2	37.77	151.75	<0.0001
Error	20.16	81	0.25		
Total	95.70	83			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.31835

Error: 0.2489 gl: 81

CONCENTRACION	Medias	n	E.E.	
50% 48 HORAS	12.30	28	0.09	A
75% 48 HORAS	13.39	28	0.09	B
100% 48 HORAS	14.63	28	0.09	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
24 HORAS	28	21.71	0.71	21.44	21.99	161.22	<0.0001
48 HORAS	28	21.21	0.71	20.94	21.49	157.51	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	56	0.11	0.10	3.32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.50	1	3.50	6.89	0.0112
CONTROL POSITIVO	3.50	1	3.50	6.89	0.0112
Error	27.43	54	0.51		
Total	30.93	55			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.38188

Error: 0.5079 gl: 54

CONTROL POSITIVO	Medias	n	E.E.
48 HORAS	21.21	28	0.13 A
24 HORAS	21.71	28	0.13 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
48 HORAS AL 100%	28	14.63	0.62	14.39	14.86	125.22	<0.0001
24 HORAS AL 100%	28	17.11	0.44	16.94	17.28	206.70	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	56	0.85	0.84	3.38

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	86.25	1	86.25	300.67	<0.0001
TRATAMIENTO	86.25	1	86.25	300.67	<0.0001
Error	15.49	54	0.29		
Total	101.75	55			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.28699

Error: 0.2869 gl: 54

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
48 H AL 100%	14.63	28	0.10 A
24 H AL 100%	17.11	28	0.10 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo 3



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE HACE CONSTAR:

Que las bachilleres DELIA CANO ARAUJO y BONET ANTONELA QUISPE EDUARDO, egresadas de la escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano, has realizado su trabajo de investigación titulada: EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE LA INFUSION Y ACEITE ESENCIAL DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) SOBRE LAS CEPAS DE *Streptococos mutans* PUNO -2017. Realizado en los meses de agosto a octubre del 2017.

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

Puno, 19 de octubre del 2017.


Balbino Lorgio Palacios Fisancho
BIÓLOGO
C.B.P. N° 2125


Buenaventura O. Carpio Viquez
C.B.P. N° 2063



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



CERTIFICACION DE LA CEPA BACTERIANA

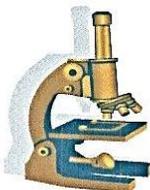
EL QUE SUSCRIBE:

Certifica que la pureza del *Streptococcus mutans*, se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es TRIPTICASA DE SOYA, para ver su actividad hemolítica se realiza la réplica en agar sangre.
2. Para la identificación del *Streptococcus mutans* se tomó en cuenta los criterios fenotípicos:
 - a) Morfología macroscópica (colonias): opacas, convexas e irregulares en su forma y superficie granular.
 - b) Morfología microscópica y características tintoriales: Cocos Gram positivos, se asocian en parejas y cadenas cortas o largas.
 - c) Requerimientos ambientales para el crecimiento: Anaerobios facultativos, aumenta su crecimiento en presencia de CO₂ al 5% y a 37°C.
 - d) Resistencia o sensibilidad a los antimicrobianos: sensibles a penicilinas, cefalosporinas, macrolidos, aminoglucosidos, vancomicina, rifampina, clotrimoxazol, lincosamidas y cloranfenicol.
 - e) Propiedades bioquímicas: Esculina, inulina, manitol, rafinosa y rosbitol positivos. No producen catalasa y fermentan la glucosa con producción de ácido láctico.
3. Para realizar la identificación del *Streptococcus mutans* se toma en cuenta en criterio genotípico según la prueba de PCR. Serotipos: c, e y f.

NOTA: Para la obtención de esta cepa pura se siguió los métodos estándares propuesto por el Instituto Nacional de Salud.


Balbino Lorgio Palacios Frisancho
BIÓLOGO
C.B.P. N° 2125



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA
LABORATORIO DE AGUAS Y SUELOS



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE LABORATORISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DE AGUAS Y SUELOS DE LA UNA – PUNO.

HACE CONSTAR:

Que la Bachiller DELIA CANO ARAUJO y BONET ANTONELA QUISPE EDUARDO, egresadas de la escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional Del Altiplano, ha realizado ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA DE *Caesalpinia Spinosa*, en el equipo de arrastre de vapor de agua, para su tesis titulada “EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL E INFUSION DE *Caesalpinia Spinosa* (Tara) SOBRE LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans*, PUNO-2017”. Realizado el 14 de Agosto del 2017.

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

Puno, 17 de Agosto del 2017.



ANALISTA EN LABORATORIO DE CALIDAD DE AGUAS
Y SUELOS, SUCROALIMENTOS, ALIMENTOS Y FERTILIZANTES

Anexo 4 GALERIA DE FOTOS



Vainas de *Caesalpinia spinosa*
(Tara)



Pesado de la Tara para la infusión



Ebullición durante 5" de la infusión



Extracción del aceite esencial por
arrastre de vapor



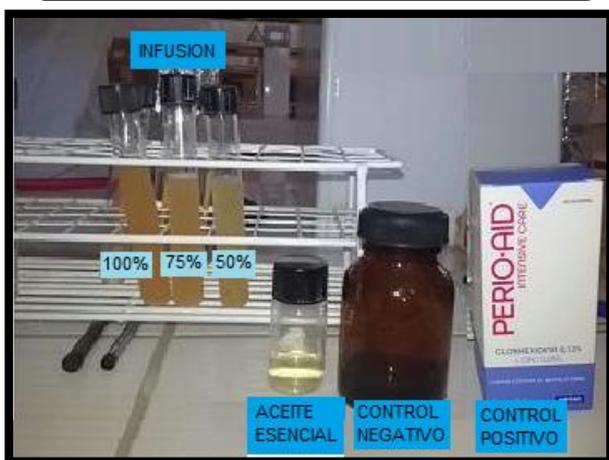
Extracción del aceite esencial



Vainas de *Caesalpinia spinosa*
Después del proceso



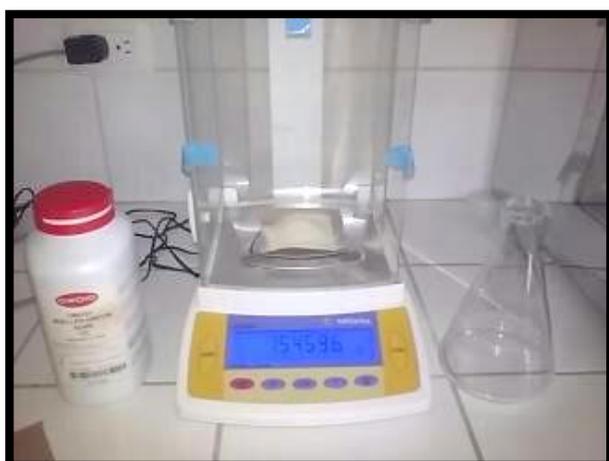
Almacenamiento del aceite esencial.



Infusión, aceite esencial, control positivo y negativo



Obtención de las Cepas de *Streptococcus mutans*



Balanza para pesar insumos



Pesado de Agar Nutritivo



Preparación del Agar Nutritivo con agua destilada



Disolución del Agar en la estufa.



Se añadió 5% de sangre humana y se dejó solidificar



Dejar enfriar hasta 45 – 50°C



Inoculación de bacteria suspendida.



Se sembró colocando microorganismos en medio de cultivo adecuado.



Realizando pocillos en placas Petri.



Placas Petri con pocillos



Colocación de discos uniformemente para cada grupo



Aplicación de soluciones con pipeta automática



Placas Petri con las con las aplicaciones.



Agrupación de las placas Petri y rotulado.



Incubación de las placas Petri a una temperatura de 37°C por 24 y 48 horas.



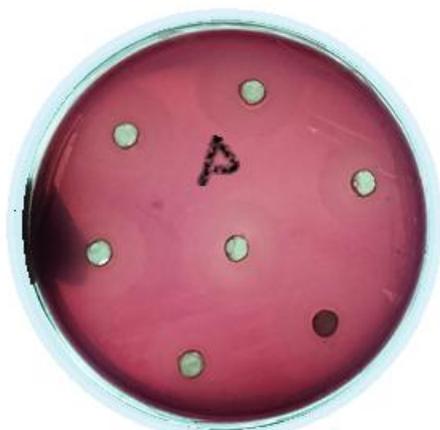
Resultado de la infusión al 100%



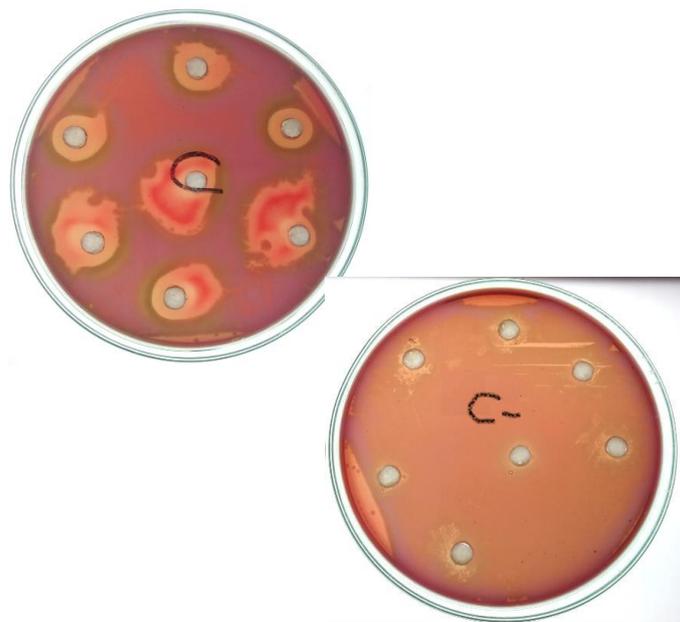
Resultado de la infusión al 75%



Resultado de la infusión al 50%



Resultado del aceite esencial



Resultado del control positivo y negativo.