

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



---

**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PSIDIUM GUAJAVA  
(GUAYABA) Y PUNICA GRANATUM (GRANADA) SOBRE EL  
STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO**

---

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

**TESISTAS:**

**Bach. Moisés ALVAREZ LORENZO**

**Bach. Ethel Jherifer ESPINOZA MAZGO**

**HUÁNUCO – PERÚ**

**2018**



**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PSIDIUM GUAJAVA  
(GUAYABA) Y PUNICA GRANATUM (GRANADA) SOBRE EL  
STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO**

**TESISTAS:**

**Bach. Moisés ALVAREZ LORENZO**

**Bach. Ethel Jherifer ESPINOZA MAZGO**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

**HUÁNUCO – PERÚ**

**2018**



## **DEDICATORIA**

A Dios todo poderoso quien nos guía y nos ilumina día a día.

A mi abuelita Eva quien me brindo su amor y que desde el cielo me protege.

A mis padres y hermanos por ser el pilar fundamental en mis logros obtenidos.

A mis abuelos, tíos y a todos aquellos que me brindaron su apoyo en este camino trazado.

A los docentes que gracias a sus enseñanzas y asesoramientos pude escalar un peldaño más en mi camino profesional.

**Ethel Jherifer Espinoza Mazgo**

A Dios todopoderoso por iluminarme y guiarme siempre por el buen camino.

A mis padres, mi pareja condicional y hermanas por su apoyo en toda mi etapa profesional.

A mis docentes por la labor sacrificada en enseñanza y consejos que me motivaron a seguir hacia un futuro mejor.

**Moisés Alvarez Lorenzo**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por bendecirnos y guiarnos en todo el proceso de aprendizaje de nuestra vida y formación profesional.

A nuestro asesor de tesis MsC. CD. Miguel Nino Chávez Leandro, por su orientación, apoyo y corrección de nuestra labor científica para la realización de esta tesis.

A nuestro docente Mg. Antonio Alberto Ballarte Baylón, por sus correcciones, sus enseñanzas, su aporte y su ayuda brindada en la presente investigación.

A todos nuestros docentes que nos brindaron sus enseñanzas durante nuestra formación académica y humanística en la carrera profesional de Odontología.

A nuestras familias por apoyarnos en todo momento.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar si existe la diferencia entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio in vitro.

Se realizó un estudio explicativo experimental de tipo cuantitativo. Se preparó el extracto de la *Psidium guajava* y *Punica granatum* para luego embeberlo en alcohol etílico rectificado 96° y dejándose macerar por 2 semanas, agitándolos todos los días. Se procedió a la preparación en concentraciones diferentes (100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%) colocándolos en un recipiente hasta utilizarlo. Se empleó el método de disco-difusión en agar. La cepa fue reactivada en 2 placas de Agar Columbia (Agar sangre), incubada a 37 °C por 24 horas en microaerofilia. Se tomaron 5 colonias y se transfirieron a un tubo de ensayo con 5 mL de agua destilada estéril, incubada a 37 °C obtener una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de Mc Farland. El sembrado se realizó en 10 placas con agar Müller-Hinton mediante la técnica de difusión, utilizando el extracto etanólico de la *Psidium guajava* y *Punica granatum* en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5% y se procedió a la incubación en microaerofilia a 37 °C, se procedió a la observación y medición a las 24 horas y 72 horas. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 23 versión en español de Windows. Comparando los tipos de extracto etanólico entre la granada y la guayaba presentaron un halo de inhibición promedio de 7.675 y 15.4mm respectivamente, la diferencia de promedios entre los extractos los extractos, mostró diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). Se concluye que si existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de

la psidium guajava (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans estudio in vitro.

**Palabras claves:** Streptococcus mutans, psidium guajava, punica granatum, actividad antibacteriana.



## SUMMARY

The objective of the present study was to determine if there is a difference between the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Psidium guajava* (guava) and *Punica granatum* (pomegranate) on the *Streptococcus mutans* in vitro study.

An experimental explanatory study of quantitative type was carried out. The extract of the *Psidium guajava* and *Punica granatum* was prepared and then imbibed in 96 ° rectified ethyl alcohol and allowed to soak for 2 weeks, stirring them every day. The preparation was carried out in different concentrations (100%, 75%, 50%, 25% and 12.5%) by placing them in a container until it was used. The disk diffusion method was used in agar. The strain was reactivated in 2 plates of Agar Columbia (Agar blood), incubated at 37 ° C for 24 hours in microaerophilic. Five colonies were taken and transferred to a test tube with 5 mL of sterile distilled water, incubated at 37 ° C to obtain a turbidity equivalent to 0.5 of the Mc Farland scale. Seeding was performed on 10 plates with Müller-Hinton agar using the diffusion technique, using the ethanolic extract of *Psidium guajava* and *Punica granatum* in concentrations of 100%, 75%, 50%, 25% and 12.5% and proceeded to the microaerophilic incubation at 37 ° C, followed by observation and measurement at 24 hours and 72 hours. The statistical analysis was carried out with the SPSS 23 Spanish version of Windows. Comparing the types of ethanolic extract between the pomegranate and the guava had an average inhibition halo of 7.675 and 15.4mm respectively, the difference in averages between extracts extracts, showed statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). It is concluded that there are differences

between the antibacterial effect of the ethanolic extract of the psidium guajava (guava) and the antibacterial effect of the ethanolic extract of the punica granatum (pomegranate) on the Streptococcus mutans in vitro study.

Key words: Streptococcus mutans, psidium guajava, punica granatum, antibacterial activity.

## INDICE

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>I. PROBLEMA DE INVESTIGACION.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Identificación y Planteamiento del problema.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2 Delimitación de la Investigación.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Formulación del problema.....</b>	<b>6</b>
1.3.1. Problema Principal.....	6
1.3.2. Problemas Específicos.....	6
<b>1.4 Formulación de objetivos.....</b>	<b>7</b>
1.4.1. Objetivo General.....	7
1.4.2. Objetivos Específicos.....	7
<b>1.5 Justificación e importancia de la investigación.....</b>	<b>8</b>
<b>1.6 Limitaciones de la investigación.....</b>	<b>9</b>

<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	10
<b>2.1 Antecedentes de estudios realizados</b> .....	10
<b>2.2 Bases teóricas y científicas</b> .....	18
flora microbiana oral.....	18
Streptococcus mutans como iniciador de caries dental.....	19
Clasificación.....	20
S. mutans y grupo mutans.....	20
Descripción.....	21
Estructura celular.....	21
Factores de virulencia.....	22
Hábitat.....	24
Medios de cultivo .....	24
La guayaba (psidium guajava).....	26
Clasificación.....	26
Descripción botánica.....	27
Importancia nutricional.....	28
Composición química.....	32
Actividad farmacológica de principios activos.....	33

Actividad antidiarreica.....	33
Obtención del extracto etanólico de Psidium guajava.....	34
La granada (punica granatum).....	34
Fuentes biológicas.....	35
Valor alimenticio.....	35
Características del fruto.....	36
Composición.....	36
Usos tradicionales de la granada.....	39
Obtención del extracto etanólico de la punica granatum.....	40
<b>2.3 Definición de términos básicos.....</b>	<b>41</b>
<b>2.4 Formulación de Hipótesis.....</b>	<b>43</b>
2.4.1. Hipótesis General.....	43
2.4.2. Hipótesis Específicas.....	43
<b>2.5 Identificación de Variables.....</b>	<b>44</b>
<b>2.6 Definición Operacional de Variables, Dimensiones e Indicadores.....</b>	<b>45</b>
<b>III. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>46</b>
<b>3.1 Nivel y Tipo de investigación.....</b>	<b>46</b>

<b>3.2 Diseño y Método de la Investigación</b> .....	48
<b>3.3 Determinación de la Población y Muestra</b> .....	55
<b>3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b> .....	56
<b>3.5 Técnicas de procesamiento, análisis de datos</b> .....	56
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	58
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	85
<b>CONCLUSIONES</b> .....	88
<b>SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES</b> .....	89
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	90
<b>ANEXOS</b> .....	102
Anexo N° 1 .....	103
Anexo N° 2 .....	104
Anexo N° 3 .....	106
Anexo N° 4 Validación de instrumentos	

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el uso de alternativas terapéuticas naturales a través de plantas y frutas con propiedades medicinales está siendo estudiado científicamente, con el fin de utilizarlos en el tratamiento de afecciones bucales más prevalentes en nuestra población.<sup>1</sup>

Entre las plantas que presentan principios activos medicinales y entre ellas con actividad antibacteriana demostrada, encontramos a la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada), cuyas investigaciones precedentes relatan que han sido utilizadas en el control de microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

La caries dental es una enfermedad de origen multifactorial que se caracteriza por un biodinamismo molecular, en la cual se genera una interacción directa entre microorganismos y el órgano dental. Es una de las patologías de la cavidad oral más prevalentes en el mundo siendo una de las principales causas de la destrucción y pérdida dentaria.<sup>2,3</sup>

El *Streptococcus mutans* es una de las bacterias que constituye la primera causa de caries dental y de infecciones graves por estreptococos del grupo viridans.<sup>3</sup> Se ha establecido que el 90% de las personas, en las ciudades industrializadas son afectadas por infecciones bucodentales de origen bacteriano.<sup>3,4</sup>

La importancia de esta investigación radica en que propiciará los cimientos para el desarrollo de investigaciones de tipo tecnológicas mediante las cuales se puedan diseñar y formular nuevos productos que ayuden a combatir a aquellos microorganismos patógenos orales sin que existan efectos colaterales y que puedan estar al alcance de la población.<sup>3</sup>

En la presente investigación se comprobó si existe diferencia entre el efecto antibacteriana de los extractos etanólicos de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans*, un microorganismo oral invasivo, proliferativo y muy importante en el desarrollo de la caries dental que afecta a la estructura dentaria.



## CAPITULO I

### PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Identificación y planteamiento del problema

En la actualidad existe un interés muy grande por investigar nuevas formas terapéuticas para combatir las afecciones orales, pero la mayoría de estudios es a nivel internacional y están relacionadas con el uso de extractos vegetales y otras sustancias inocuas para los tejidos orales. Como bien sabemos, las plantas han sido utilizadas por la humanidad en todo el mundo desde tiempos remotos para controlar e incluso curar afecciones causadas por microorganismos.<sup>3,5</sup>

El uso de las plantas medicinales ha resurgido como alternativa terapéutica frente a diversas afecciones como inflamaciones, infecciones, caída de cabello, etc. También tienen efecto antioxidante, antidiarreico, anticancerígeno, etc.

Huánuco tiene riquezas en flora y fauna, y dentro de la flora se encuentran la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) que presentan propiedades curativas tanto en el fruto como en la corteza, en las hojas, en la cáscara y en las semillas.

Se ha establecido que el 90% de las personas, en las ciudades industrializadas son afectadas por infecciones bucodentales de origen bacteriano. También se ha determinado que la mayoría de estas utilizan productos químicos para su control,

productos que generalmente son de costo elevado, difícil acceso y comprobados efectos colaterales (OMS).<sup>4</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS), afirma que las enfermedades bucodentales, como la caries dental, la enfermedad periodontal y la mal oclusión constituyen problemas de salud pública que afecta a los países industrializados y cada vez con mayor frecuencia a los países en desarrollo, en especial a las comunidades más pobres.<sup>4</sup>

Las enfermedades bucodentales comparten factores de riesgo con las enfermedades crónicas más comunes como las enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades respiratorias crónicas y diabetes. Siendo el factor de riesgo más importante una higiene bucodental deficiente. La atención odontológica curativa tradicional representa una importante carga económica para muchos países de ingresos altos, donde el 5%-10% del gasto sanitario público guarda relación con la salud bucodental.<sup>4</sup>

La Salud Bucal en el Perú constituye un grave problema de Salud Pública, por lo que es necesario un abordaje integral del problema, aplicando medidas eficaces de promoción y prevención de la salud bucal. La población pobre al igual que la no pobre, presenta necesidades de tratamiento de enfermedades bucales, solo que la población pobre, tiene que verse en la necesidad de priorizar, entre gasto por alimentación y gasto por salud.<sup>4</sup>

La caries dental es una enfermedad crónica, infecciosa, multifactorial y transmisible. Por su magnitud y trascendencia constituye un importante problema de salud

pública. Según La Organización Mundial de la Salud (OMS) la caries dental es un proceso localizado que se inicia después de la erupción dentaria, determina el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hacia la formación de una cavidad.<sup>2 3</sup>

Según el Estudio Epidemiológico a nivel nacional realizado los años 2001-2002 la prevalencia de caries dental es de 90.4%; además en lo que se refiere a caries dental el índice de dientes cariados, perdidos y obturados, a los 12 años es de aproximadamente 6, ubicándose según la Organización Panamericana de la Salud en un País en estado de emergencia; según un estudio del año 1990, la prevalencia de enfermedad periodontal fue de 85% y en estudios referenciales se estima que la prevalencia actual de maloclusiones es del 80%.<sup>4</sup>

Siendo, el *Streptococcus mutans* considerado como el microorganismo más frecuentemente aislado en placa dentobacteriana; se trata de combatirlo encontrando mecanismos para su control a través del uso de sustancias antimicrobianas.<sup>1</sup>

Debido a que la región Huánuco presenta una elevada tasa de caries y en mayor porcentaje en las comunidades más pobres, a causa que tienen un acceso limitado a centros de salud o a clínicas dentales, esto se debe a la falta de recursos económicos y de información sobre la higiene y salud bucal. Ante esta problemática, se busca hallar alternativas terapéuticas que sean accesibles a toda la población huanuqueña.

Es por ello que se realizó esta investigación que tiene el propósito de plantear una terapéutica alternativa con estas frutas para el control de la infección cariosa.

## **1.2 Delimitación de la investigación**

Este estudio está basado en la efectividad antibacteriana de los extractos etanólicos de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) frente a la bacteria más frecuente de la lesión cariosa (*Streptococcus mutans*), que por su alto grado de infección y proliferación en la cavidad oral es una bacteria totalmente patógena, por ello se analizó el comportamiento microbiano que esta sufre a consecuencia de la exposición de ambos extractos, ya que existen antecedentes de que ambas frutas tienen propiedades terapéuticas y más aún propiedades antibacterianas.

## **1.3 Formulación del problema**

### **1.3.1. Problema principal**

- ¿Qué diferencia existe entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio in vitro?

### **1.3.2 Problemas específicos**

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) sobre el *Streptococcus mutans* según concentración?

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus Mutans según concentración?
- ¿Cuál de los extractos etanólicos presenta mayor efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans?

## **1.4 Formulación objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

- Comprobar si existe diferencia entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus Mutans estudio in vitro.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Hallar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) sobre el Streptococcus mutans según concentración.
- Hallar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans según concentración.
- Comparar el extracto etanólico que presenta mayor efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans.

## **1.5 Justificación e importancia de la investigación**

En esta investigación lo que se obtuvo es una propuesta terapéutica basada en las frutas de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) mediante sus extractos, y el efecto que tuvieron ante la bacteria cariogénica *Streptococcus mutans*.

En la actualidad se ha demostrado que algunos principios activos de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada), poseen propiedades antimicrobianas, pero pocas son las investigaciones sobre el efecto en la caries y más aún en la bacteria más prevalente (*Streptococcus mutans*), y a nivel nacional y local se han encontrado mínimas investigaciones que puedan servir como antecedentes para la presente investigación.

La caries dental es una enfermedad preponderante en la cavidad bucal, siendo una lesión progresiva que destruye el diente, según el Ministerio de Salud esta afección es una de las que contribuye a generar un bajo rendimiento escolar en los niños. Esta afección ocupa el segundo lugar en la tabla de morbilidad general a nivel nacional y la tercera ubicación en la etapa de la niñez con un 9.1%, solamente superada por las infecciones de las vías respiratorias agudas y las infecciones intestinales.<sup>2,3</sup>

En nuestro país, existen muchas comunidades que, por su localización, presentan dificultades para acceder fácilmente a los servicios de salud, tienen a su alrededor variedad de especies vegetales y frutas que podrían ser utilizadas medicinalmente conociendo sus propiedades terapéuticas. El uso de plantas y frutas medicinales está al alcance de la

población, de esta manera resultaría accesible tratar las afecciones bucales, reduciendo así las enfermedades cariogénicas en la población de manera significativa.<sup>1</sup>

La presente investigación permitió evaluar el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans*. Estos resultados al ser significativos nos permitieron generar una base científica para la elaboración de productos a base de estas plantas que puedan actuar como alternativa de control de *Streptococcus mutans* contribuyendo así al control de microorganismos patógenos orales y que están al alcance de la población huanuqueña.

## **1.6 Limitaciones**

- Limitaciones en las investigaciones científicas referidas a los beneficios, propiedades y caracterizaciones de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) en el campo odontológico.
- Limitaciones al no contar con un laboratorio químico adecuado para la realización de la investigación.
- Limitación en la recolección de las frutas que solo se obtiene en una época apropiada, época floral.
- Limitaciones al no contar con un laboratorio microbiológico adecuado para la realización del proyecto.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de estudios realizados:

##### ○ Antecedentes Internacionales

NELCE M, et al. (Indonesia 2014) en su estudio “Actividad antimicrobiana de los taninos obtenido del extracto de las hojas de guayaba (*Psidium guajava* L) sobre microorganismos patógenos”.

OBJETIVO: determinar las actividades antimicrobianas de extractos tanino de las hojas de guayaba contra patógenos microbianos. MATERIALES Y MÉTODOS: utilizando para el análisis cualitativo, los taninos están formado por la intensidad del color es verde negruzco de compuestos  $FeCl_3$ . En la Prueba de actividad antimicrobiana, fue utilizando el método de difusión en agar. RESULTADOS: mostraron niveles de taninos en las hojas de guayaba con etanol 30 %, el cual es 2,351 mg / g, etanol al 50% es 1,728 mg g, 70% de etanol es 1,835 mg / g. El mejor disolvente para extraer los más altos niveles de taninos con etanol al 30 % en el valor de los niveles de taninos 2.351mg / g. Actividad inhibidora de tanino en cinco patógenos microbianos diferente. Esto es porque la composición de la pared celular del quinto microbio es diferente. CONCLUSIÓN: mostraron que los extractos taninos pueden inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*.<sup>6</sup>



BISWAS B, et al. (USA 2013) Actividades antimicrobianas de extractos de hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) en dos Gram Negativo y bacterias Gram- positivas.

**OBJETIVO:** Realizaron un estudio para determinar el potencial antimicrobiano de extractos de guayaba (*Psidium guajava*) de la hoja contra dos bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*) y dos bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*), que son algunas de las bacterias transmitidas por los alimentos y de descomposición. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Las hojas de guayaba se extrajeron en cuatro diferentes disolventes de polaridades crecientes (hexano, metanol, etanol, y agua). La eficacia de estos extractos se ensayó frente a las bacterias a través de un método de difusión empleando 50 uL solución de extracto de hojas por pocillo. **RESULTADOS:** Según los resultados del ensayo antibacteriano, los extractos de metanol y etanol de las hojas de guayaba mostraron actividad inhibitoria frente a bacterias Gram-positivas, mientras que las bacterias Gram-negativas eran resistentes a todos los extractos de disolventes. El extracto de metanol tuvo una actividad antibacteriana con zonas medias de la inhibición de 8,27 y 12,3 mm, y el extracto de etanol tenía una zona media de la inhibición de 6,11 y 11,0 mm frente a *B. cereus* y *S. aureus*, respectivamente. **CONCLUSIÓN:** Sobre la base del presente hallazgo, se recomienda determinar los valores antimicrobianos e investigar otras propiedades farmacológicas.<sup>7</sup>

DE SOUZA V, CORREIA S, VIEIRA P, et al. (Brasil 2006) Concentración mínima inhibitoria de la adherencia del gel de Punica granatum (granada) contra. S. Mutans, S. mitis y C. albicans.

**OBJETIVO:** El propósito de este estudio fue investigar la actividad antimicrobiana de Punica granatum (Granada) fitoterapéutica gel y miconazol (Daktarin® gel oral) contra tres standard estreptococos cepas (mutans ATCC 25174, sanguis ATCC 10577 y mitis ATCC 9811), S. mutans clínicamente aislado y Candida albicans solos o en asociación. **MATERIALES Y MÉTODOS:** El efecto de la concentración inhibitoria mínima de los geles sobre la adhesión de estos microorganismos al cristal fue evaluado en presencia de un 5% de sacarosa, utilizando cada vez más y se duplicó la concentración de la solución diluida de los geles que van desde 1:1 hasta 1:1024. Las concentraciones mínimas inhibitorias de adherencia de Punica granatum gel contra los organismos de prueba fueron: 1:16 por S. mutans (ATCC), S. mutans (CI) y S. sanguis; 1:128 para S. mitis y 1:64 de C. albicans. Las concentraciones mínimas inhibitorias de adherencia de miconazol contra los mismos organismos fueron: 1:512, 1:64, 1:4, 1:128 y 1:16, respectivamente. **RESULTADOS:** En experimentos con tres y cuatro asociados con microorganismos, la Punica granatum gel tuvo una mayor eficiencia en la inhibición microbiana de la adhesión que el miconazol. **CONCLUSIÓN:** Los resultados de este estudio sugieren que este agente fitoterapéutico podría ser utilizado en el control de la adhesión de diferentes microorganismos en la cavidad oral.<sup>8</sup>

ABDOLLAHZADEH S, MASHOUF R, MORTAZAVI H, et al. (Irán 2011) Actividades Antibacterianas y Antifúngicas de Extractos de Punica Granatum contra Patógenos Orales.

La Punica granatum se ha usado durante muchos años en la medicina popular debido a varios objetivos. OBJETIVO: El presente estudio evalúa el efecto del extracto metanólico de Piel de Punica granatum (MEPGP) contra Estreptococo mutans, Estafilococo aureus, Estreptococo salivarius, Estreptococo sanguinis, Estafilococo epidermidis, Actinomyces viscosus, Lactobacillus acidophilus y Candida albicans. MATERIALES Y MÉTODOS: En este estudio de in vitro, los organismos orales mencionados eran cultivados en agar-agar de la sangre y medios Mueller-Hinton y discos luego de papel que contienen MEPGP en las concentraciones de 4 mg/ml, 8 mg/ml y 12 mg/ml se insertaron en medias. El antimicrobiano la actividad fue evaluada por el método de la difusión del disco del agar-agar. Los efectos de tres diferentes las concentraciones de MEPGP contra microorganismos se compararon usando de dirección única ANOVA y pruebas de Tukey. RESULTADOS: Todas las concentraciones de MEPGP tenían la actividad antibacteriana contra S. aureus y S. epidermidis. Sólo en la concentración de 8 mg/ml y 12 mg/ml el MEPGP era eficaz contra L. acidophilus, S. mutans y S. salivarius. Además; ningunas concentraciones de MEPGP inhibió A. viscosus y C. albicans. CONCLUSIÓN: Este estudio sugiere que MEPGP se podría usar como un agente antibacteriano en control de infecciones orales.<sup>9</sup>

○ **Antecedentes Nacionales**

CHERO D, RUIZ M. (Chiclayo 2016) Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de Psidium guajava (guayaba) y Medicago sativa (alfalfa) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175.

**OBJETIVO:** Determinar el efecto de antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de Psidium guajava y Medicago sativa sobre Streptococcus mutans ATCC 25175. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Investigación cuantitativa con diseño experimental de estímulo creciente. Se emplearon 20 concentraciones volumétricas de cada extracto de 1 - 20 mg/ml, un control positivo que fue clorhexidina al 0,12% y el control negativo que fue etanol absoluto. Para evaluar el efecto antibacteriano de ambos extractos alcohólicos se utilizó el método de difusión en disco mediante el diámetro de los halos de inhibición y para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método de microdilución en caldo. **RESULTADOS:** Se determinó que tanto la CMI como la CMB fue < 1 mg/ml. La mayor inhibición se encontró con el extracto alcohólico de Psidium guajava y fue a la concentración de 18 mg/ml obteniéndose un halo superior a los 28 mm. En el caso del extracto alcohólico de Medicago sativa la mayor inhibición se obtuvo a la concentración de 9 mg/ml pero dicha inhibición no fue significativa. **CONCLUSIÓN:** Se concluye que no existe efecto antibacteriano sinérgico entre los extractos alcohólicos de las hojas de Medicago sativa y Psidium guajava sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 cuyos halos de inhibición obtenidos fueron menores al control negativo.<sup>10</sup>

BERNAL S, RODRÍGUEZ H, SALAZAR C. (La Libertad 2014) Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* “in vitro”.

**OBJETIVO:** Se determinó el efecto de la concentración del extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto de *Punica granatum* cultivada en Chao (La Libertad, Perú) sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa*. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se trabajó con cinco concentraciones del extracto (500; 250; 125; 62.5, y 31.25 mg/ mL) y Gentamicina como control positivo. El efecto se determinó siguiendo lo propuesto por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): sembrando un inóculo estandarizado con el patrón de turbiedad 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland en placas con Agar Mueller Hinton por la técnica placa vertida y a su vez se realizó la Concentración Mínima Bactericida a partir de las concentraciones de: 62.5, 31.25, 15.63, 7.81, 3.91, 1.95 y 0.98 mg/mL, respectivamente, para *S. aureus*, *S. aureus* ATCC 25923 y *P. aeruginosa*. **RESULTADOS:** Se observó que a medida que aumenta la concentración del extracto hidroalcohólico aumenta porcentaje de inhibición relativo o índice de actividad antibacteriana en el rango de 31,25 a 500 mg/mL. También se demostró que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) para *S. aureus* y *S. aureus* ATCC 25923 es a partir de la concentración 7,88 mg/mL, mientras que para *P. aeruginosa* es a partir de 31.25 mg/mL del extracto hidroalcohólico de cáscaras de frutos maduros de *P. granatum*. **CONCLUSIÓN:** El extracto hidroalcohólico de cáscaras de frutos maduros de *Punica*

granatum L. afecta la viabilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>11</sup>

ROJAS J, RONCEROS S, PALACIOS O. (Lima 2012) Evaluación in vitro de la actividad antileishmaniásica del extracto metanólico de siete plantas medicinales.

**OBJETIVO:** El propósito del presente estudio fue determinar la actividad antileishmaniásica in vitro del extracto metanólico de 7 plantas medicinales, y su efecto sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Los extractos, en concentración de 250 µg/mL, fueron probados contra amastigotes intracelulares. Los macrófagos peritoneales de ratón infectados con amastigotes de *Leishmania peruviana* fueron coloreados con Giemsa y examinados microscópicamente para determinar la carga parasitaria por 100 macrófagos. **RESULTADOS:** El óxido nítrico se determinó indirectamente por su conversión a nitrito. *Piperaduncum* (matico) redujo la supervivencia de los amastigotes hasta 51,30% ( $p < 0,001$ ), también se observó efecto reductor con *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Punica granatum* (granado); mientras que *Annona cherimola* (chirimoya), *Annona muricata* (guanábana) y *Origanum vulgare* (orégano) fueron inactivos. La producción de óxido nítrico por los macrófagos fue incrementada significativamente por efecto de *Annona cherimola*, que produjo la concentración de  $13,50 \pm 1,50 \mu\text{M}$  en comparación con  $4,90 \pm 0,10 \mu\text{M}$  del control ( $p < 0,001$ ). También causaron incremento significativo de nitrito *Origanum vulgare* ( $p < 0,05$ ) y *Punica granatum* ( $p < 0,01$ ). **CONCLUSIÓN:** Se concluye que *Piperaduncum*, *Eucalyptus globulus* y *Punica granatum* exhiben moderado efecto antileishmaniásico in

vitro, y que la producción de óxido nítrico es uno de los probables mecanismos de acción para *Punica granatum*. Bajo estas condiciones experimentales, se concluye que los extractos metanólicos de *Piperaduncum* (matico), *Eucalyptusglobulus* (eucalipto) y *Punica granatum* (granado) mostraron moderado efecto antileishmaniásico in vitro, y que la producción de óxido nítrico es uno de los probables mecanismos de acción para *Punica granatum*.<sup>12</sup>

- **Antecedentes Regionales**

SÁNCHEZ F. (Tingo María 2016) Efecto antimicótico del extracto de tres plantas ,medicinales contra el *Trichhophyton* sp. y *Microsporum* sp. in vitro en Tingo María.

El presente trabajo de investigación se realizó en la Facultad de Zootecnia, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, de Tingo María, departamento de Huánuco - Perú. OBJETIVO: El objetivo es evaluar el efecto antimicótico del extracto de tres plantas medicinales (guayaba (*Psidium guajava* L), verbena (*Verbena officinalis*) y matico (*Piper angustifolium*), contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp., in vitro, MATERIALES Y MÉTODOS: se utilizó los extractos etanólicos de cada uno de las plantas, a disoluciones de 10, 40, 70 y 100%; se realizó el frotis de inoculación: para las réplicas sobre la superficie de agar Saboraud en 78 placas petri y en las pozas de 6 mm de diámetro se vertieron 100 µL los extractos, así también el Clotrimazol al 1% (control positivo) para ser incubados a 27°C; después de 48 horas se midió el diámetro en mm., los halos de inhibición del crecimiento del *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp. incluyendo el

diámetro de las pozas. RESULTADOS: Los resultados indican una efectividad antimicótica de cada uno de los extractos contra el hongo *Microsporium* sp. La Verbena tuvo: 0.52, 0.63, 0.73 y 1.07 mm para 10, 40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje el matico tuvo efectividad de 0.40, 0.45, 0.64 y 0.86; mientras que la guayaba tuvo 0.37, 0.42, 0.53. y 0.53 mm. La efectividad contra el hongo *Trichophyton* sp. del matico: 0.58, 0.71, 0.81 y 0.90 mm para 10, 40, 70 y 100% respectivamente; en este mismo orden de porcentaje la verbena 0.53, 0.62, 0.66 y 0.75; mientras que la guayaba 0.53, 0.57, 0.66 y 0.71. La efectividad contra El *Trichophyton* sp. Y *Microsporium* sp. fue a partir del 70% en la verbena y matico. CONCLUSIÓN: El extracto de tres plantas medicinales, *Psidium guajava* L, *Verbena officina/is* y *Piper angustifolium* muestra efectividad antimicótica contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporium* sp., in vitro, en la ciudad de Tingo María.<sup>13</sup>

## **2.2 Bases teóricas y científicas:**

### **FLORA MICROBIANA ORAL**

Los microorganismos que forman lo que se denomina flora de la saliva son todos los que se han desprendido de los sitios diversos de la cavidad bucal en donde se han asentado poblaciones bacterianas (piezas dentarias, lengua, mucosa de los carrillos y membranas mucosas de la faringe). En general predominan los cocos Gram positivos anaerobios facultativos (en torno al 44 %), los cocos Gram negativos anaerobios estrictos como *Veillonella* sp. (Alrededor del 15 %), y los bacilos anaerobios facultativos Gram



positivos, destacando las especies de Actinomyces. También treponemas comensales, hongos como Candida sp., Mycoplasmasp., y los escasos protozoos aislados en la cavidad oral.<sup>3, 14, 15</sup>

En la cavidad bucal existe una gran variedad de microorganismos que se caracterizan por ser extremadamente complejos en géneros y especies, estos son responsables de la gran mayoría de procesos infecciosos bucales, entre ellos: caries y enfermedades periodontales. La caries dental es la más frecuente que afecta la dentición temporal y permanente de nuestra población, es una enfermedad multifactorial, donde se evidencia la interacción de cuatro factores principales: hospedero, dieta, tiempo y microbiota.<sup>1, 16</sup>

La formación de la placa bacteriana ocurre a través de la fijación de bacterias sobre las superficies dentarias. Así la placa bacteriana, debido a su característica de agregación continua, va adquiriendo nuevas especies en cada etapa de su desarrollo. Dentro de estos microorganismos se pueden encontrar: S. mutans, S. mitis, S. sanguis, S. sobrinus y L. casei.<sup>1, 17</sup>

### **Streptococcus mutans como iniciador de caries dental**

El Estreptococos mutans, fue aislado por Clarke en 1924 a partir de lesiones cariosas en humanos, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción. Su nombre lo recibe por su tendencia a cambiar de forma, que se puede encontrar como coco (forma redonda) en un medio alcalino, o en forma de cocobacilo (forma

ovalada) en un medio ácido. Esta bacteria es anaeróbica facultativa, es decir, puede utilizar el oxígeno para crecer, pero si éste no está presente también puede sobrevivir; sin embargo, su crecimiento óptimo ocurre en anaerobiosis.<sup>3,18</sup>

### **Clasificación:**

Esta especie bacteriana presenta la siguiente clasificación taxonómica:<sup>1,19</sup>

- DOMINIO : Bacterias
- PHYLUM : Firmicutes
- CLASE : Bacilli
- ORDEN : Lactobacillales
- FAMILIA : Streptococcaceae
- GÉNERO : Streptococcus
- ESPECIE : Streptococcus mutans

### **S. mutans y grupo mutans**

La especie *Streptococcus mutans* se ubica dentro de un conjunto de bacterias denominado “Grupo Mutans”, los cuales presentan diversidad genética, antigénica y bioquímica; también, comparten rasgos fenotípicos como fermentación del manitol y sorbitol, producción de glucanos extracelulares a partir de sacarosa, ciertos morfotipos coloniales al ser cultivados en agar con sacarosa y la inducción de caries a partir del consumo de carbohidratos (sobre todo sacarosa) por parte del huésped.<sup>1,20</sup>

El grupo mutans está conformado por las siguientes especies: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. downei*, *S. macacaey* *S. ferus*. La primera diferenciación de las distintas cepas se efectuó a partir de su perfil de producción de bacteriocinas; posteriormente se encontró que existían ocho grupos serológicos en las especies del grupo mutans. Los dos grandes subgrupos presentan respectivamente los serotipos c/e/f (correspondiente a *S. mutans*) y d/g (*S. sobrinus*). Las especies del grupo mutans predominantes en la boca de la mayoría de los sujetos corresponden al *S. mutans*, mientras que el *S. sobrinus* aparece en menos individuos y en cantidades menores.<sup>1, 21</sup>

El *Streptococcus mutans* presenta el serotipo c, que es el más frecuente en la colonización inicial, que se produce en función de características particulares de la saliva de cada individuo.<sup>1, 22, 23</sup>

### **Descripción**

*S. mutans* es un coco Gram positivo, que se dispone en pares o cadenas cortas; es anaerobio o aerobio facultativo, ya que para desarrollarse necesita medios enriquecidos y ambientes de microaerofilia o anaerobiosis, con una tensión de CO<sub>2</sub> al 10%. Posee los polisacáridos antigénicos definidos para los serotipos c, e y f, siendo el serotipo c el más predominante de la cavidad oral en humanos.<sup>1, 24, 25</sup>

### **Estructura celular**

El *Streptococcus mutans* tiene una pared celular gruesa, ésta se compone de peptidoglicano (mureína) y ácidos teicoicos que impiden la lisis osmótica del protoplasto

celular y le confieren rigidez y forma. Presenta proteínas fijadoras de glucanos, que intervendrían en la adhesión a la película adquirida, cuando en ella existen glucanos adsorbidos, y en los procesos de agregación bacteriana. Posee proteínas parietales superficiales, que pueden liberarse al medio en el curso de crecimiento bacteriano, y se comportan como adhesinas; son conocidas como antígenos I/II, y medirían la adhesión a la película adquirida en ausencia de glucanos en su superficie y la coagregación con otras bacterias. El papel que desempeñan sus fimbrias y ácidos lipoteicoicos en los procesos de adhesión a tejidos del hospedador y en los de agregación bacteriana es controvertido. El *S. mutans* se compone de ADN circular y tiene por lo menos tres estrechamente relacionados, pero diferentes plásmidos. Los tamaños de estos plásmidos son similares, de aproximadamente 5,6 kilobases (kb). Estos son importantes para *S. mutans* debido a sus funciones, incluyendo la resistencia a ciertos antibióticos o metales pesados; la producción de bacteriocina y la inmunidad, las vías catabólicas de accesorios y los mecanismos para la conjugación como las actividades de transferencia. <sup>1, 24, 26</sup>

### **Factores de virulencia**

Los factores de virulencia son los que promueven la colonización e invasión en tejidos, haciendo que las bacterias alcancen altos niveles de población antes que se vean limitadas por la respuesta del hospedero. En el caso del *S. mutans*, tenemos los siguientes:

<sup>1, 27, 28</sup>

- **Acidogenicidad:** *S. mutans* es capaz de fermentar diversos azúcares, particularmente manitol y sorbitol. En medios ricos en carbohidratos se genera

ácido láctico como producto final del metabolismo, el cual se ha asociado con el origen de caries.

- **Aciduricidad:** es la tolerancia al ácido, que le permite mantener una capacidad glicolítica a niveles bajos de pH (pH 4.4), donde el crecimiento de otras especies está inhibido.
- **Acidofilicidad:** *S. mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H<sup>+</sup>) fuera de la célula.
- **Síntesis de polisacáridos extracelulares:** A partir de la fermentación de hidratos de carbono, principalmente de la sacarosa, el *S. mutans* puede sintetizar polisacáridos extra celulares como glucanos (dextrán y leván) y fructanos, que promueven la adherencia selectiva y acumulación de un amplio número de estreptococos cariogénicos en los dientes, además de aumentar la porosidad y dimensión de la matriz de la placa dental. Esto permite una mayor difusión de sustrato a través de la superficie del esmalte, se produce un descenso de los valores de pH en capas más profundas de la placa y se favorece el desarrollo de la caries.
- **Síntesis de polisacáridos intracelulares:** Como el glucógeno, que puede ser degradado por dextranasas, fructanasas y glucógenofosforilasas. Sirve como reserva alimenticia y mantiene la producción de ácido durante largos periodos aún en ausencia de consumo de azúcar.

## **Hábitat**

El principal hospedador del *S. mutans* es la boca del hombre, puede desarrollarse en temperaturas que van desde 18 a 40°C. Coloniza especialmente las superficies duras de la cavidad oral (esmalte o cemento); se han obtenido también aislamientos a partir de heces humanas. El *S. mutans* induce lesiones cariosas tanto de superficies lisas, de fosas y fisuras, como en zonas interproximales y cemento radicular. A nivel extraoral, el *S. mutans* está relacionado con endocarditis subagudas y raramente con otros procesos patológicos.<sup>1, 24</sup>

## **Medios de cultivo**

En general hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios orales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS). Aunque el Agar MS fue originalmente desarrollado para aislar estreptococos fecales, su uso ha predominado sobre otros medios de cultivo para el aislamiento de estreptococos orales, incluyendo *Streptococcus mutans*. En el agar MS, muchos estreptococos orales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial. Usualmente, la placa de agar se cultiva en una

atmosfera del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días seguida de una incubación en aire por 1 o 2 días. Además de la morfología característica de las colonias, los estreptococos orales pueden diferenciarse por su habilidad para fermentar ciertos azúcares (especialmente manitol y sorbitol) y por adherirse a superficies lisas en presencia de sacarosa.<sup>29, 30, 31</sup>

El cultivo en agar es considerado como el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas, mediante métodos cuantitativos en medios no selectivos. Actualmente hay 5 medios de cultivo diferentes para el aislamiento de *Streptococcus mutans*. Estos son: Agar Mitis salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius con bacitracina y kanamicina (MSKB) Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB) Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar tripton extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB). El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *S. mutans* y otras especies orales de estreptococos. El agar MS ha sido modificado para ser más selectivo en el aislamiento de *S. mutans* adicionando tanta sulfonamida (Agar MC), bacitracina (Agar MSB), polimixina o aun sacarosa (MS40S). Los métodos de recuento de colonias permiten determinar el grado de colonización producida por *Streptococcus mutans* según las edades, siendo de gran utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación permitiría desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas y vulnerables.<sup>29, 30, 31</sup>

## **LA GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA)**

Los historiadores se contradicen en sus escritos respecto al probable origen de la planta; sin embargo, la ubican en el área comprendida entre México y Perú.<sup>32,33</sup> En tumbas precolombinas de la cultura Chilca, Perú (5700 – 3000 a.C.) se encontraron semillas de guayaba conjuntamente con la de otras plantas cultivadas.<sup>32,34</sup> El guayabo se ha extendido ampliamente en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo porque prospera en variedad de suelos, se propaga fácilmente, y dan frutos relativamente rápido.<sup>33,35</sup> El tiempo que transcurre desde la emergencia de la flor hasta la maduración del fruto es de 5 a 6 meses, lo cual depende del clima y del material genético.<sup>32,36</sup>

### **Clasificación:**

La clasificación que se señala a continuación pertenece al Integrated Taxonomic Information System<sup>32,37</sup> y la Gerplasm Resources Information Network<sup>32,38</sup>

- Reino : Vegetal
- Sub Reino : Tracheobionta
- División : Magnoliophyta
- Clase : Magnoliopsida
- Sub Clase : Rosidae
- Orden : Myrtales
- Familia : Myrtaceae



- Género : Psidium
- Especie : Psidium guajava L.

### **Descripción botánica**

**a. Árbol:** La guayaba es, generalmente, un árbol bajo o un arbusto arborescente de 3 a 10 metros de altura que, bajo ciertos cuidados y condiciones climáticas, puede alcanzar hasta 10 metros.<sup>32, 34, 39, 40</sup> Tienen un tallo corto y torcido. Ramifica libremente cerca del suelo y puede llegar a ser muy denso.<sup>32, 35, 39</sup> En la corteza de sus troncos y de sus ramas, existen felógenos de diversos colores que forman capas de corcho que se desprenden en escamas o pedazos pequeños. Las ramas jóvenes portan, al inicio, a las angostas a los cuatro lados, que luego se convierten en tetrágonas de color café negruzco; las ramas viejas y pequeñas son de color café rojizo claro, opacas y lisas, con lenticelas diseminadas.<sup>32, 39, 41</sup>

**b. Hojas:** Las hojas del guayabo son de colores verde claro u oscuros; ovales, oblongos u oblongo-elípticos; entrecruzadas o dísticas hacia el ápice de las ramas. Miden de 3 a 6 cm de ancho y de 3 a 16 cm de largo, cara superior lisa y más oscura, la inferior pubescente y con nervaduras prominentes.<sup>32, 39, 40</sup>

**c. Flores:** Las flores son hermafroditas y pediculadas, con un diámetro aproximado de 3,8 cm. Nacen solitarias o en grupos de dos a tres, en las axilas de las hojas que se encuentran en los crecimientos del año o de la estación en curso, rara vez son

terminales. Poseen de cuatro a cinco pétalos aovados, de color blanco, con una longitud de 1,5 a 2 cm.<sup>32, 39</sup>

**d. Fruto:** El fruto es una baya esférica, globulosa, elipsoidal o piriforme; es averrugado o liso, densamente punteado, brillante, con 4 a 12 cm de largo y 4 a 7 cm de ancho; su peso va de 30 a 225 g.<sup>32, 39, 40, 42</sup> El epicarpio presenta un color amarillo verdoso y amarillo en su plena madurez; en el mesocarpio se hallan células duras, esclerósicas, solas o en grupos que le dan la consistencia arenosa característica; en el endocarpio se encuentra una masa de material pulposo donde se encuentran depositadas las semillas.<sup>32, 39, 40, 41, 42</sup>

**e. Semillas:** Las semillas son abundantes, pétreas, triangulares, reniformes, comprimidas, de color blanco, amarillo claro o café amarillento, de 3 a 5 mm de longitud.<sup>32, 39, 40</sup>

### **Importancia nutricional**

**a. Del fruto:** Cambios físicos y químicos ocurren durante el desarrollo y maduración del fruto del guayabo. El peso máximo y el incremento de glucosa ocurre entre la 10<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> semana; la reducción de la dureza y cambios en el contenido de pectina y ácido ascórbico ocurren, mayormente, entre la 12<sup>a</sup> y 14<sup>a</sup> semana; y los niveles de fructosa son los más altos de entre los tres azúcares identificados (fructosa, glucosa y sacarosa) durante la maduración.<sup>32, 43</sup> La acumulación de azúcares está asociada con el desarrollo de

una óptima calidad comestible y los mismos pueden ser incorporados al fruto desde la corriente de fotosintetizados, más que a la degradación de las reservas de almidón del fruto.<sup>32, 44</sup>

Generalmente los ácidos disminuyen durante la maduración, ya que ellos son sustratos respiratorios o son convertidos en azúcares. De tal forma, que estos pueden ser considerados una fuente de energía y se esperaría que disminuyeran durante la actividad metabólica que se desarrolla durante la maduración.<sup>32, 44</sup>

Al respecto de sus constituyentes volátiles, son  $\beta$ -cariofileno y aromadendreno los que se encuentran en mayor proporción, aunque pudiera haber diferencias cuantitativas dependiendo del lugar de origen.<sup>32, 45</sup>

Se ha podido demostrar cómo algunos principios agroclimáticos resultan básicos en la producción de plantas medicinales, y que el rendimiento de los cultivos está influenciado por el manejo del cultivo (incluye tanto su rango de adaptación, las técnicas y métodos culturales, y los sistemas de producción agrícola) y del medio, fundamentalmente el clima donde el mismo se va a desarrollar.<sup>32, 46</sup> (Cuadro1).

La dieta es el mayor suplidor de nutrientes que contienen propiedades antioxidantes, como la vitamina E, vitamina A, carotenoides, ácido ascórbico, flavonoides, etc., o elementos para la síntesis de enzimas antioxidantes.<sup>32, 47</sup> En este sentido, los frutos del guayabo se perfilan como uno de los de mayor capacidad antioxidante por el contenido total de fenoles, proantocianidinas, flavonoides y vitamina C; siendo los dos primeros quienes mostraron una fuerte correlación a tal actividad.<sup>32, 48</sup>

Cuadro 1. Componentes químicos por 100 g de porción comestible de guayaba

Composición	Miami, Florida (125)	México (1)	Nigeria (126)	Malasia (47)
Calorías	36-50	30	NR	NR
Humedad	76-86 g	77 g	82 g	NR
Fibra cruda	2,8-5,5 g	8,15 g	1,37 g	6,76 g
Proteínas	0,9-1,0 g	0,95 g	1,37 g	NR
Grasas	0,1-0,5 g	0,45 g	0,57 g	NR
Cenizas	0,43-0,7 g	0,95 g	0,73 g	NR
Carbohidratos	9,5-10 g	8,85 g	14,23 g	NR
Calcio	9,1-17 mg	NR	NR	NR
Fósforo	17,8-30 mg	NR	NR	NR
Hierro	0,30-0,70 mg	NR	NR	NR
Caroteno	200-400 UI	200 UI	NR	59,5 µg
Retinol	NR	NR	NR	9,9 µg
Tiamina	0,046 mg	NR	NR	0,1 mg
Riboflavina	0,03-0,04 mg	NR	NR	0,05 mg
Niacina	0,6-1,068 mg	NR	NR	1,08 mg
Vitamina B3	40 UI	40 UI	NR	NR
Viatmina G4	35 UI	35 UI	NR	NR
Vitamina C	NR	300 UI	260 UI	151,4 mg
Taninos	NR	0,95 g	NR	NR

NR= No reportado

**b. De las hojas:** La composición nutritiva de las hojas varía de acuerdo a su grado de madurez, edad del árbol, variedad y disponibilidad de nutrientes del suelo. El contenido de nutrientes en las hojas mostró una marcada correlación con la producción de frutos.<sup>32,</sup>

46

En el complejo ambiental donde crecen las plantas, esencialmente el clima ejerce gran influencia en lo que respecta a los principios activos. La luz, temperatura y precipitaciones, fundamentalmente, tienen un efecto marcado sobre su presencia en las plantas; también la velocidad del viento, factor poco estudiado experimentalmente, es determinante en muchos casos, se conoce que por su acción se incrementa la evaporación de aceite esenciales y que, sin embargo, en el caso de los alcaloides tropánicos, el aumento de la transpiración en las plantas hace que sea mayor el contenido de líquido que asciende por las raíces, por lo que es muy probable, aunque no se ha comprobado, que por esta vía se incremente el contenido en las hojas de estos alcaloides (para aquellas especies que la producen).<sup>32, 46</sup>

*Psidium guajava* tiene mayor proporción de hidrocarburos sesquiterpénicos.<sup>32, 49</sup> El análisis de las esencias por hidrodestilación de material vegetal seco, recolectado en cinco zonas distintas de la Provincia de Corrientes, Argentina demostró que el  $\beta$ -cariofileno aparece en forma constante en todas las esencias analizadas, a diferencia del  $\alpha$ -humuleno que muestra variaciones cuantitativas.<sup>32, 50</sup> Por el contrario, en Nigeria, los principales componentes hallados en *P. guajava* fueron limoneno y  $\beta$ -cariofileno<sup>32, 51</sup>, y en

Brasil, los aceites esenciales predominantes fueron  $\alpha$ -pineno, 1,8-cineol y  $\beta$ bisaboleno.<sup>32</sup>

52

**c. De las semillas:** El análisis cromatográfico de las grasas de las semillas de guayaba reveló 9,4% de lípidos neutros, principalmente triglicéridos; de esta cantidad, 79,1% correspondieron, al ácido linoleico, 7,8% al ácido oleico, y 3,4% al ácido esteárico. Cabe señalar que no hubo diferencia composicional a diferentes estados de desarrollo de las semillas.<sup>32, 53</sup>

### **Composición química:**

Se ha establecido que las hojas de esta planta contienen taninos y fenoles, flavonoides y triterpenos y esteroides, así como de saponinas y compuestos aminados. Se ha reportado un aceite esencial y otras sustancias volátiles. Contiene, además, ácido guajanoico,  $\beta$ -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico; ácido 2- $\alpha$ -hidroxiursólico, morin-3-O- $\alpha$ -L- arabopiranosido, hiperina, miricetina-3-O- $\beta$ -D-glucosido, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosido, 1-O-galoil- $\beta$ -D- glucosa.<sup>3, 54</sup> Se ha informado la presencia de ácido ascórbico y de otros flavonoides, así como azúcares reductores y alcaloides. Se ha aislado una nueva benzofenona y un flavonol de naturaleza galoil-glicósido, conjuntamente con 5 nuevos quercetin-glicósidos. Se ha informado el aislamiento de nuevos flavonoides y de 4 nuevos triterpenos.<sup>3, 55</sup>

### **Actividad farmacológica de principios activos**

El extracto acuoso de las hojas, en dosis de 50-800 mg/kg, vía intraperitoneal, produce un efecto antiinflamatorio en ratas Wistary analgésico en ratones Balb/c; (ambos efectos son dosis dependiente). Se reportó actividad antiinflamatoria, en el modelo de inflamación aguda inducido por carragenina en ratas Wistar.<sup>3, 54</sup>

### **Actividad antidiarreica**

Se ha reportado actividad antibacteriana de amplio espectro para el extracto de las hojas.<sup>53</sup> Comparando los extractos acuosos, alcohólicos y cetónicos de las hojas, frente a veinte cepas de bacterias de interés clínico. El extracto acuoso mostró actividad en el 35% de los casos, el alcohólico en un 65% y el cetónico en el 100% de los casos.<sup>3, 56</sup>

Se señala que la sustancia activa del extracto de hojas es la quercetina. Se ha verificado el efecto espasmolítico que produce. Se ha reportado un efecto dosis dependiente en dosis de 50 a 400 mg/kg (oral) con una disminución de la motilidad intestinal y retardo en el vaciado gástrico. El extracto acuoso de las hojas, disminuye la producción de toxinas lábiles de E. coli y del cólera. Un ensayo clínico realizado concluyó que la tintura al 20% de hoja de *Psidium guajava* tiene efecto antidiarreico importante. En otro, que evaluó el polvo de las hojas secas, también se comprobó este efecto.<sup>3, 56</sup>

### **Obtención del extracto etanólico de *Psidium guajava* “guayaba”**

La extracción del extracto consistió en lo siguiente. Las hojas de *Psidium guajava* fueron lavadas con agua y desinfectadas con alcohol de 70° y secadas por 4 horas en estufa a 50° C. Posteriormente fueron molidas en un molino manual y se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar a razón de 250g de material triturado por cada 1000 mL, de etanol absoluto dejándose macerar por una semana, agitándolo todos los días.

El producto se filtró 3 veces, primero con papel filtro Whatman N° 41, un segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatman, N° 2 y por ultimo un tercer filtrado fue en papel Whatman N° 1. El sobrenadante filtrado se colocó en un Rotavapor con el cual se eliminó el solvente y se obtuvo el extracto que fue secado y pesado y a partir del cual se preparó concentraciones de 1mg/ml, 2mg/ml, 3mg/ml, 4mg/ml, 5mg/ml, 6mg/ml, 7mg/ml, 8mg/ml, 9mg/ml, 10mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14mg/ml, 15 mg/ml, 16mg/ml, 17 mg/ml, 18mg/ml, 19mg/ml y 20mg/ml las que se utilizaron inmediatamente después de preparar.<sup>3</sup>

### **LA GRANADA (*PUNICA GRANATUM*)**

*Punica granatum* (granada) es nativa de la región del norte de la India a Irán. Pero también es ampliamente cultivado ahora en partes del suroeste de los Estados Unidos, California, México, Arizona y África.<sup>57, 58</sup> Los efectos farmacológicos de la granada representan una larga historia y se han mencionado en el griego y documentos egipcios.<sup>59, 60</sup> En Perú es cultivado en Ica, Lima, La Libertad, Tacna, Moquegua y Lambayeque.<sup>11</sup>



### **Fuentes biológicas<sup>61</sup>**

- Nombre científico: *Punica granatum*
- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Myrtales
- Familia: Lythraceae
- Género: *Punica*
- Nombre común: Granada, Anar

### **Valor alimenticio**

Valor de alimentos, minerales y vitaminas por 100gramos de porción comestible:<sup>62</sup>

- Humedad - 78,0%
- Calcio - 10 mg
- Proteína - 1,6%
- Fósforo - 70 mg
- Grasa - 0,1%
- Hierro - 0,3 mg
- Minerales - 0,7%
- vitamina C - 16 mg
- Los hidratos de carbono - 14,5%

- pequeña cantidad de vitamina del complejo B
- Fibra - 5,1%
- Valor calorífico – 65.

### **Características del fruto**

La granada se caracteriza por ser un fruto de forma globosa de aproximadamente 6 a 12 cm de diámetro, con un cáliz en forma de corona. Su corteza va del color amarillo rojizo a verde con zonas rojizas e inclusive al rojo escarlata; es delgada y correosa, cubre una gran cantidad de granos, ordenadamente distribuidas, jugosos y con un sabor que va del agridulce al duce dependiendo de la variedad. Los granos están separados por delgados tabiques membranosos de cualidad astringente. Cada grano tiene como centro una semilla blanquecina de estructura firme, cuya dureza varia.<sup>63, 64</sup>

### **Composición**

Uno de los aspectos que ha cobrado importancia en los últimos años es el contenido de sustancias antioxidantes tales como fenoles, polifenoles y antocianinas de la granada. En recientes investigaciones, a estos componentes se les han atribuido propiedades nutraceuticas y farmacológicas. En diversas variedades de granadas cultivadas en Irán, los compuestos fenólicos totales se encuentran entre 2.4 y 9.3 g/L de jugo, y las antocianinas entre 0.815 y 7.760 g/L.<sup>63, 65</sup>

Usando métodos analíticos se ha detectado la presencia de compuestos antioxidantes prácticamente en todas partes del árbol de granado: corteza, raíz, hojas,

flores y fruto (cascara, jugo y semillas). Los componentes más importantes están en la corteza y as raíces, y son los flavonoides y taninos, los antioxidantes más abundantes.<sup>63,</sup>  
<sup>66</sup> Se encuentran presentes, entre otros, ácido ursólico tocoferol, ácido elagico, quersitina, elagitaninos, luteolina y apigenina. Las hojas son una importante fuente de taninos; contienen glicosidos de apigenina, flavona con propiedades progesténicas y angioplíticas.<sup>63,57</sup> Las flores contienen compuestos que también se encuentran en la cascara y las semillas, como en el caso de los ácidos gálico y ursólico.<sup>63,67</sup> Las semillas conforman de 12 al 20% del peso total del fruto, 99% del aceite extraído de ellas son triacilgliceroles, el 80% es ácido octadecatrienoico, con alto contenido de ácido punísico. Los componentes menores incluyen esteroides, esteroides y cerebrosidos.<sup>63, 57</sup> La matriz de las semillas incluye ligninas y ácidos hidroxicinánicos y derivados de lignina con alto poder antioxidante.<sup>63, 68</sup> El jugo posee principalmente antocianinas y flavonoides, mismos que le confieren su color brillante.<sup>63, 69</sup>

Dentro de diversos estudios referentes a la funcionalidad antioxidantes de los compuestos de la granada, está realizado por Iqbal, quienes obtuvieron extractos metanólicos de la cascara. Estos extractos purificados fueron adicionados al aceite de girasol. Este aceite se sometió a una comparación de funcionalidad antioxidante, contra un aceite adicionado BHT(butil-hidroxi-tolueno), antioxidante sintético de uso convencional en la conservación de grasas y aceites. Se compararon los valores de índice de peróxidos, actividad antioxidante de dienos conjugados y trienos conjugados. Los resultados indicaron que el extracto de cascara de granada es un potente antioxidante de aceite de girasol, comparable al BHT.<sup>63, 70</sup>

Otro estudio demostró la eficiencia de la capacidad antioxidante sobre radicales peróxidos y en la oxidación de lipoproteínas humanas de baja densidad. Las pruebas se realizaron in vitro con extractos purificados, resultado de extracciones realizadas con metanol, con agua y con acetato de etilo, a partir de la cascara y semillas.<sup>63, 71</sup>

Cuadro 2. Componentes químicos por 100 g de porción comestible de granada.<sup>63</sup>

Nutriente	Unidades	Valor por 100 g
Proximal		
Agua	g	77.93
Energía	kcal	83.0
Proteína	g	1.67
Lípidos totales (grasa)	g	1.17
Cenizas	g	0.53
Carbohidratos (por diferencia)	g	18.7
Fibra dietaria total	g	4.0
Azúcares totales	g	13.67
Minerales		
Calcio	mg	10.0
Hierro	mg	0.3
Magnesio	mg	12.0
Fósforo	mg	36.0
Potasio	mg	236.0
Sodio	mg	3.0
Zinc	mg	0.35
Cobre	mg	0.158
Manganeso	mg	0.119
Selenio	mcg	0.5
Vitaminas		
Vitamina C, ácido ascórbico total	mg	10.2
Tiamina	mg	0.067
Riboflavina	mg	0.053
Niacina	mg	0.293
Acido pantoténico	mg	0.377
Vitamina B-6	mg	0.075
Folato total	mcg	38
Colina total	mg	7.6
Vitamina E, alfa-tocoferol	mg	0.6
Vitamina K	mcg	16.4
Lípidos		
Ácidos grasos saturados	g	0.120
Ácidos grasos monoinsaturados	g	0.093
Ácidos grasos poliinsaturados	g	0.079

Adaptada de la USDA (2009).

## Usos tradicionales de la granada

- **Problemas del corazón:** La ingesta frecuente del zumo de granada puede mantener un buen flujo de la sangre en el cuerpo. Junto con esto, disminuye el riesgo de ataques al corazón e infartos cardíacos.
- **Trastorno de estómago:** la cáscara de granada, corteza y las hojas se utilizan para calmar el trastorno estomacal o diarrea provocada debido a cualquier tipo de digestivo problemas. Tomar té hecho de las hojas de esta fruta ayuda a curar problemas digestivos. El zumo de granada también se utiliza para la manipulación problemas de disentería y el cólera.
- **Caries dental:** La mejor ventaja de la granada es que su jugo, junto con sus propiedades antibacterianas y propiedades antivirales, ayuda a reducir los efectos de placa dental.
- **Cáncer:** Granadas consisten avanzada nivel de antioxidantes llamados flavonoides. Estas Se cree que los flavonoides para ser eficaz en contrarrestar diversos radiales cánceres. Las personas que se enfrentan a un alto riesgo de cáncer de próstata y cáncer de mama deberían empezar a beber el jugo de esta fruta, ya que esto les ayudará a reducir aún riesgo de desarrollar cáncer. El consumo regular de granadas puede reducir los niveles de PSA en el cuerpo y ayuda a combatir las células cancerosas existentes en el cuerpo.
- **Osteoartritis:** granada reduce al mínimo la enfermedad activa en diversas formas, como aterosclerosis y la osteoartritis. La pérdida que es disparado debido al engrosamiento y solidificación de las paredes arteriales y en los cartílagos y

articulaciones puede curarse por el consumo de esta fruta. También, granada es capaz de impedir la generación de minerales que son responsables de descomponer los tejidos conectivos.

- **Diabetes:** El consumo de fruta de la granada jugo por un paciente diabético puede evitar coronaria enfermedades. Junto con esto, hay una desaceleración de la solidificación de la circulación sanguínea, el cual puede estimular no ocurrencia de diversas enfermedades del corazón.
- **Anemia:** el flujo sanguíneo saludable puede ser mantenido en el cuerpo por el consumo de esta fruta en cualquier forma. Suministros de semilla de granada extracto de hierro a la sangre y, por tanto, ayudar a disminuir la anemia síntomas que incluyen fatiga, mareo y debilidad y pérdida de oír.<sup>62</sup>

### **Obtención del extracto etanólico de la punica granatum**

Se recolecta el fruto de Punica granatum “granada”, y en el laboratorio, se procedió a quitar la cáscara y separarla del fruto, se realizó el lavado de las cáscaras con abundante agua potable y luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2%, seguidamente se volvió a lavar con agua destilada estéril, para eliminar el cloro residual. Las cáscaras ya cortadas se deshidrataron al horno a 60°C. Luego se trituraron las cáscaras y se colocaron en un frasco grande de vidrio de aproximadamente 1000mL de capacidad. Se procedió luego agregar el doble de etanol al 96 %, es decir en proporción 1:2 para su posterior maceración por 7 días. En seguida guardaron los frascos en un ambiente oscuro.

Pasado el tiempo de maceración, se llevó a cabo el filtrado, con papel filtro Whatman N° 1 y luego se colocó el macerado en crisoles para su evaporación, hasta obtener el extracto seco.<sup>72</sup>

### 2.3 Definición de términos básicos:

- **STREPTOCOCCUS MUTANS:** Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa 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.
- **CULTIVO:** En biología, bacteriología y específicamente en microbiología, un cultivo es un método para multiplicación de microorganismos, tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria.
- **EXTRACTO:** Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales.
- **ANTIBACTERIANO:** Capacidad de matar o destruir o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.

- **PSIDIUM GUAJAVA:** planta cuyo Fruto es de forma aovada, del tamaño de una pera mediana, de varios colores, y más o menos dulce, con la carne llena de unos granillos o semillas pequeñas.
- **PUNICA GRANATUM:** El granado es un pequeño árbol frutal caducifolio de la familia Lythraceae, y cuyo fruto es la granada.
- **BACTERIOSTÁTICO:** Que impide la proliferación de bacterias.
- **BACTERICIDA:** Que destruye las bacterias.
- **CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA:** es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Es la mínima cantidad de antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas. Es el método habitual utilizado en los laboratorios de Microbiología Clínica. Para llevarlo a cabo es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables. Este método nos ofrece información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente).
- **CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA:** es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.



## 2.4 Formulación de hipótesis:

### 2.4.1. Hipótesis general

- **H<sub>i</sub>**: Existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans estudio in vitro.
- **H<sub>0</sub>**: No existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans estudio in vitro.

### 2.4.2. Hipótesis específicas

- **H<sub>1i</sub>**: El extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) tiene efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans según concentración.
- **H<sub>10</sub>**: El extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) no tiene efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans según concentración.
- **H<sub>2i</sub>**: El extracto etanólico de la Punica granatum (granada) tiene efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans según concentración.

- **H2<sub>0</sub>**: El extracto etanólico de la Punica granatum (granada) no tiene efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans según concentración.
- **H3<sub>i</sub>**: El efecto antibacteriano el extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) es mayor que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans.
- **H3<sub>o</sub>**: El efecto antibacteriano el extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) es menor que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans.

## **2.5 Identificación de variables:**

- **Variable independiente**

Extracto etanólico Psidium guajava (guayaba).

Extracto etanólico Punica granatum (granada).

- **Variable dependiente**

Efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans.

## 2.6 Definición y operación de variables, dimensión e indicadores:

VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	VALORES	TIPO DE VARIABLE	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	TÉCNICA
Efecto antibacteriano sobre el <i>Streptococcus mutans</i>	Efecto inhibitorio medición de Halo	Halo de 0mm- NN mm	Cuantitativo ordinal continua	Formulario de medición	Observación (método de microdilución, método del disco)
	Efecto inhibitorio medición en el tiempo	En 24 horas			Observación (medición)
		En 72 horas			Observación (medición)
VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	VALORES	TIPO DE VARIABLE	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	TÉCNICA
Extracto de <i>Psidium guajava</i> (guayaba)	Modo de aplicación (concentración)	100%	Cuantitativo ordinal discreta	Formulario de fase experimental	Registro y observación
		75%			
		50%			
		25%			
		12,5%			
Extracto de <i>Punica granatum</i> (granada)	Modo de aplicación (concentración)	100%	Cuantitativo ordinal discreta	Formulario de fase experimental	Registro y observación
		75%			
		50%			
		25%			
		12,5%			

## CAPITULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Nivel y tipo de investigación

- **Nivel**

Las características de la investigación a realizarse y de acuerdo a los objetivos planteados determinan un estudio:

- **EXPLICATIVO:** Explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.<sup>73</sup>

- **Tipo**

**INVESTIGACIÓN CUANTITATIVA:** Ha sido la más empleada y la más difundida; estudia un fenómeno en forma cuantitativa, por lo que utiliza la estadística para describir, analizar, explicar, predecir y aplicar los resultados a fin de solucionar una determinada situación problemática.<sup>74, 75</sup>

Las características de la investigación a realizarse y de acuerdo a los objetivos planteados determinan un estudio:

**1. Según la intervención del Investigador:**

- **EXPERIMENTAL:** Siempre son prospectivos, longitudinales, analíticos y de nivel investigativo “explicativo” (causa – efecto); además de ser “controlados”.<sup>73</sup>

**2. Según la planificación de la toma de datos**

- **PROSPECTIVO:** Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.<sup>73</sup>

**3. Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio**

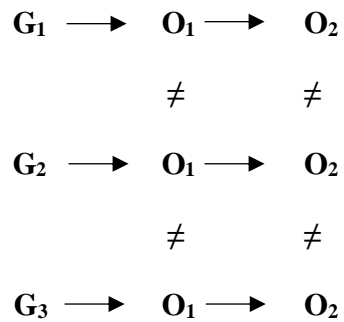
- **LONGITUDINAL:** La variable de estudio es medida en dos o más ocasiones; por ello, de realizar comparaciones (antes – después) son entre muestras relacionadas.<sup>73</sup>

**4. Según el número de variables de interés.**

- **ANALÍTICO:** El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.<sup>73</sup>

## 3.2 Diseño y método de la investigación

### 3.2.1 Diseño



#### Leyenda:

G<sub>1</sub> Grupo experimental 1

G<sub>2</sub> Grupo experimental 2

G<sub>3</sub> Grupo control

O<sub>1</sub> Observación 1

O<sub>2</sub> Observación 2

≠ Diferencia entre las observaciones

- o **In vitro**, Porque el estudio se realizará en unos medios de cultivo que sirven para el desarrollo de las bacterias, y se manejará todo en un laboratorio de microbiología.
- o **Experimental**,
  - **Cuasi-experimental**: Cuando no hay grupo control, no es posible realizar la asignación aleatoria, se realiza dos mediciones en el mismo grupo.<sup>73</sup>

### **3.2.2 Método**

#### **a) Obtención del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada)**

La metodología de extracción del extracto etanólico consistió en lo siguiente:

Los componentes que se utilizaron en esta investigación fueron las hojas de *Psidium guajava* (guayaba) y la cáscara de *Punica granatum* (granada).

La recolección de las hojas *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) se llevó a cabo en el distrito de Santa María del Valle, provincia de Huánuco, departamento de Huánuco con una altitud de 1 916 msnm.

Las hojas de *Psidium guajava* (guayaba) y la fruta de *Punica granatum* (granada) fueron llevadas al laboratorio químico de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán.

Las hojas de *Psidium guajava* (guayaba) fueron lavadas con agua, desinfectadas con alcohol a 70° y secadas por 1 hora en la estufa a 50°C. Posteriormente fueron trituradas y molidas con la ayuda de la extractora, luego fueron colocadas en frascos de vidrio de color ámbar de 200 ml para luego embeberlo con alcohol etílico rectificado a 96° y dejándose macerar por 2 semanas, agitándolos una vez al día.

Luego de los 14 días el producto se filtró 2 veces con la ayuda de un embudo de laboratorio y una gasa estéril, dejando sobre la superficie de la gasa

los restos solidos de las hojas de *Psidium guajava* (guayaba), dejando pasar la sustancia liquida. Con el extracto etanólico ya filtrado se preparó en diferentes concentraciones: 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%, llevándolos en sus respectivos recipientes codificados:

- GU 100%
- GU 75%
- GU 50%
- GU 25%
- GU 12,5%

Similar procedimiento se llevó a cabo con la cáscara de *Punica granatum* (granada), luego de lavar la fruta se procedió a descascarillarla, utilizando solo la cáscara de *Punica granatum* que fueron lavadas con agua, desinfectadas con alcohol a 70° y secadas por 1 hora en la estufa a 50°C. Posteriormente fueron trituradas, molidas y degradadas con la ayuda de la extractora, luego fueron colocadas en frascos de vidrio de color ámbar de 200 ml para luego embeberlo con alcohol etílico rectificado a 96° y dejándose macerar por 2 semanas, agitándolos una vez al día.

Luego de los 14 días el producto se filtró 2 veces con la ayuda de un embudo de laboratorio y una gasa estéril, dejando sobre la superficie de la gasa los restos solidos de la cáscara de *Punica granatum* (granada) y dejando pasar la sustancia liquida. Con el extracto etanólico ya filtrado se preparó en diferentes



concentraciones: 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%, llevándolos en sus respectivos recipientes codificados:

- GR 100%.
- GR 75%.
- GR 50%.
- GR 25%.
- GR 12,5%.

#### **b) Obtención del cultivo puro del *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

El cultivo puro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, lo proporcionó el laboratorio de Microbiología Gen Lab del Perú S.A.C.

#### **c) Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Dicha cepa se reactivó en 2 placas Petri con Agar Columbia (Agar sangre), realizando el hisopado de la bacteria sobre la superficie de la placa. Las placas con *S. mutans* se incubaron a 37° C en Jarra Gaspak (para generar las condiciones de anaerobiosis) en una estufa de Laboratorio durante 24 horas.

#### **d) Preparación y estandarización del inóculo**

A partir del cultivo puro del *Streptococcus mutans*, con un desarrollo de 24 horas en placa de Agar Columbia, se seleccionaron 5 colonias bien aisladas y del mismo tipo morfológico.

Se tomaron 5 colonias seleccionadas con la ayuda del asa de siembra estéril y se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía 5 mL de suspensión de agua destilada estéril, donde se incubó hasta obtener una turbidez final equivalente al 0,5 de la escala de Mc Farland, que corresponde a  $10^8$  UFC/mL.

#### **e) Sembrado de la cepa en el agar Müller-Hinton**

La cepa reconstituida se sembró en 10 placas petri que contenían Agar Müller-Hinton con la técnica de difusión, de la siguiente manera:

- Se sumergió un hisopo de algodón estéril en el inóculo, luego se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso del inóculo.
- Se inoculó en la superficie seca de la placa de Müller-Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo sobre la placa.
- Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.
- Luego fueron codificadas de la siguiente manera:
  - Placa A100%.
  - Placa B100%.
  - Placa A75%.

- Placa B75%.
- Placa A50%.
- Placa B50%.
- Placa A25%.
- Placa B25%.
- Placa A12,5%.
- Placa B12,5%.

#### **f) Preparación y colocación de los discos de papel**

Los discos de papel tuvieron un diámetro de 6mm y un espesor de 0.02mm, los discos de papel fueron codificadas del 1 al 20 y utilizando una pinza se colocó en el Agar Müller-Hinton y se procedió de la siguiente manera:

- Disco 1 y disco 2 se colocó en la placa A100%.
- Disco 3 y disco 4 se colocó en la placa B100%.
- Disco 5 y disco 6 se colocó en la placa A75%.
- Disco 7 y disco 8 se colocó en la placa B75%.
- Disco 9 y disco 10 se colocó en la placa A50%.
- Disco 11 y disco 12 se colocó en la placa B50%.
- Disco 13 y disco 14 se colocó en la placa A25%.
- Disco 15 y disco 16 se colocó en la placa B25%.
- Disco 17 y disco 18 se colocó en la placa A12,5%.
- Disco 19 y disco 20 se colocó en la placa B12,5%.

### **g) Inoculación de la muestra**

Una vez colocados los discos de papel en el Agar Müller-Hinton y ordenadas sistemáticamente, con la ayuda de un gotero se colocó en los discos de papel las muestras del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada), según la concentración indicada en los códigos de las placas, se procedió de la siguiente manera:

- Placa A100%: disco 1 y disco 2 se colocó el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) al 100%.
- Placa B100%: disco 3 y disco 4 se colocó el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) al 100%.
- Placa A75%: disco 5 y disco 6 se colocó el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) al 75%.
- Placa B75%: disco 7 y disco 8 se colocó el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) al 75%.
- Placa A50%: disco 9 y disco 10 se colocó el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) al 50%.
- Placa B50%: disco 11 y disco 12 se colocó el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) al 50%.
- Placa A25%: disco 13 y disco 14 se colocó el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) al 25%.
- Placa B25%: disco 15 y disco 16 se colocó el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) al 25%.

- Placa A12,5%: disco 17 y disco 18 se colocó el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) al 12,5%.
- Placa B12,5%: disco 19 y disco 20 se colocó el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) al 12,5%.

#### **h) Incubación de la muestra**

Luego de colocar los extractos en los discos, se cubrieron las placas petri, y se colocaron en una incubadora en posición invertida en un ambiente de microaerofilia a 37 °C.

### **3.3 Determinación de la población y muestra**

#### **3.3.1 Población**

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### **3.3.2 Muestra**

10 placas de cultivo conteniendo *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Tipo de muestra:** Probabilístico intencional por conveniencia.

**Unidad de análisis:** Placas de cultivo con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### **3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.4.1 Técnica:**

- Observación: Se observó la medida de separación de los halos inhibitorios en milímetros mediante la ayuda de la regla vernier.

#### **3.4.2 Instrumento:**

- Formulario de la fase experimental:

En el formulario de la fase experimental se incluyó los datos de la preparación de los extractos etanólicos de la *Psidium guajava* y *Punica granatum* según sus diferentes concentraciones.

- Formulario de medición:

En el formulario de medición se registró la medida de separación de los halos inhibitorios en milímetros.

### **3.5 Técnicas de procesamiento, análisis de datos**

#### **3.5.1 Técnicas de procesamiento**

Se aplicó la prueba estadística de Análisis de Varianza de un factor (ANOVA) ya que sirvió para comparar la varianza entre las medias de los grupos de estudio (experimental y control) y la varianza dentro de estos grupos, a manera de determinar si los grupos de estudio presentan diferencias significativas. También, se utilizó el Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA), con un

nivel de significancia del 95%, puesto que es una metodología para analizar la variación entre muestras y la variación al interior de las mismas mediante la determinación de varianzas.

Además, se empleó el análisis de TUKEY, el cual nos determinará la deferencia entre medias de las muestras en el tiempo.

### **3.5.2 Análisis de datos**

La información recolectada se procesó mediante el paquete estadístico SPSS 23 versión en español de Windows. Utilizando además una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2010 para la representación gráfica correspondiente.

## CAPITULO IV

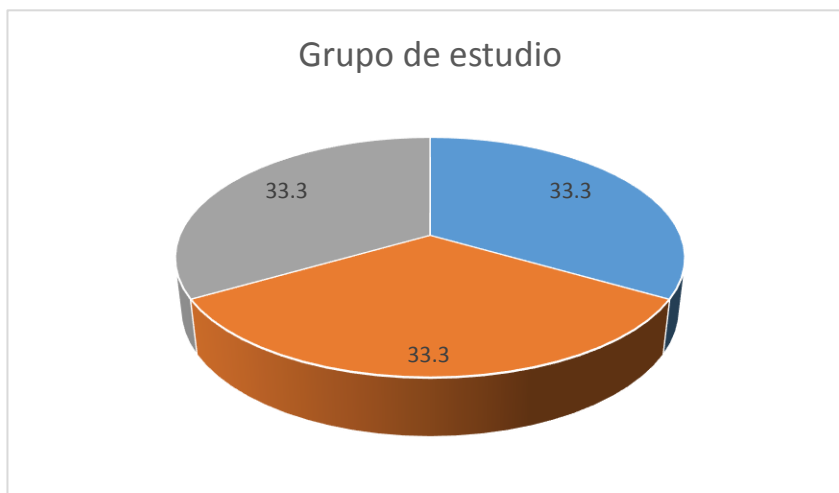
### RESULTADOS

#### A. Análisis descriptivo univariado

**Tabla 1. Grupo de estudio (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

	Tipo de extracto Frecuencia	Porcentaje
Grupo experimental A	10	33.3
Grupo experimental B	10	33.3
Grupo control	10	33.3
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



**Figura 1.** Proporción de los grupos de estudio (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

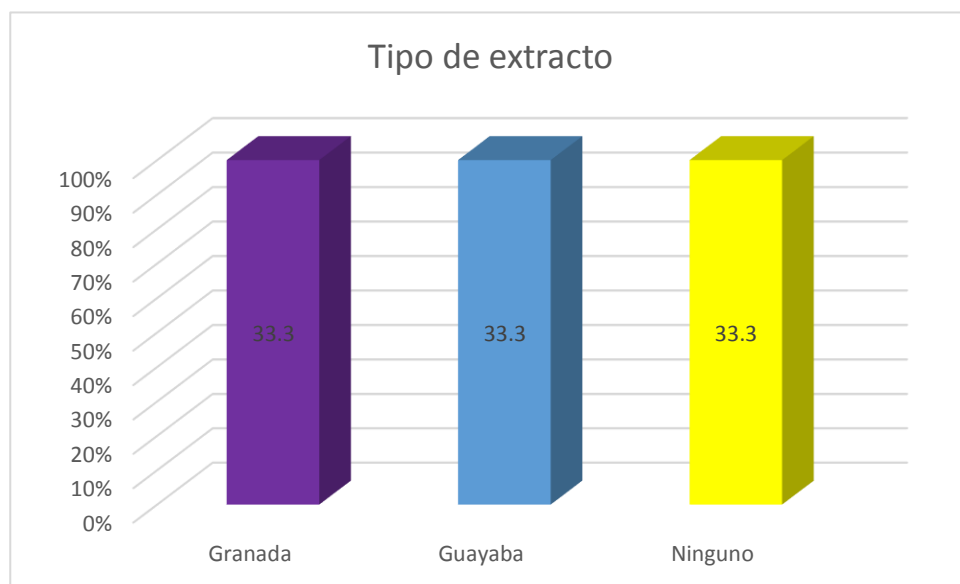
En la tabla 1 se observa tres grupos de estudio, 33,3(10) pertenece al grupo experimental A, 33,3(10) pertenece al grupo experimental B y 33,3(10) al grupo control.



**Tabla 2. Tipo de extracto etanólico (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

	<b>Tipo de extracto</b>	
	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Granada</b>	10	33.3
<b>Guayaba</b>	10	33.3
<b>Ninguno</b>	10	33.3
<b>Total</b>	30	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



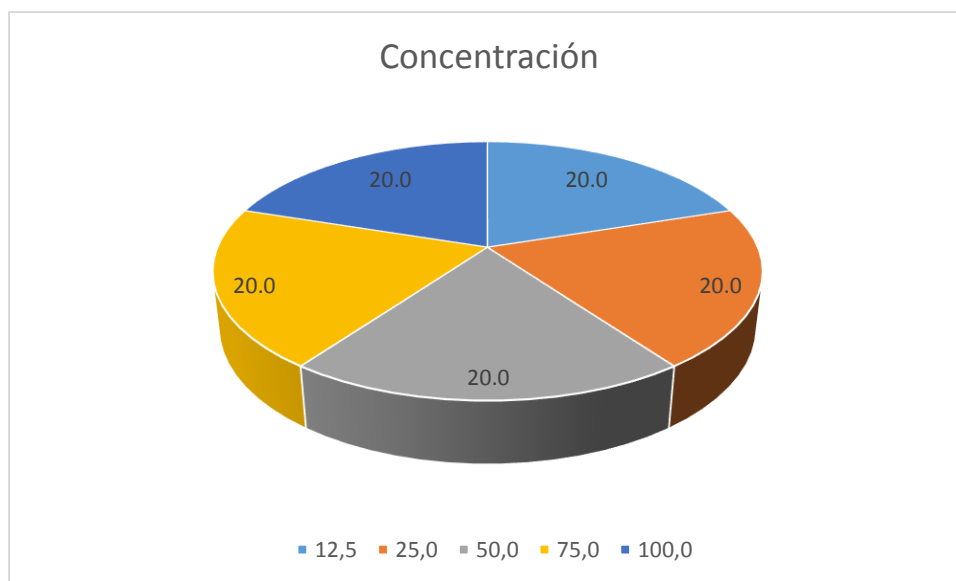
**Figura 2.** Proporción de los grupos de estudio (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

En la tabla 2 se observa tres grupos de estudio, 33,3(10) pertenece al extracto etanólico *Punica granatum* (granada), 33,3(10) pertenece al extracto etanólico *Psidium guajava* (guayaba) y 33,3(10) pertenece a ninguno.

**Tabla 3. Concentración de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Concentración		
	Frecuencia	Porcentaje
12,5%	2	20.0
25,0%	2	20.0
50,0%	2	20.0
75,0%	2	20.0
100,0%	2	20.0
Total	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



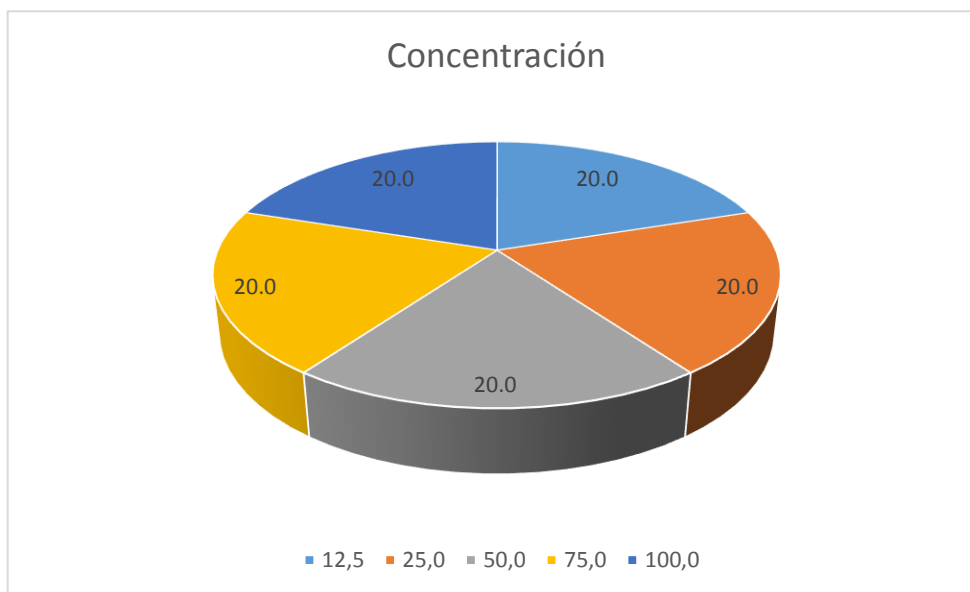
**Figura 3.** Concentración de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

En la tabla 3 se observa grupos de estudio, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Punica granatum (granada) 12.5%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Punica granatum (granada) 25.0%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Punica granatum (granada) 50.0%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Punica granatum (granada) 75% y 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Punica granatum (granada) 100%,

**Tabla 4. Concentración de tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Concentración		
	Frecuencia	Porcentaje
<b>12,5%</b>	2	20.0
<b>25%</b>	2	20.0
<b>50%</b>	2	20.0
<b>75%</b>	2	20.0
<b>100,0%</b>	2	20.0
<b>Total</b>	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



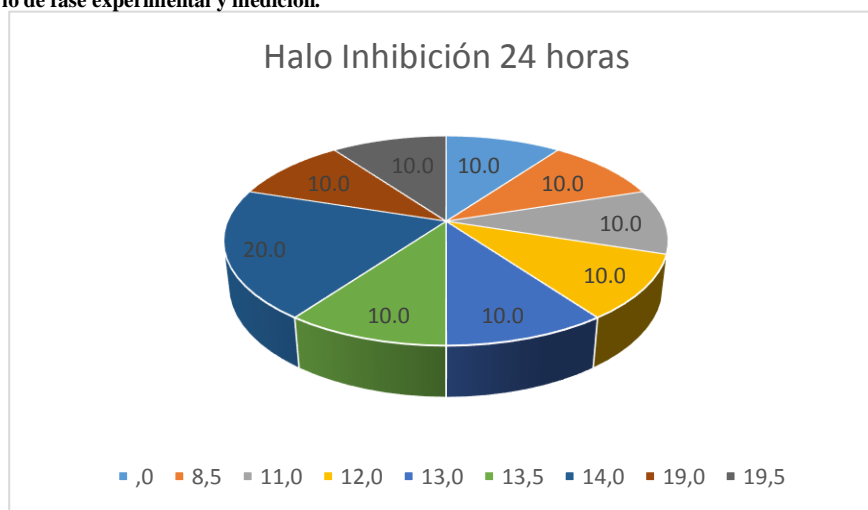
**Figura 4.** Concentración de tipo de extracto de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

En la tabla 4 se observa grupos de estudio, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Psidium guajava (guayaba) 12.5%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Psidium guajava (guayaba) 25.0%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Psidium guajava (guayaba) 50.0%, 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Psidium guajava (guayaba) 75% y 20 % (2) presenta una concentración etanólico de Psidium guajava (guayaba) 100%.

**Tabla 5. Halo inhibitorio 24 horas de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 24 h		
	Frecuencia	Porcentaje
0mm	1	10.0
8,5mm	1	10.0
11mm	1	10.0
12mm	1	10.0
13mm	1	10.0
13,5mm	1	10.0
14mm	2	20.0
19mm	1	10.0
19,5mm	1	10.0
Total	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



**Figura 5.** Halo inhibitorio 24 horas de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

En la tabla 5 se observa grupos de estudio, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 0 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 8,5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 11 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 12 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13,5 mm, 10%(2)

pertenece a un halo de inhibición de categoría 14 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 19 mm y 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 19,5 m.

**Tabla 6. Halo inhibitorio de 24 horas tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 24 h		
	Frecuencia	Porcentaje
8,5mm	1	10.0
9mm	1	10.0
13mm	1	10.0
14,5mm	1	10.0
15mm	2	20.0
16mm	1	10.0
19mm	1	10.0
20,5mm	1	10.0
21mm	1	10.0
Total	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



**Figura 6.** Halo inhibitorio de 24 horas de tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.

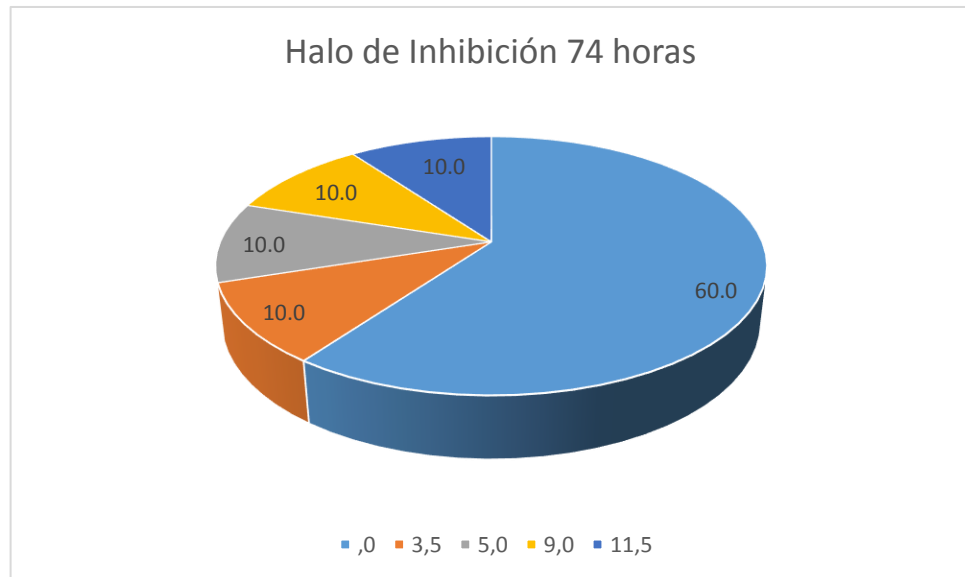
En la tabla 6 se observa grupos de estudio, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 8,5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 9 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 14,5 mm, 10%(2) pertenece a un halo de inhibición de

categoría 15 mm., 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 16 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 19 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 20,5 mm y 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 21 mm.

**Tabla 7. Halo inhibitorio 72 horas de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 72 h		
	Frecuencia	Porcentaje
0mm	6	60.0
3,5mm	1	10.0
5mm	1	10.0
9mm	1	10.0
11,5mm	1	10.0
Total	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



**Figura 7. Halo inhibitorio de 72 horas de tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

En la tabla 7 se observa grupos de estudio, 60%(6) pertenece a un halo de inhibición de categoría 0 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 3,5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 9 mm y 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 11,5 mm.



**Tabla 8. Halo inhibitorio de 72 horas tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 72 h		
	Frecuencia	Porcentaje
8mm	1	10.0
8,5mm	1	10.0
13mm	1	10.0
13,5mm	1	10.0
15mm	1	10.0
16mm	1	10.0
18mm	1	10.0
20mm	1	10.0
22mm	1	10.0
22,5mm	1	10.0
Total	10	100.0

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.



**Figura 8. Halo inhibitorio de 72 horas de tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

En la tabla 8 se observa grupos de estudio, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 8 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 8,5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13,5 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de

categoría 15 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 16 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 18 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 20 mm, 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 22 mm y 10%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 22,5 mm.

## B. Análisis descriptivo Bivariado

**Tabla 9. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* (Estudio in vitro) en el tiempo de 24 y 72 horas, Huánuco 2017.**

Halo Inhibitorio		Tipo de extracto			Total
		Granada	Guayaba	Ninguno	
0mm	N°	7	0	20	27
	%	11.7%	0.0%	33.3%	45.0%
3.5mm	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
5mm	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
8mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
8.5mm	N°	1	2	0	3
	%	1.7%	3.3%	0.0%	5.0%
9mm	N°	1	1	0	2
	%	1.7%	1.7%	0.0%	3.3%
11mm	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
11.5mm	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
12mm	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
13mm	N°	1	2	0	3
	%	1.7%	3.3%	0.0%	5.0%
13.5mm	N°	1	1	0	2
	%	1.7%	1.7%	0.0%	3.3%
14mm	N°	2	0	0	2
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
14.5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
15mm	N°	0	3	0	3
	%	0.0%	5.0%	0.0%	5.0%
16mm	N°	0	2	0	2
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
18mm	N°	0	1	0	1

	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>19mm</b>	N°	1	1	0	2
	%	1.7%	1.7%	0.0%	3.3%
<b>19.5mm</b>	N°	1	0	0	1
	%	1.7%	0.0%	0.0%	1.7%
<b>20mm</b>	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>20.5mm</b>	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>21mm</b>	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>22mm</b>	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>22.5mm</b>	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%
<b>Total</b>	N°	20	20	20	60
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 9 se observa grupos de estudio, 3.3%(2) pertenece a un halo de inhibición de categoría 14 mm del extracto etanólico de *Punica granatum* (granada), 5.0%(3) pertenece a un halo de inhibición de categoría 15 mm del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba), 3.3%(2) pertenece a un halo de inhibición de categoría 16 mm del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) y 3.3%(2) pertenece a un halo de inhibición de categoría 13 mm del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba).

**Tabla 10. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* (Estudio in vitro) en el tiempo de 24 horas, Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 24 h		Tipo de extracto			Total
		Granada	Guayaba	Ninguno	
0	N°	1	0	10	11
	%	3.3%	0.0%	33.3%	36.7%
8,5mm	N°	1	1	0	2
	%	3.3%	3.3%	0.0%	6.7%
9mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
11mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
12mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
13mm	N°	1	1	0	2
	%	3.3%	3.3%	0.0%	6.7%
13,5mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
14mm	N°	2	0	0	2
	%	6.7%	0.0%	0.0%	6.7%
14,5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
15mm	N°	0	2	0	2
	%	0.0%	6.7%	0.0%	6.7%
16mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
19mm	N°	1	1	0	2
	%	3.3%	3.3%	0.0%	6.7%
19,5mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
20,5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
21mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
Total	N°	10	10	10	30
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 10 se observa grupos de estudio, 6.7%(2) pertenece a un halo de inhibición de categoría 14 mm del extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) y 6.7%(2) pertenece a un halo de inhibición de categoría 15 mm del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba).

**Tabla 11. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* (Estudio in vitro) en el tiempo de 72 horas, Huánuco 2017.**

Halo de Inhibición 72 h		Tipo de extracto			Total
		Granada	Guayaba	Ninguno	
0mm	N°	6	0	10	16
	%	20.0%	0.0%	33.3%	53.3%
3,5mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
5mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
8mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
8,5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
9mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
11,5mm	N°	1	0	0	1
	%	3.3%	0.0%	0.0%	3.3%
13mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
13,5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
15mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
16mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
18mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
20mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
22mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
22,5mm	N°	0	1	0	1
	%	0.0%	3.3%	0.0%	3.3%
Total	N°	10	10	10	30
	%	33.3%	33.3%	33.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 11 se observa grupos de estudio, 3,3%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 11,5 mm del extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) 3,3%(1) pertenece a un halo de inhibición de categoría 22,5 mm del extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba).



**Tabla 12. Diferencia en concentraciones del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans. (Estudio in vitro), Huánuco 2017.**

Tipo de extracto		Concentración						Total
		0%	12,5%	25%	50%	75%	100%	
<b>Granada</b>	N°	0	4	4	4	4	4	20
	%	0.0%	6.7%	6.7%	6.7%	6.7%	6.7%	33.3%
<b>Guayaba</b>	N°	0	4	4	4	4	4	20
	%	0.0%	6.7%	6.7%	6.7%	6.7%	6.7%	33.3%
<b>Ninguno</b>	N°	20	0	0	0	0	0	20
	%	33.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	33.3%
<b>Total</b>	N°	20	8	8	8	8	8	60
	%	33.3%	13.3%	13.3%	13.3%	13.3%	13.3%	100.0%

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

En la tabla 12 se observa grupos de estudio, 6.7%(4) pertenece a una concentración de 100% en el tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada) , 6.7%(4) pertenece a una concentración de 75% en el tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 50% en el tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 25% en el tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 12,5% en el tipo de extracto etanólico de Punica granatum (granada), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 100% en el tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 75% en el tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 50% en el tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba), 6.7%(4) pertenece a una concentración de 25% en el tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba) y 6.7%(4) pertenece a una concentración de 12,5% en el tipo de extracto etanólico de Psidium guajava (guayaba).

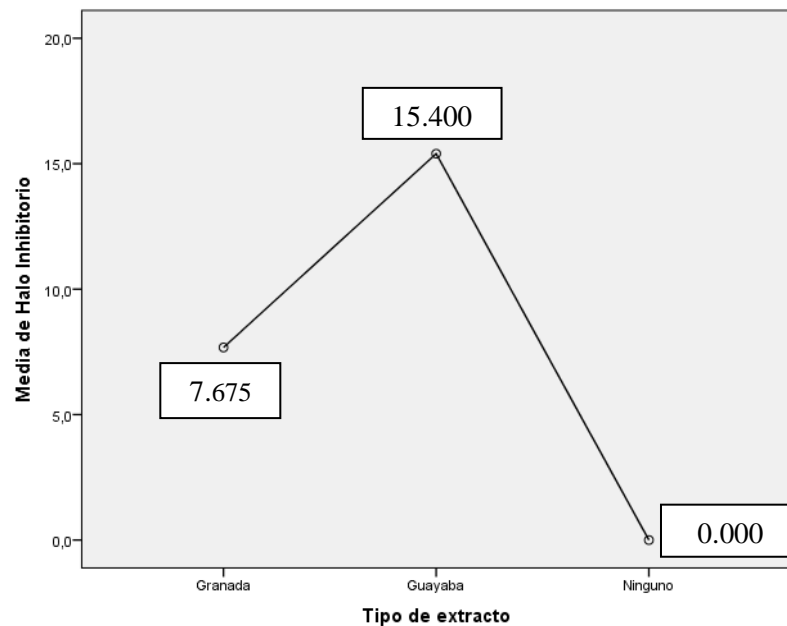
**Tabla 13. Estadísticos descriptivos de halo de inhibición del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans**

Variable medición	Tipo de extracto etanólico	N	Media (mm)	DE*	IC**95%	
					LI	LS
Halo Inhibitorio	Granada	10	7.675	6.86	4.464	10.886
	Guayaba	10	15.4	4.59	13.252	17.548
	Ninguno	10	0	0	0	0
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>7.692</b>	<b>7.8827</b>	<b>5.655</b>	<b>9.728</b>

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

DE\*\*: desviación estándar

\*\*IC: Intervalo de confianza 95% LI: límite inferior. LS: límite superior



**Figura 9. Estimación de medias marginales de halo de inhibición del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans**

En la tabla 13 se aprecian los resultados estadísticos de las variables, halo de inhibición y tipo de extracto etanólico. Comparando los tipos de extracto etanólico *Punica granatum* (granada) se observa un efecto de  $7.675 \pm 6.86$ , y al utilizar tipo de extracto etanólico *Psidium guajava* (guayaba)  $15.4 \pm 4.59$ . Por lo tanto, existe un mejor efecto al usar extracto etanólico *Psidium guajava* (guayaba). En un estudio similar se pueden obtener los mismos resultados considerando el intervalo de confianza al 95% (IC<sub>95%</sub>) de cada tipo de extracto etanólico.

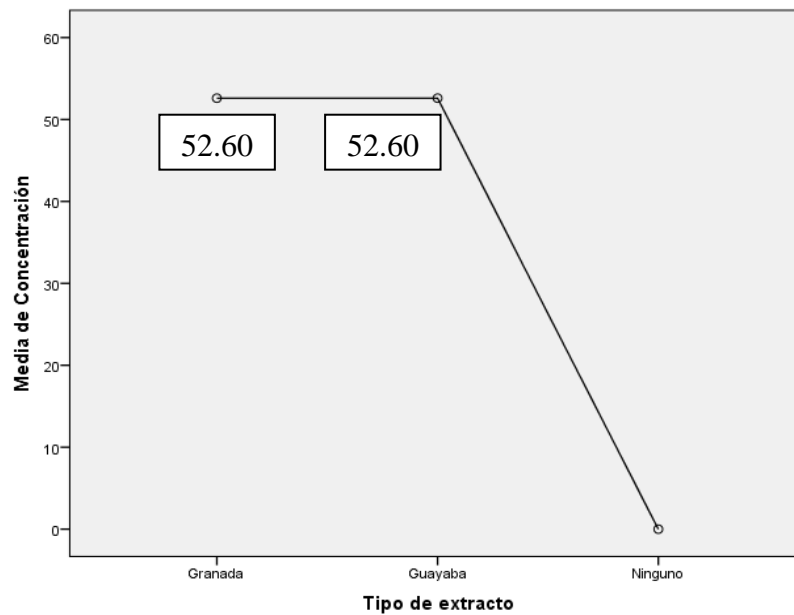
**Tabla 14. Estadísticos descriptivos de la diferencia de concentraciones del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans**

Variable medición	Tipo de extracto etanólico	N	Media (%)	DE*	IC	
					LI	LS
Concentración	Granada	10	52.60	32.720	37.29	67.91
	Guayaba	10	52.60	32.720	37.29	67.91
	Ninguno	10	0.00	0.000	0.00	0.00
	<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>35.07</b>	<b>36.260</b>	<b>25.70</b>	<b>44.43</b>

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

DE\*\*: desviación estándar

\*\*IC: Intervalo de confianza 95% LI: límite inferior. LS: límite superior



**Figura 10. Estimación de medias marginales de la diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y de la Punica granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans**

En la tabla 14 se aprecian los resultados estadísticos de las variables concentración y tipo de extracto etanólico. Comparando el tipo de extracto etanólico *Punica granatum* (granada) se observa una concentración de  $52.60\% \pm 32.720$  y al utilizar tipo de extracto etanólico *Psidium guajava* (guayaba) se observa una concentración de  $52.60\% \pm 32.720$ .

### C. Prueba de hipótesis

La contrastación de las hipótesis requirió el uso estadístico de la prueba de Análisis de la Varianza de un factor (ANOVA) y del Análisis Multivariante de la Varianza (MANOVA).

**Tabla 15. Análisis de varianza de un factor de la concentración y halo de inhibición según los extractos etanólicos en las unidades de estudio, Huánuco 2017.**

Variable de medición		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	P valor
Concentración	Entre grupos	36890.133	2	18445.067	25.844	0.000
	Dentro de grupos	40681.600	57	713.712		
	Total	77571.733	59			
Halo Inhibitorio	Entre grupos	2371.608	2	1185.804	52.216	0.000
	Dentro de grupos	1294.438	57	22.709		
	Total	3666.046	59			

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

El ANOVA unifactorial indica que existen diferencias en la variable de halo de inhibición al ser sometido a los extractos etanólicos (F: 52.216 y p valor 0.000, el que es menor al 5% de error alfa). De la misma manera forma se aprecia que existen diferencias en la variable concentración con la variable tipo de extracto etanólico (F: 25.844 y p valor 0.000, el que es menor al 5% de error alfa); por lo que una probabilidad de error al 0.0%, existen diferencias al usar extractos etanólicos en halo de inhibición y concentración sobre el *Streptococcus mutans*. Esto se aclara en la siguiente tabla.

**Tabla 16. Análisis Multivariante de la varianza pruebas post hoc Tukey de las variables inhibición del halo y concentración según extractos etanólicos 2017.**

Comparación de las variables de medición			DM+	ES	P valor	IC**95%	
						LI	LS
<b>Concentración</b>	Granada	Guayaba	0.000	8.448	1.000	-20.33	20.33
		Ninguno	52,600*	8.448	.000	32.27	72.93
	Guayaba	Granada	0.000	8.448	1.000	-20.33	20.33
		Ninguno	52,600*	8.448	.000	32.27	72.93
	Ninguno	Granada	-52,600*	8.448	.000	-72.93	-32.27
		Guayaba	-52,600*	8.448	.000	-72.93	-32.27
<b>Halo Inhibitorio</b>	Granada	Guayaba	-7.7250*	1.5070	.000	-11.351	-4.099
		Ninguno	7.6750*	1.5070	.000	4.049	11.301
	Guayaba	Granada	7.7250*	1.5070	.000	4.099	11.351
		Ninguno	15.4000*	1.5070	.000	11.774	19.026
	Ninguno	Granada	-7.6750*	1.5070	.000	-11.301	-4.049
		Guayaba	-15.4000*	1.5070	.000	-19.026	-11.774

Fuente: Formulario de fase experimental y medición.

+DM: diferencia de medias.

DE\*\*: desviación estándar

\*\*IC: Intervalo de confianza 95% LI: límite inferior. LS: límite superior

### **Comparación de medias en la variable concentración y tipo de extracto etanólico**

La diferencia de medias (DM) 0.000 y p valor: 1:000 ( $p>0.05$ ) se obtiene al comparar el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) con el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) indica que no existe diferencia, al comparar de extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) con ninguno se aprecia que la (DM) 52.600 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

La diferencia de medias (DM) 0.000 y p valor: 1:000 ( $p>0.05$ ) se obtiene al comparar el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) con el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) indica que no existe diferencia, al comparar de *Psidium guajava* (guayaba) con ninguno se aprecia que la (DM) 52.600 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

La diferencia de medias (DM) -52.600 y p valor: 0.000 ( $p<0.05$ ) se obtiene al comparar ninguno con el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) indica que existe diferencia, al comparar ninguno con el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) se aprecia que la (DM) -52.600 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

### **Comparación de medias en la variable halo de inhibición y tipo de extracto etanólico**

La diferencia de medias (DM) -7.7250 y p valor: 0:000 ( $p<0.05$ ) se obtiene al comparar el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) con el extracto etanólico de



la *Psidium guajava* (guayaba) indica que existe diferencia, al comparar el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) con ninguno se aprecia que la (DM) 7.6750 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

La diferencia de medias (DM) 7.7250 y p valor: 0:000 ( $p < 0.05$ ) se obtiene al comparar el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) con el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) indica que existe diferencia, al comparar el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) con ninguno se aprecia que la (DM) 15.4000 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

La diferencia de medias (DM) -7.6750 y p valor: 0.000 ( $p < 0.05$ ) se obtiene al comparar ninguno con el extracto etanólico *Punica granatum* (granada) indica que existe diferencia, al comparar ninguno con el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) se aprecia que la (DM) -15.4000 y un P valor: 0.000 con una diferencia significativa.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis de investigación ( $H_i$ ). Existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio in vitro.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula ( $H_{10}$ ) y se acepta la hipótesis de investigación ( $H_{1i}$ ). El extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) tiene efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* según concentración.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H2o) y se acepta la hipótesis de investigación (H2i). El extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) tiene efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* según concentración.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H3o) y se acepta la hipótesis de investigación (H3i). El efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) es mayor que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans*.

## **CAPITULO V**

### **DISCUSIÓN**

En esta investigación se propuso comprobar la diferencia entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* bacteria responsable del inicio y progresión de la caries.

La caries es una enfermedad que afecta a la población en general y en mayor porcentaje a las personas de bajos recursos.

La bacteria predominante en la caries es el *Streptococcus mutans* por la cual se llevó a cabo esta investigación. Que, mediante los extractos etanólicos de las hojas de guayaba y la cáscara de granada inhibirá a dicha bacteria, otorgándoles efecto antibacteriano.

Habiendo realizado dicha investigación, en los resultados se mostró que Existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio in vitro. En donde la *psidium guajava* obtuvo una media de 15.4mm y una desviación estándar de 4.59 mientras que la *punica granatum* obtuvo una media de 7.675mm y una desviación estándar de 6.86 demostrando una diferencia significativa.

Al comprobar que el extracto etanólico de la *psidium guajava* posee efecto antibacteriano, se asemejan al estudio realizado por NELCE M, et al.<sup>6</sup> Donde mostró que

los extractos taninos pueden inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*. Y también al estudio realizado por BISWAS B, et al.<sup>7</sup> Donde mostró que los extractos de metanol y etanol de las hojas de guayaba presentaban actividad inhibitoria frente a bacterias Gram-positivas, mientras que las bacterias Gram-negativas eran resistentes a todos los extractos de disolventes. Otra investigación que mostro semejanza es el estudio realizado por CHERO D, RUIZ M.<sup>11</sup> Quien en sus resultados determinó la mayor inhibición se encontró con el extracto alcohólico de *Psidium guajava* y fue a la concentración de 18 mg/ml obteniéndose un halo superior a los 28 mm. En el caso del extracto alcohólico de *Medicago sativa* la mayor inhibición se obtuvo a la concentración de 9 mg/ml, pero dicha inhibición no fue significativa.

Así mismo se relaciona con en el estudios realizados por SÁNCHEZ F.<sup>14</sup> Donde mostro que la guayaba no solo es antibacteriano y que también presenta efectos antimicóticos frente a *Trichophyton sp.* y *Microsporum sp.* con resultados bajos en la medición de halos inhibitorios.

Al comprobar que el extracto etanólico de la *punica granatum* presenta efecto antibacteriano, se asemeja al estudio realizado por DE SOUZA V, CORREIA S, VIEIRA P, et al.<sup>9</sup> Donde mostró que la *Punica granatum* gel tuvo una mayor eficiencia en la inhibición microbiana de la adhesión que el miconazol. También se encontró similitudes con el estudio realizado por ABDOLLAHZADEH S, MASHOUF R, MORTAZAVI H, et al.<sup>10</sup> Donde determino que la *punica granatum* tenían la actividad antibacteriana contra

*S. aureus* y *S. epidermidis*. También se halló similitudes con el estudio realizado por BERNAL S, RODRÍGUEZ H, SALAZAR C.<sup>12</sup> Donde demostró que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) para *S. aureus* y *S. aureus* ATCC 25923 es a partir de la concentración 7,88 mg/mL, mientras que para *P. aeruginosa* es a partir de 31.25 mg/mL del extracto hidroalcohólico de cáscaras de frutos maduros de *P. granatum*.

Así mismo se relación con el estudio realizado por ROJAS J, RONCEROS S, PALACIOS O.<sup>13</sup> Mostró que la granada no solo es antibacteriana, sino que exhiben moderado efecto antileishmaniásico in vitro.

## CONCLUSIONES

- Comparando ambos extractos etanólicos, el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) se observa que tiene un efecto de  $7.675 \pm 6.86$ , y el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) tiene un efecto de  $15.4 \pm 4.59$ . Por lo tanto, existe diferencias entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio in vitro.
- El extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) se observa que tiene un efecto de  $15.4 \pm 4.59$ . por lo tanto, el extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) tiene efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* según concentración.
- El extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) se observa que tiene un efecto de  $7.675 \pm 6.86$ El. por lo tanto, el extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) tiene efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* según concentración.
- Comparando ambos extractos etanólicos, el extracto etanólico de *Punica granatum* (granada) se observa que tiene un efecto de  $7.675 \pm 6.86$ , y el extracto etanólico de *Psidium guajava* (guayaba) presenta un efecto de  $15.4 \pm 4.59$ . por lo tanto, el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) es mayor que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans*.

## SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

- Se sugiere investigar más acerca de las caracterizaciones que presenta la *Psidium guajava* (guayaba) y la *Punica granatum* (granada).
- Se sugiere a la EP de Odontología implementar un laboratorio especializado para poder caracterizar las diversas plantas terapéuticas para uso estomatológico.
- Se sugiere realizar más investigaciones acerca de la *Psidium guajava* (guayaba) y de la *Punica granatum* (granada).
- Se recomienda realizar investigaciones utilizando la planta *Psidium guajava* (guayaba) en niveles superiores de investigación como los estudios *in vivo*, tanto en cultivo celular como en animales de experimentación.
- Se recomienda realizar investigaciones utilizando la planta *Punica granatum* “granada” en niveles superiores de investigación como los estudios *in vivo*, tanto en cultivo celular como en animales de experimentación.
- Se recomienda la implementación de un laboratorio químico en la EP de Odontología para la realización de investigaciones de este tipo.
- Se recomienda la implementación de un laboratorio microbiológico en la EP de Odontología.
- Se sugiere a la EP de Odontología a promover investigaciones de diferentes plantas medicinales y el uso en la estomatología.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. FLORES R. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” frente a Streptococcus mutans. Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. 10 – 40 pp.
2. MIÑANA V. Promoción de la salud bucodental: Pediatr Aten Primaria. 2011; 13 (51).
3. CHERO D. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de psidium guajava y Medicago sativa sobre Streptococcus mutans ATCC 25175. Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista. Pimentel, Perú: Universidad Señor de Sipán, 2016. 8 – 49 pp.
4. LE GALÉS C. Informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. ARTICULO DE PRENSA DE LA OMS 2004. (Citado el 31 de mayo del 2016). Disponible en: [www.who.int/mediacentre/news/releases\(2004\) pr15/es](http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es)
5. CABEZAS CÉSAR, et al. Plantas medicinales y el desarrollo nacional. Bol – Inst Nac Salud .2012; (18): 7-8.
6. NELCE M, MAHENDRADATTA M, LAGA A, DJIDE N. Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (Psidium Guajava L) On Pathogens Microbial. International journal of scientific & technology research. 2014; (3): 236 – 241. (Citado el 10 de setiembre del 2017)  
Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=578D0C4A35735AB6F545DE4EF2C0F75C?doi=10.1.1.590.2123&rep=rep1&type=pdf>



7. BISWAS B, KIMBERLY R, FREDRICK M, DWAYNE D, ANAND Y. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology*. 2013; (2013): 1 – 7. (Citado el 10 de setiembre del 2017) Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2013/746165/>
8. DE SOUZA V, CORREIA S, VIEIRA P, et al. Minimum inhibitory concentration of adherence of *Punica granatum* Linn (pomegranate) gel against *S. mutans*, *S. mitis* and *C. albicans*. *Braz Dent J* 2006; 17(3): 5. (Citado el 26 de julio del 2016) Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bdj/v17n3/v17n03a09.pdf>
9. ABDOLLAHZADEH S, MASHOUF R, MORTAZAVI H, et al. Antibacterial and Antifungal Activities of *Punica Granatum* Peel Extracts Against Oral Pathogens. *J Dent Tehran University of Medical Sciences*. 2011; 8(1): 6. (Citado el 26 de julio del 2016) Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3184731/>
10. CHERO D, RUIZ A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) y *Medicago sativa* (alfalfa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Rev Salud y Vida Sipanense*. 2016; 3(2): 6 – 12. (Citado el 10 de setiembre del 2017) Disponible en: <http://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/view/422/435>
11. BERNAL R, RODRÍGUEZ I, SALAZAR M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* “in vitro”. *REBIOLEST*. 2014; 2(1): 9. (Citado el 26 de julio del 2016) Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/639>

12. ROJAS J, RONCEROS S, PALACIOS O. Evaluación in vitro de la actividad antileishmaniásica del extracto metanólico de siete plantas medicinales. *Revistas de Investigación UNMSM*. 2012; 15(2): 6. (Citado el 05 de agosto del 2016)  
Disponible en:  
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/2664/23>  
31
13. SÁNCHEZ F. Efecto antimicótico del extracto de tres plantas ,medicinales contra el *Trichophyton* sp. y *Microsporum* sp. in vitro en Tingo María. Tesis para optar el título profesional de ingeniero zootecnista. Tingo María, Perú: Universidad Agraria de la selva, 2010. 1 – 52 pp.
14. ROSS A, PHILIP W, HOLBROOK P. *Microbiología bucal y clínica*. Primera Edición, México, Editorial Científica PLM, S.A. C.V., 1985.
15. NEGRONI M. *Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica*. ed. Buenos Aires – Argentina: Panamericana. 2009:225-245.
16. SOUZA F, GIL J. Doença cárie: Nem infecciosa, men transmissível. *RGO*, Porto Alegre, v. 49, n. 3, p. 139-144 jul./ago. 1998.
17. RAMOS M., DIAS R., DANTAS R., VIEIRA M., NASCIMENTO W. Estudo comparativo in vitro da actividade antibacteriana de productos fitoterápicos sobre bacterias cariogenicas. *Odontoped Clin Integr*. 2004; 4(1): 33 – 38.

18. FUNDAMENTOS DE CIENCIAS BÁSICAS APLICADAS A LA ODONTOLOGÍA, editorial académica. Sandra Janeth Gutiérrez Prieto 1ª edición editorial pontificia universidad javeriana, 2006; 379 páginas.
19. ALARCÓN P. Diagnóstico Microbiológico del Género Streptococcus. Laboratorio de Referencias Cocáceas Gran Positivas. Instituto de Salud Pública. Chile. 2011.
20. LAMAS M. Estudio de la colonización por estreptococos mutans y hábitos dietéticos durante la lactancia y primera infancia. [Tesis Doctoral]. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid, 2003.
21. EMANUELSSON I, THORNQVIST E. Los genotipos de estreptococos mutans tienden a persistir en su huésped durante varios años. Caries Res. 2000; 34(2): p. 133-9.
22. MASUDA N, et al. Estudio longitudinal de la distribución de varios serotipos de Streptococcus mutans en lactantes. J Clin Microbiol. 1979; 10(4): p. 497-502.
23. SVANBERG M, KRASSE B. Implante oral de Streptococcus mutans tratado con saliva en el hombre. Arch Oral Biol. 1981; 26(3): p. 197-201.
24. LIÉBANA J. Microbiología Oral. McGraw-Hill. 1995; Cap. 15, pp. 220-239.
25. SEKI M, YAMAHITA Y, TORIGOE H, et al. "Efecto de la colonización mixta de estreptococos mutans en el desarrollo de caries" Oral Microbiol Immunol 2006; 21:47-52.

26. NAKANO K, OOSHIMA T. Clasificación de serotipos de *Streptococcus mutans* y su detección fuera de la cavidad oral. *Future Microbiology* 2009; 4(7): 891-902.
27. SIEBER C. Recuento de *Streptococcus mutans* en muestras de biofilm sobre dientes restaurados con resina compuesta oclusal versus dientes sanos mediante el método de cubeta. Tesis para optar el título de Cirujano-Dentista. Santiago, Chile: Universidad de Chile; 2012.
28. AGUILERA M, ROMANO E, RAMOS N, et al. Sensibilidad de *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). *ODOUS Científica*. 2011; 12 (1).
29. OJEDA J, OVIEDO E, SALAS L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Rev. CES Odont.* 2013; 26(1) 44-56. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
30. LINKE HA. New Medium for the Isolation of *Streptococcus mutans* and Its Differentiation from Other Oral Streptococci. *journal of clinical microbiology*,. 1977;5(6):604–9.
31. OD RMA, CARLOS L, et al. Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 “in vitro.” *NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 2005;3(3):25–30.
32. PINEDA A. “efecto antimicrobiano de *psidium guajava* l. contra *salmonella typhymurium* en *cavia porcellus* L.”. tesis para optar el grado académico de magister en microbiología. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de san Marcos, 2013. 3 – 19 pp.

33. DE CANDOLLE A. Origin of cultivated plants. New York: Hafner Publishing Company; 1967 p. 241-244. Citado por: Mata I, Rodríguez A. Cultivo y producción de guayabo. 2ª ed. México DF: TRILLAS; 2000.
34. BRACK E. Tratado de libre comercio y biodiversidad del Perú sitio en internet. Disponible en: [www.servindi.org/antiguo/sp/Campana\\_TLC/Brack\\_1.html](http://www.servindi.org/antiguo/sp/Campana_TLC/Brack_1.html) Consulta: agosto 2004.
35. TAYLOR L. Guava. sitio en internet. Disponible en: [www.raintree.com/guava.htm](http://www.raintree.com/guava.htm) Consulta: febrero 2004.
36. RUEHLE G. El cultivo de la guayaba en Florida. Agritrop. 1964; 20: 555-564 Citado por: Mata I, Rodríguez A. Cultivo y producción de guayabo. 2ª ed. México DF: TRILLAS; 2000.
37. INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM. Psidium guajava L. sitio en internet. Disponible en: [www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_valve=27240](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_valve=27240) Consulta: Setiembre 2004.
38. GERMPASM RESOURCES INFORMATION NETWORK. Psidium guajava L. sitio en internet. Disponible en: [www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax\\_search.pl?Psidium%20guajava](http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl?Psidium%20guajava) Consulta: Setiembre 2004.

39. OCHSE J. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales, Vol I. México: LIMUSA; 1976. Citado por: Mata I, Rodríguez A. Cultivo y producción de guayabo. 2ª ed. México DF: TRILLAS; 2000.
40. PALACIOS V. Plantas medicinales nativas del Perú, Vol I. Lima: CONCYTEC; 1993.
41. EL-BARADI T. Guava: Reviewarticle. En: Abstr Trop Agric 1975; 1: 9-16. Citado por: Mata I, Rodríguez A. Cultivo y producción de guayabo. 2ª ed. México DF: TRILLAS; 2000.
42. LE-BOURDELLES J, ESTANOVE P. La goyaveaux Antilles. En: Fruits. 1967; 22 (9): 397-412. Citado por: Mata I, Rodríguez A. Cultivo y producción de guayabo. 2ª ed. México DF: TRILLAS; 2000.
43. YUSOF S, MOHAMED S. Physico-chemical changes in guava (*Psidium guajava* L.) during development and maturation. J SciFdAgric. 1987; 38 (1): 31-39.
44. HEREDIA J, SILLER J, BAEZ M, ARAIZA E, PORTILLO T, GARCÍA R, et al. Cambios en la calidad y el contenido de carbohidratos en frutas tropicales y subtropicales a nivel de supermercado. En: Proa InteramerSocTropHort. 1997; 41: 104-109. Citado por: Cañizares A, Laverde D, Puesme R. Crecimiento y desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en Santa Bárbara, estado Monagas, Venezuela. En: Revista UDO Agrícola. 2003; 3 (1): 34-38.

45. CHEN H, SHEU M, LIN L, WU C. Volatile Constituents of six cultivars of mature guava (*Psidium guajava* L.) fruits from Taiwan. En: International Symposium on Plants as Food and Medicine: The Utilization and Development of Horticultural Plants for Human Health; Seoul, Korea 2006. Seoul: Gardner G. y Craker L. editors, 2008. p. 273-278.
46. FLUCK H. The influence of climate on the active principles in medicinal plants. En: *J Pharm Pharmacol.* 1955; 7 (6): 361-383. Citado por: Acosta L. Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales. [sitio en internet] Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102847962003000100008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962003000100008&lng=es). Consulta: Setiembre 2004.
47. SURAI P. Protección antioxidante en el intestino: Un buen comienzo es la mitad de la batalla. sitio en internet. Disponible en [www.engormix.com/nuevo/prueba/colaboraciones.asp?valor1=155](http://www.engormix.com/nuevo/prueba/colaboraciones.asp?valor1=155) Consulta: febrero 2007.
48. LUXIMON A, BAHORUM T, CROZIER A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *J Sc Fd Agric.* 2003; 83 (5): 496-502.
49. TORRES A, RICCIARDI G, AGRELO A, RICCIARDI A. Estudio comparativo de aceites esenciales de especies de *Psidium* (Myrtaceae) del Noreste. sitio en internet. Disponible en: [www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/exactas/e-031.pdf](http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/exactas/e-031.pdf) Consulta: febrero 2003.

50. TORRES A, RICCIARDI G, AGRELO A, RICCIARDI A. Estabilidad fotoquímica de *Psidium guajava* (Myrtaceae) en la Provincia de Corrientes. sitio en internet. Disponible en: [www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2001/8-Exactas/E010.pdf](http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2001/8-Exactas/E010.pdf) Consulta: febrero 2003.
51. OGUNWANDE I, OLAWORW N, ADELEKE K, EKUNDAYO O, KOENING W. Chemical composition of the leaf volatile oil of *Psidium guajava* L. growing in Nigeria. *FlavourFragr J.* 2003; 18: 136-138.
52. DA SILVA J, LUZ A, DA SILVA M, ANDRADE E, ZOGHBI M, MAIA J. Essential oils of the leaves and stems of four *Psidium* spp. *FlavourFragr J.* 2003; 18: 240-243.
53. DOSS A, PARIVUGUNA V, VIJAYASANTHI M, SRUTHI S. Antibacterial evaluation and phytochemical analysis of *Medicago sativa* L. against some microbial Pathogens. *Indian Journal of Science and Technology.* 2011. 4 (5) ISSN: 0974- 6846.
54. SHITAL CH, RAVINDRA S, KAVITA S, VISHAL B. Evaluation of Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Medicago sativa* Leaves. 2015(3).
55. SHAO M, et al. Four new triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. *J Asian Nat Prod Res.* 2012; 14(4):348-54.



56. XAVIER L, et al. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002 (83):19–24.
57. LANSKY E, NEWMAN R. *Punica granatum* (granada) y su potencial para la prevención y el tratamiento de la inflamación y el cáncer. *J Ethnopharmacol*. 2007 19 Ene; 109 (2): 177-206.
58. JURENKA J. Las aplicaciones terapéuticas de la granada (*Punica granatum* L.): una revisión. *Altern Med Rev*. 2008; 13 (2): 128-44.
59. BRAGA L, SHUPP J, CUMMINGS C, et al. El extracto de granada inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y la producción de enterotoxina posterior. *J Ethnopharmacol*. 2005; 96 (1-2): 335-9.
60. REDDY M, SK G, JACOB M, et al. actividades contra la malaria y antimicrobianas de las fracciones ricas en tanino, elagitaninos y ácidos fenólicos de *Punica granatum* L. *Planta Med*. 2007; 73 (5): 461 -7.
61. GRAHAM S, et al. 2005. Phylogenetic analysis of the Lythraceae based on four gene regions and morphology. *Int. J. Pl. Sci*. 166: 995–1017.
62. BHOWMIK D, GOPINATH H, KUMAR P, et al. Medicinal Uses of *Punica granatum* and Its Health Benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2013; 1(5): 8. (Citado el 05 de agosto del 2016) Disponible en: <http://www.phytojournal.com/vol1Issue5/6.html>

63. LÓPEZ M, LÓPEZ M, PALOU E. Granada (Púnica Granatum): una fuente de antioxidantes de interés actual. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 2010; 4(1): 10. (Citado el 05 de agosto del 2016) Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4\(1\)-Lopez-Mejia-et-al-2010.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4(1)-Lopez-Mejia-et-al-2010.pdf)
64. RAE. 2010. Real academia española. (Citado el 12 de febrero del 2010) Disponible en: <http://www.rae.es>
65. MOUSAVINEJAD G, DJOMEH E, REZACI K, et al. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos y sus efectos sobre la actividad antioxidante en jugos de granada de ocho cultivares iraníes. *FoodChemistry*. 2009; 115: 1274 – 1278.
66. VIDAL A, FALLARERO A, PENA B, et al. Estudios sobre la toxicidad de los extractos de frutas enteras *Punica granatum L (Punicaceae)*. *Journal of ethnopharmacology*. 2003; 89: 295 – 300.
67. HUANG T, HYANG Q, HARADA M, et al. El extracto de flor de granada disminuye la fibrosis cardíaca en las ratas fatta diabéticas zucker: modulación de la endotelina cardíaca - I y factor nuclear - kappaBpath. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2005; 46: 856 862
68. WANG R, XIE W, ZHANG Z, et al. Compuestos bioactivos de las semillas de *Punica granatum (granada)*. *Journal of Natural Products*. 2004; 67: 2096 – 2098.
69. HERNÁNDEZ F, MELGAREJO P, TOMAS F, et al. Evolución de las antocianinas del jugo durante la maduración de nuevos clones seleccionados de

granada (*Punica granatum*). Investigación y tecnología alimentaria europeas. 1999; 210: 30 – 42.

70. IQBAL S, HALEEM S, AKHTAR M, et al. Eficiencia de los extractos de cáscara de granada en la estabilización del aceite de girasol en condiciones aceleradas. *Journal of ethnopharmacology*. 2007; 177 – 206.

71. SINGH R, CHIDAMBARA K, JAYAPRAKASHA G. Estudios sobre la actividad antioxidante de la cáscara de granada (*Punica granatum*) y extractos de semillas utilizando modelos in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50: 81 – 86.

72. ROMERO E, VILLEGAS S. Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de la cáscara de *Punica granatum* “granada” y *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. para optar el título profesional de licenciado en biología – microbiología y parasitología. Lambayeque – Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, 2017. 21 – 26 pp.

73. SUPO J. Seminarios de Investigación Científica. [Internet]. Citado el 19 de febrero del 2018. Disponible en: [https://kupdf.com/download/investigacion-cientifica-jos-eacute-supo-pdf\\_58f42a6adc0d60c24cda983e\\_pdf](https://kupdf.com/download/investigacion-cientifica-jos-eacute-supo-pdf_58f42a6adc0d60c24cda983e_pdf).

74. PINEDA E, et al. Metodología de la investigación. 1994. 26 – 27 pp.

75. FONSECA A. Investigación científica en salud con enfoque cuantitativo. 1ra edición. Lima: grafica D y S; 2013. p. 17.

# ANEXOS

**ANEXO N° 1**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**E.P ODONTOLOGÍA**

**FORMULARIO DE LA FASE EXPERIMENTAL**

- **PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS**

<b>EXTRACTO ETANÓLICO</b>	<b>CONCENTRACIONES</b>	<b>CÓDIGO</b>	
<b>PSIDIUM GUAJAVA</b>	<b>100%</b>	<b>GU 100%</b>	
	<b>75%</b>	<b>GU 75%</b>	
	<b>50%</b>	<b>GU 50%</b>	
	<b>25%</b>	<b>GU 25%</b>	
	<b>12,5%</b>	<b>GU 12,5%</b>	
<b>PUNICA GRANATUM</b>	<b>100%</b>	<b>GR 100%</b>	
	<b>75%</b>	<b>GR 75%</b>	
	<b>50%</b>	<b>GR 50%</b>	
	<b>25%</b>	<b>GR 25%</b>	
	<b>12,5%</b>	<b>GR 12,5%</b>	

**ANEXO N° 2**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**E.P ODONTOLOGÍA**

**FORMULARIO DE MEDICIÓN**

**1. MEDICIÓN DE HALO EN 24 HORAS**

**a) EXTRACTO ETANÓLICO DE PSIDIUM GUAJAVA (GUAYABA)**

PLACA/CÓDIGO/ CONCENTRACIÓN	NÚMERO DE DISCO	24 HORAS
PLACA A100%	DISCO 1	
	DISCO 2	
PLACA A75%	DISCO 5	
	DISCO 6	
PLACA A50%	DISCO 9	
	DISCO 10	
PLACA A25%	DISCO 13	
	DISCO 14	
PLACA A12,5%	DISCO 17	
	DISCO 18	
<b>Grupo control</b>		✓

**b) EXTRACTO ETANÓLICO DE PUNICA GRANATUM (GRANADA)**

PLACA/CÓDIGO/ CONCENTRACIÓN	NÚMERO DE DISCO	24 HORAS
PLACA B100%	DISCO 3	
	DISCO 4	
PLACA B75%	DISCO 7	
	DISCO 8	
PLACA B50%	DISCO 11	
	DISCO 12	
PLACA B25%	DISCO 15	
	DISCO 16	
PLACA B12,5%	DISCO 19	
	DISCO 20	
<b>Grupo control</b>		✓

## 2. MEDICIÓN DE HALO EN 72 HORAS

### a) EXTRACTO ETANÓLICO DE PSIDIUM GUAJAVA (GUAYABA)

PLACA/CÓDIGO/ CONCENTRACIÓN	NÚMERO DE DISCO	72 HORAS
PLACA A100%	DISCO 1	
	DISCO 2	
PLACA A75%	DISCO 5	
	DISCO 6	
PLACA A50%	DISCO 9	
	DISCO 10	
PLACA A25%	DISCO 13	
	DISCO 14	
PLACA A12,5%	DISCO 17	
	DISCO 18	
Grupo control		✓

### b) EXTRACTO ETANÓLICO DE PUNICA GRANATUM (GRANADA)

PLACA/CÓDIGO/ CONCENTRACIÓN	NÚMERO DE DISCO	72 HORAS
PLACA B100%	DISCO 3	
	DISCO 4	
PLACA B75%	DISCO 7	
	DISCO 8	
PLACA B50%	DISCO 11	
	DISCO 12	
PLACA B25%	DISCO 15	
	DISCO 16	
PLACA B12,5%	DISCO 19	
	DISCO 20	
Grupo control		✓

### **ANEXO N° 3**

#### **REGISTRO FOTOGRÁFICOS**

#### **OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PSIDIUM GUAJAVA (GUAYABA) Y PUNICA GRANATUM (GRANADA)**

Hojas de guayaba, lavadas con agua y desinfectadas con alcohol de 70° y secadas.



Trituración de las hojas de guayaba con la extractora.





Hojas de guayaba trituradas, degradadas y molidas.



Maceración de las hojas de guayaba.



Obtención de la granada y de la cascara que fueron lavadas, desinfectadas con alcohol de 70° y secadas.



Trituración de la cáscara de granada con la extractora.



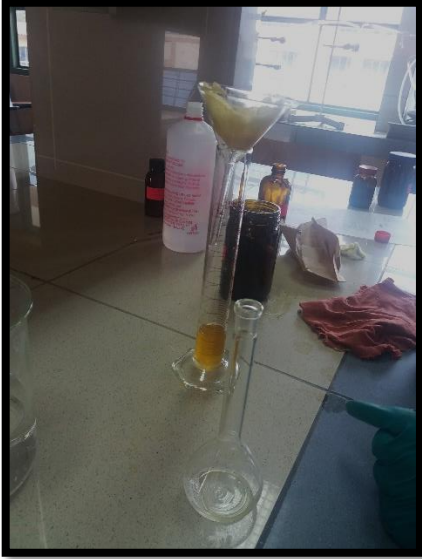
Cáscara de granada trituradas, degradadas y molidas.



Maceración de la cáscara de granada.



Filtración de los extractos etanólicos con gasa estéril después de macerar 14 días.



Preparación de los extractos etanólico en sus diferentes concentraciones (100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%).



Colocación de los extractos etanólicos en sus recipientes según sus concentraciones indicadas.



## OBTENCIÓN Y REACTIVACIÓN DE LA CEPA DE STREPTOCOCCUS

### MUTANS ATCC 25175

Hisopado de la cepa de Streptococcus mutans en el agar Columbia (agar sangre).



## PREPARACIÓN, SEMBRADO E INCUBACIÓN DE LA CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175

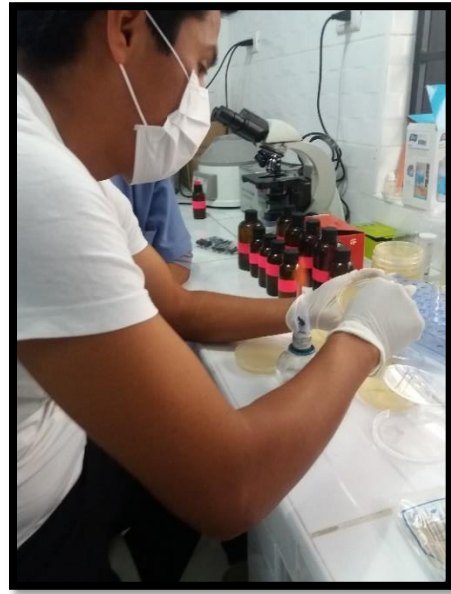
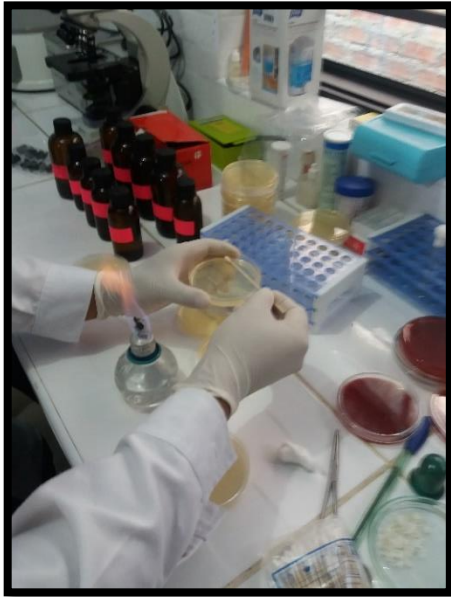
Luego de las 24 horas en el agar Columbia.



Selección de colonias y transferencia a la suspensión en el tubo de ensayo.



Sembrado de la cepa en el agar Müller-Hinton.



Colocación de los discos de papel.

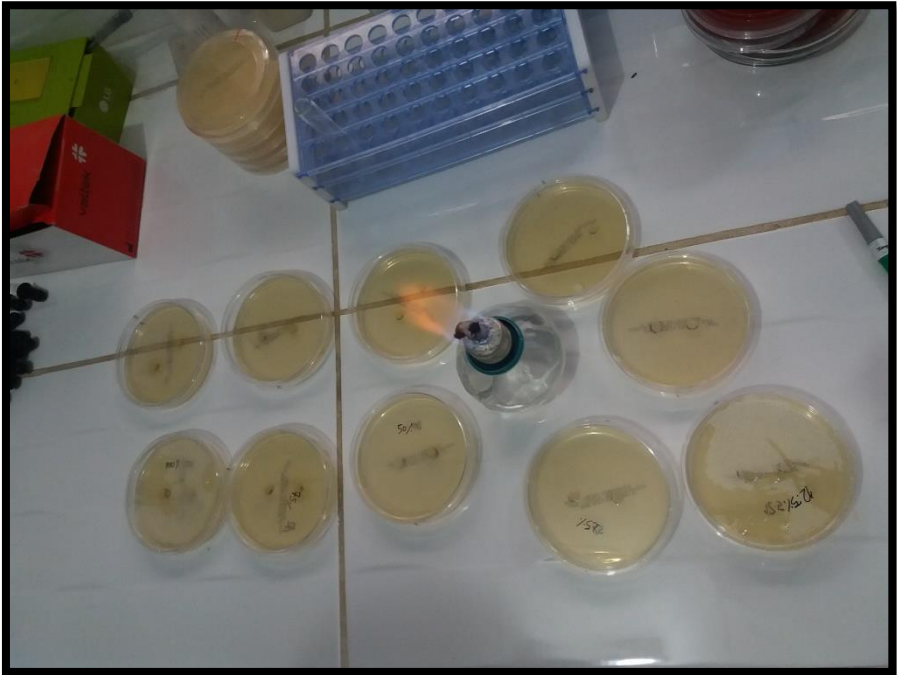




Inoculación de los extractos etanólicos en los discos de papel.



Incubación de las muestras.



## MEDICIÓN DE LOS HALOS DESPUÉS DE LAS 24 HORAS Y 72 HORAS

Medición de los halos inhibitorios con la regla Vernier.

