



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Profesional de Estomatología

TESIS

**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE PASSIFLORA EDULIS (MARACUYÁ) Y
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE LA CEPA STREPTOCOCCUS
MUTANS (ATCC 25125)**

**PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE CIRUJANO
DENTISTA**

PRESENTADO POR:

Bach. LUIS JHORLLY JHIBAN, SANDOVAL JARAMILLO

ASESOR:

MG. CD. CAHUA CHAVEZ, LUIS FELIPE

LIMA – PERU

2021

DEDICATORIA

A ti madre por el apoyo incondicional que me das
por ser mi pilar para poder lograr mis objetivos
a mi hermano que siempre me guía desde el cielo
para ser cada día una mejor persona

AGRADECIMIENTOS

Agradecer en primer lugar a Dios por brindarme salud y conocimientos para poder ser un buen ejemplo en segundo lugar a mi esposa que me demuestra día a día que es una persona en quien puedo confiar y siempre brindándome su apoyo.

A mi asesor de tesis, Mg. Luis Felipe Cahua Chávez, por su apoyo en el desarrollo de esta investigación a quien le tengo mucho aprecio y consideración.

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de Contenido	iv
Índice de Tablas	6
Índice de Gráficos	8
Resumen	10
Abstract	11
Introducción	12
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.1. Descripción de la realidad problemática	14
1.2. Formulación del problema	16
1.3. Objetivos de la investigación	17
1.4. Justificación de la investigación	18
1.4.1 Importancia de la investigación	19
1.4.2 Viabilidad de la investigación	20
1.5. Limitaciones del estudio	20
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	21
2.1. Antecedentes del estudio	21
2.2. Bases teóricas	24
2.3. Definición de términos básicos	28

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	30
3.1 Hipótesis de la Investigación	30
3.2 Variables de la Investigación	31
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	40
4.1 Diseño metodológico	40
4.2 Diseño muestral	40
4.3 Técnicas de recolección de datos	42
4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información	44
4.5 Aspectos Éticos	45
CAPITULO V: ANALISIS Y DISCUSION	46
5.1. Análisis descriptivo	46
5.2. Análisis inferencial	51
5.3. Comprobación de hipótesis	53
5.4. Discusión	65
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
FUENTES DE INFORMACIÓN	70
ANEXOS	
ANEXO 1	77
ANEXO 2	78
ANEXO 3	80
ANEXO 4	81

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125)	46
Tabla N°2. Efecto antibacteriano in vitro de la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125)	48
Tabla N°3. CMI y CMB del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125)	49
Tabla N°4. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125)	51
Tabla N°5. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) al 25% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125).	53
Tabla N°6. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) al 50% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125).	55
Tabla N°7. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (Maracuyá) al 75% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25125).	57

Tabla N°8. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125). 59

Tabla N°9. Comparar in vitro el CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

61

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico N° 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) 47

Gráfico N° 2. Efecto antibacteriano in vitro de la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) 48

Gráfico N° 3. CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) 50

Gráfico N° 4. Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* 52

Gráfico N° 5. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) 54

Gráfico N° 6. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 50% y la Clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) 56

Gráfico N° 7. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 75% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125). 58

Gráfico N° 8. Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125). 60

RESUMEN

El objetivo del estudio fue Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125).

El estudio es de tipo experimental In vitro, prospectivo, transversal y comparativo. Para determinar el tamaño muestral se aplicó la comparación de medias. El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (maracuyá) inicialmente se diluyó a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; mientras que la clorhexidina a 0.12%. Para la medir el efecto antimicrobiano se usó la técnica de difusión en placa para medir los halos de inhibición de crecimiento bacteriano; y la técnicas de difusión en tubo para medir CMI y CMB. En el análisis univariado, se usó pruebas de estadística descriptiva como medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis bivariado, primero se evaluó la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk., al ser normal, se utilizó ANOVA para comparar el efecto antibacteriano. Se concluyó que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la Clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125).

ABSTRACT

The objective of the study is to compare in vitro the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Passiflora edulis* (Maracuyá) and 0.12% chlorhexidine on the growth of the *Streptococcus mutans* strain (ATCC 25125).

The study is experimental in vitro, prospective, cross-sectional and comparative. To determine the sample size, the comparison of means was applied. The ethanolic extract of *Passiflora edulis* (passion fruit) was initially diluted to concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%; while chlorhexidine at 0.12%. To measure the antimicrobial effect, the plate diffusion technique was used to measure the halos of inhibition of bacterial growth; and tube diffusion techniques to measure MIC and CMB. In the univariate analysis, descriptive statistical tests were used as measures of central tendency and dispersion. For the bivariate analysis, normality was first assessed using the Shapiro-Wilk test. As it was normal, ANOVA was used to compare the antibacterial effect. It was concluded that there is a statistically significant difference between the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Passiflora edulis* (Maracuyá) at 100% and Chlorhexidine at 0.12% on the growth of the *Streptococcus mutans* strain (ATCC 25125).

INTRODUCCION

El proceso cariogénico inicia y progresa cuando las bacterias orales metabolizan los carbohidratos fermentables, produciendo ácidos que se diseminan por el tejido dentario y desmineralizan el esmalte, inclusive neutralizando el efecto amortiguador de pH de la saliva. Algunos autores refieren que el consumo frecuente y continuo de carbohidratos, así como la higiene bucal deficiente se relacionan directamente con el desarrollo y progresión de la caries dental.

Actualmente existe un gran aumento de la incidencia de caries dental y las bacterias patógenas cada se están haciendo más resistentes; por lo que aumentan infecciones oportunistas de origen odontogénico. El *Streptococcus mutans*, agente microbiano etiológico de la caries más importante, juega un rol relevante en la ocurrencia de endocarditis, por lo que se considera a la caries dental, un agente etiológico para las patologías generales. En países en desarrollo existe un considerable interés en el desarrollo en alternativas de prevención y tratamiento de estas infecciones.

Las plantas tradicionales y sus diferentes estructuras, cortezas, hojas y frutos, pueden ser usados frente a infecciones bacterianas y son considerados una buena alternativa a los químicos sintéticos, como la clorhexidina a nivel oral, debido a sus complicaciones. Inclusive numerosas plantas medicinales fueron evaluadas para su potencial aplicación en el tratamiento de enfermedades orales.

El fruto de la *Passiflora edulis* (maracuyá) se ha utilizado frecuentemente en terapia popular en Sudamérica para tratar trastornos ansiolíticos, respiratorios y urinarios. Los constituyentes de diferentes extractos incluyen elementos flavoníticos, terpenicos, glucosídicos y entre otros compuestos de importancia orgánica . Productos obtenidos de especies *Passiflora* tiene actividad antimicrobiana en una amplia gama de microorganismos incluidos las bacterias grampositivas y gramnegativas, sobre todo debido a no tienen efectos tóxicos.

Debido a esto, este estudio investigativo tuvo como objetivo comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125).

CAPÍTULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Los procesos infecciosos dentales, como lesión cariosa y enfermedades del periodonto, quizás son las infecciones bacterianas que se presentan con mayor frecuencia en los humanos. Su naturaleza no es peligrosa para la vida y su ubicuidad han minimizado su importancia en salud general.¹

Este concepto de infecciones dentales es bacteriológicamente no específicas no tienen fundamento para el tratamiento antimicrobiano. Aparte del desbridamiento diario de las superficies dentales por versiones modernas de implementos antiguos, como cepillos de dientes, hilo dental y palillos de dientes. No hay convincente evidencia de que el cuidadoso desbridamiento mecánico por parte del paciente, haya reducido la incidencia de caries dental, aunque tales procedimientos pueden reducir la cantidad de placa dental y el nivel de gingivitis (inflamación de la encía o encías).¹

La estructura superficial dental es única en el cuerpo humano, es una superficie dura que no se descascara, que adhiere varias proteínas ácidas (mucinas) salivales, que forman lo que se conoce como la película de esmalte adquirido.¹

La película adquirida, membrana acelular (0.1 a 3 pLm de grosor), posee gran cantidad de sulfato y carboxilos, que aumenta aún más la carga negativa neta superficial de los dientes. Como las bacterias también tienen una carga negativa neta, existe una repulsión inicial entre las bacterias y la estructura dental superficial; y aquellos microorganismos bacterianos salivales que se acercan a esta superficie. Esta defensa inmunitaria innata desaparece al formarse el biofilm dental.¹

La caries dentaria es una condición común que refleja la aparición de bacterias cariogénicas y un desequilibrio entre la pérdida mineral y la ganancia mineral.^{1,2}

Acerca de las especies implicadas en la etiología de la caries dental, existe una gran evidencia epidemiológica que vincula al *Streptococcus mutans* en el inicio de la caries dental.³ La mayoría de los individuos albergan varias cepas de esta bacteria,⁴ y el microorganismo a menudo se encuentra en niveles altos en pacientes con caries rampantes,⁵ particularmente en asociación con lactobacilos.^{4,6}

La eficacia del flúor que contienen los dentífricos está bien documentada. Con fluoruro a niveles iguales a 1000 ppm, los efectos sobre el balance de desmineralización y remineralización son más importante que cualquier influencia sobre el metabolismo bacteriano.^{7,8} Estudios anteriores han encontrado que diferentes fluoruros que contienen los dentífricos tienen efectos antimicrobianos muy diferentes,⁹ que explicaría por qué algunos confieren mayor protección que los demás. Inclusive las acciones antimicrobianas de diferentes formas de fluoruro también varían considerablemente.¹⁰⁻

12

La microbiota oral es diversa, incluye más de 600 especies bacterianas y con distintos subconjuntos predominando en diferentes hábitats.¹³ El establecimiento de un biofilm en las superficies dentales (placa dental) es crítica en el desarrollo de la gingivitis. Mientras la caries es una infección endógena de los tejidos calcificados de los dientes y es el resultado de su desmineralización por los ácidos orgánicos producidos por bacterias que fermentan los carbohidratos de la dieta.¹⁴

La clorhexidina es el agente quimioproláctico más efectivo contra las bacterias patógenas orales.^{15,16} Es un agente antimicrobiano catiónico con un amplio espectro de acción contra bacterias grampositivos y gramnegativos, hongos y algunos virus.¹⁷ Comúnmente 0,12% o 0,2% de clorhexidina digluconate (CHX) se utiliza como farmacoterapia preventiva de la lesión cariosa dentaria.¹⁸⁻²⁰

El fruto de la *Passiflora edulis* (maracuyá) es una vid escaladora exótica, originaria de Sudamérica. Ahora se cultiva en todo el mundo como una fruta comestible para la industria alimentaria.²¹ Productos obtenidos de especies *Passiflora* tiene actividad antimicrobiana en una amplia gama de microorganismos. Estos incluyen bacterias

grampositivos y gramnegativos, hongos, levadura y actinomiceto. Sobretudo también se encontró que tiene efectos no tóxicos.²²

El propósito de este estudio fue comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (maracuyá) y clorhexidina (CHX) al 0.12% sobre la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

1.2. Formulación del problema

Problema General

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la CHX al 0,12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

Problemas específicos.

¿Cuáles son los halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

¿Cuáles son los halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 50% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

¿Cuáles son los halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 75% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

¿Cuáles son los halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

¿Cuál es el CMI in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)?

1.3. Objetivos de la Investigación.

1.3.1. Objetivo General

Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125)

1.3.2. Objetivos Específicos.

Comparar in vitro los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

Comparar in vitro los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 50% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

Comparar in vitro los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 75% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

Comparar in vitro los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

Comparar in vitro el CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *S. mutans* (ATCC 25125).

1.4. Justificación de la investigación.

Las biopelículas dentales se componen de diversas comunidades de bacterias orales, destacando el *Streptococcus mutans*, en particular, al ser considerado como la bacteria etiológica más importante de la caries dental, pues causa desmineralización del tejido dental duro. Un enfoque ampliamente adoptado para la eliminación de bacterias cariogénicas en estas biopelículas es el control mecánico de la placa a través del cepillado dental, uso de hilo dental y sobretodo del uso de antisépticos orales.

Estos diferentes antisépticos, deben cumplir algunos requisitos, como la eliminación solo de bacterias patógenas, sustentividad, impedir el desarrollo de resistencia bacteriana, y ser inocuo para las estructuras normales de la cavidad bucal. La clorhexidina (CHX), es el agente antimicrobiano más usado por los profesionales y de múltiples utilidades, tanto en periodoncia, cirugía, endodoncia e inclusive en lesiones de mucosa oral. Sobre todo porque limita la multiplicación microbiana e imposibilita su efecto histopatológico sin perjudicar la fisiología tisular humana. La clorhexidina se utiliza como antiséptico en forma de digluconato y es activa contra cocos gram positivos y menos activos contra bacilos grampositivos y gram negativos. Comprobada la eficacia antimicrobiana de la Clorhexidina, también es cierto que posee numerosas reacciones adversas medicamentosas (RAMS) comprobadas por el uso prolongado, como irritación de la mucosa y alteración de la sensibilidad del gusto.

Ante esto, esta investigación, a nivel teórico, busca comparar el efecto antimicrobiano de un agente natural como el extracto etanólico (e.e) de *Passiflora edulis* (Maracuyá) frente a CHX al 0.12%, por ser inocuo para los tejidos y no producir RAMS, lo que generaría nuevo conocimiento en busca de una alternativa a la CHX en el uso de antisépticos orales para eliminar bacterias

patógenas en cavidad oral, como es el *Streptococcus mutans* (principal agente cariogénico).

Evidencias científicas de la etnofarmacología refieren que la maracuyá es usada en procedimientos médicos tradicionales. En América Latina, se consume como sedativo, miorrelajante, antiepiléptico, antitetánico, antihipertensivo, contra falta de sueño, estimulador renal, para trastornos gástricos, neoplasias de intestino y cuadros febriles. Al evaluar y comparar el efecto antimicrobiano del e.e. de *Passiflora edulis* (Maracuyá) frente a la CHX al 0.12%, a nivel práctico, este estudio busca una alternativa de agente antiséptico natural, a CHX, en la elaboración de colutorios orales de uso prolongado y sobretodo sin las RAMS que caracterizan a la clorhexidina.

A nivel clínico, los resultados de esta investigación permitirán a los profesionales odontólogos, tener acceso a una alternativa terapéutica, el extracto etanólico de *Passiflora edulis*; natural, inocua y de uso prolongado, en el tratamiento frente a infecciones orales producidas por bacterias patógenas, como el *Streptococcus mutans* en la formación de caries dental.

En cuanto al nivel metodológico, los procesos experimentales in vitro usados en este estudio, permitirán tener un método altamente científico y adecuado para la ejecución de futuras investigaciones, originales y complementarias, que busquen evaluar y comparar el efecto antimicrobiano de diferentes agentes naturales de origen vegetal.

1.4.1. Importancia de la Investigación

Este estudio aportará nueva información en la aplicación de agentes naturales, la *Passiflora edulis*, a diferentes concentraciones terapéuticas que tiendan a disminuir la presencia del *Streptococcus mutans* y disminuyendo así su efecto cariogénico.

Por otro lado, a nivel social, este estudio busca beneficiar a la población en general, ya que el conocimiento del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Passiflora edulis*, podrá ser utilizado como alternativa terapéutica en la prevención de la lesión cariosa dentaria y además por su bajo costo económico será de fácil accesibilidad para las personas de menos recursos.

Así mismo tendrá una importancia clínica debido a que será, de obtener los resultados esperados, una alternativa terapéutica a usar los profesionales odontólogos en estrategias preventivas y protocolos terapéuticos de la caries dental, la enfermedad bucodental más frecuente.

1.4.2 Viabilidad de la Investigación.

Esta investigación conto con el apoyo y supervisión de profesionales especialistas en las diferentes etapas de su ejecución.

Los gastos de inversión estimados, fueron completamente asumidos por el investigador.

Existe pro actividad del Lab. Central de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, para las coordinaciones y autorizaciones que permitirán que la ejecución y tiempo de duración de la investigación sea óptimo.

1.5 Limitaciones del Estudio.

La adquisición de cepas American Type Culture Collection (ATCC), es de cierta manera restringida, y por ello los laboratorios de referencia solicitan varios requisitos previos que sustenten su utilización.

Disponibilidad horaria de acceso a los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas.

Disponibilidad de tiempo del director asesor del presente estudio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación.

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Lee DW et al (2016) Korea; determinaron el patrón de actividad antibacteriana del digluconato de clorhexidina (CHX) contra biopelículas maduras de *Streptococcus mutans*. Biofilms de *Streptococcus mutans* se formaron en discos de hidroxiapatita recubiertos de saliva y luego se trata con 0 a 20% de CHX, una, tres o cinco veces (1 minuto por tratamiento) durante el período de formación de biopelículas maduras (más allá de las 46 h). Después de los tratamientos, los recuentos de unidades de formación de colonias (UFC) de las biopelículas tratadas fueron determinados. Los valores de pH del medio de cultivo gastado también se determinaron para investigar el cambio en el pH resultante de la actividad antibacteriana de CHX. Las relaciones entre la concentración de CHX y los recuentos de CFU y la concentración de CHX y el pH del medio de cultivo, en relación con el número de tratamientos realizado, se evaluaron utilizando un procedimiento de ajuste de curva sigmoideal. Los cambios en los recuentos de UFC y el pH del medio de cultivo siguieron curvas sigmoideas y fueron dependientes sobre la concentración de CHX ($R^2 = 0.99$). Las curvas sigmoideas fueron desplazadas a la izquierda con creciente número de tratamientos. Además, el pH del medio de cultivo de la las biopelículas tratadas aumentaron a medida que disminuían los recuentos de UFC. La concentración más baja de CHX para aumentar el pH del medio de cultivo por encima del pH crítico también disminuyó a medida que el número de tratamientos aumentaron. Estos resultados pueden proporcionar información fundamental para seleccionar las concentraciones de CHX adecuadas para tratar las biopelículas de *S. mutans*.²³

Sharma M et al (2015) India; evaluaron el potencial antimicrobiano in vitro del preparado de etanol *Calotropis gigantea* (algodón de seda). El efecto inhibitorio del extracto etanólico se probó contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei* mediante el uso de método de difusión de disco.

El extracto etanólico de *Calotropis gigantea* mostró 16 mm y 14 mm de zona de inhibición mínima a una concentración del 1.25% para *S. mutans* y lactobacilos, respectivamente. Llegando a la conclusión de que se encontró que *Calotropis gigantea* era eficaz contra *S. mutans* y lactobacilos.²⁴

Pardo-Jumbo A et al (2017) Ecuador; determinaron los elementos activos y el proceso activo antioxidante de la pulpa de maracuyá (*passiflora edulis*) El fin de este estudio fue evaluar los componentes fisicoquímicos y la capacidad antioxidante in vitro por el método del ABTS•+ de los extractos hidroalcohólicos de la pulpa de maracuyá a concentraciones diferentes. La muestra fue una variedad producida en el área geográfica de Estero Medina, cantón Santa Rosa (El Oro). Para definir las propiedades fisicoquímicas de los extractos se realizó un estudio experimental adecuado con las 03 concentraciones pulpares. El enfoque de este estudio fue cuantitativo y cualitativo de los análisis, presentando un pH de 3,12, densidad de 1,066 g/mL y 55 mPas de viscosidad; valores óptimos acorde a parámetros y normas INEN (Ecuador) para la formulación de jugos a base de *Passiflora edulis*. Al análisis se encontró flavonoides, fenoles y taninos, compuestos relacionados con la actividad antioxidante. Resultados que sustentan el uso de esta fruta como base para la formulación de una bebida funcional beneficiosa para la salud general.²⁵

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Ramos H y Pari R (2019) Lima; en su investigación determinaron la capacidad contra oxidación e inflamación del e.e. de hojas de *P. mollissima* (“Tumbo”). El preparado con etanol se realizó por maceración al frío. Se realizó determinación de solubilidad y pruebas fitoquímicas completas con el fin de lograr la identificación de los metabolitos. La determinación de la capacidad contra la oxidación se usó el DPPH (método demostrado); y contra la inflamación se utilizó el protocolo de edema plantar por agente inflamógeno (albúmina 1 %). En el primer caso se encontró evidencia a las siguientes medidas de concentración: 125 ug/mL (79,55%), 93,75 ug/mL (60,99%), 62,5 ug/mL (41,93%) y 31,25 ug/mL (21,82%). En el segundo caso, en comparación con el control positivo Trolox, la capacidad contra la inflamación se encontró a la dosis de 600 mg/kg a la hora de administrar ($p=0.000$), similar a la dexametasona de 4 mg. Llegándose a la conclusión que el *P. mollissima*, tiene capacidad contra la oxidación tisular e inflamación.²⁶

Ruiz Y y Sifuentes K (2018) Trujillo; evaluaron el efecto fotoprotector in vitro del extracto de hojas de *Passiflora edulis* “maracuyá”. Para evaluar el efecto fotoprotector, la muestra fue recolectada en Chumpón, Paiján, La Libertad. El extracto hidroalcohólico de las hojas fue elaborado por proceso de percolación utilizando etanol de 70°GL como agente solvente hasta su eliminación. La concentración se determinó mediante el peso del extracto seco, encontrándose un valor de 50 mg/mL. El agente químico se analizó al medir la absorbancia por espectrofotometría en la zona de irradiación ultravioleta B (290-320nm), la cual puede penetrar en la epidermis por radiación solar y generar daños irreversibles a la piel. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora edulis* “maracuyá” tuvo un efecto fotoprotector alto con un FPS 14,598.²⁷

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Passiflora edulis* (Maracuyá)

Dentro de la familia Passifloraceae, el género *Passiflora* es la mayor, abarca alrededor de 500 especies, distribuidas en áreas geográficas de clima cálido y tropical de América; más raras en Oceanía, África y Asia. En Sudamérica, su cultivo es amplio por los frutos comestibles que producen; la ampliamente cultivada es la *Passiflora edulis* Sims, conocida como Maracuyá.²³

Esta especie de frutos son amarillos, de crecimiento hasta 1 000 msnm; aunque existe la *P. edulis* Sims var. Purpúrea (frutos color púrpura) que puede crecer en áreas geográficas superiores a 1200 msnm.⁴⁷ La maracuyá es un vegetal leñoso, trepadora y de crecimiento veloz hasta 10 m de longitud; la fruta tiene morfología esférica, globosa o elipsoide, con una pulpa muy aromática, de diámetro aprox. de 10 cm y de 190 gr de peso.²⁸

La utilización de *Passiflora* en medicina tradicional se remonta a 1569.²³ La evidencia en etnofarmacología refiere que la maracuyá es usado en diferentes áreas geográficas del planeta. En Sudamérica, el té de diferentes partes aéreas de esta planta, es bebido como terapéutico frente la enfermedad tetánica, cuadros epilépticos, de insomnio, de crisis hipertensivas y como sedativo;²⁴ miorrelajante,²⁵ diurético, contra dolor gástrico, neoplasias de intestino y cuadros febriles.²⁶

Estudios farmacológicos con *P. edulis* demuestran sus múltiples capacidades terapéuticas. Produjo inhibición enzimática de endopeptidasas zincdependientes, de metaloproteinasas extracelular relacionadas con diseminación neoplásica metastásica y angiogénica,²⁹ asimismo produjo inhibición de la mutación neoplásica de células murinas.³⁰ El preparado extractivo de la hojas inhibió el cuadro inflamatorio agudo y fomentó la proliferación de fibroblastos, de fibras colágenas y la nueva formación de vasos capilares en tejido cicatrizal de vejiga de ratas;³¹ igualmente, demostró una significativa capacidad contra la inflamación en pleuresía carragenina inducida en ratones;^{32,33} además, elevó de manera significativa el número de roedores protegidos contra cuadros convulsivos producidos por estricnina, similar al clonazepam;³⁴ y

actividad contra los virus frente a HSV-1.³⁵ Además hay evidencia de un compuesto peptídico antimicótico en las semillas de maracuya.³⁶

En cuanto a la actividad del *P. edulis* en SNC, la evidencia es controversial. Algunas investigaciones encontraron actividad sedante,³⁴ ansiolítico,^{37,38} tipo ansiolítico sin modificar capacidad motora,³⁹ tipo ansiolítico sin modificar memoria⁴⁰ y calmante como tranquilizante mayor;⁴¹ de otro lado, otros estudios refutan su actividad ansiolítica⁴² ni efecto hipnótico-sedante; inclusive, evidencian actividad depresora no específica del SNC.⁴³

Una investigación previa, evidenció que el preparado con etanol de hojas y concentrado de pulpa de maracuyá no produce actividad citotóxica aguda en cavidad bucal.²⁶

2.2.2. Clorhexidina (CHX)

La CHX forma parte de las biguanidas (clorofenilbiguanida), que tienen propiedades antimaláricas; y es la que mayor efecto antiséptico posee. Con respecto a sus características químicas y físicas, es levemente hidrosoluble, siendo necesaria por ello su utilización en presentación de sales de digluconato por ser la más hidrosoluble y alcohol soluble. Es estable a temperatura ambiental y de pH entre 5 y 8, pero muy inestable en solución. Debe protegerse de la radiación luminosa. A altas temperaturas se desagrega en cloroanilina. Ante presencia de material orgánico la CHX se neutraliza.⁴³ Referente a su compatibilidad, es compatible con cationes amonio cuaternarios, e incompatible con aniones tenso activos, escasos agentes no ionizados y muchos compuestos colorimétricos; forma sales solubles con los sulfatos, nitratos, fosfatos y carbonatos.⁴³

Con respecto a su farmacodinamia, existe evidencia de su absorción extraordinariamente rápida a través de las membranas, tanto en bacterias,⁴⁴ como en hongos levaduriformes,⁴⁵ consiguiendo su acción máxima en 20 segundos. A concentraciones altas precipita proteínas y ácidos nucleicos; mientras que a bajas concentraciones altera el transporte de membrana y produce inhibición enzimática microbiana.

Las soluciones de CHX tienen efecto bactericida y fungicida siendo dificultoso determinar la concentración supuesta de neutralización del agente activo. Los grampositivos tienen mayor sensibilidad que los gramnegativos; siendo cepas de *Proteus* y *Pseudomona* las menos sensibles.^{46,47} No elimina esporas, pero limita su formación, y es bacteriostático frente a Micobacterias, aunque en general, tienen resistencia alta. No tiene efecto en virus desnudos, pero produce inactivación en los virus envueltos. Se recomienda tener cuidado en conservación de las diluciones, porque se pueden contaminar.^{46,47}

2.2.3. *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* es un microorganismo grampositivo acidoláctico, son estreptococos y diplococos. Es un anaerobio facultativo, fermenta ác. láctico. Se le considera una bacteria α Hemofílica.^{48,49}

Forma parte de la microflora oral. Los niños son más susceptibles a esta bacteria; Sintetiza fructanos y glucanos a partir de azúcares, y sintetizar carbohidratos extracelulares, de consistencia laxa que permite la adherencia bacteriana a superficie libres dentales, e intracelulares para el metabolismo energético. La síntesis de azúcares intracelulares como el glucógeno, produce ácidos sin la necesidad de consumo de polisacáridos. No posee núcleo definido por falta de carioteca, su ADN cromosómico se presenta de manera lineal simple.^{48,49}

Generalmente es conocido como patógeno dental ya que consume carbohidratos de la dieta, produciendo ác. láctico y adhiriéndose al tejido dentario permitiendo la colonización microbiana causante de lesión cariogénica dental, y de igual manera causa bacteremia y endocarditis infecciosa, si alcanza el torrente circulatorio, (durante una extracción dental) de individuos con valvulopatías.^{48,49}

Es destacable la propiedad que posee el *S.mutans* de mantener sus múltiples genotipos en cavidad bucal de niños mayores de cinco años, adolescentes y adultos; fenómeno denominado persistencia “intraindividual” y que demuestra lo estable e

interrelacionado que está con los tejidos del hospedador, como la capacidad de formar biofilm, adherencia y estabilidad en los cambios de pH.

La invasión primaria de la cavidad bucal por *S. mutans* favorece la formación de caries y que se presente a edades más tempranas.^{50,51}

Existe alta evidencia de homogeneidad entre cepas de *S. mutans* entre miembros de la misma familia demostrando la transmisión vertical horizontal y constante invasión de *S. mutans* obtenidos anteriormente hasta la etapa temprana adulta.^{58,59}

2.2.4. *Streptococcus mutans* y Caries Dental

El proceso cariogénico dental, es un desequilibrio bioquímico complejo de etiología factorial múltiple iniciado post erupción dental, definiendo la desmineralización de la matriz dentaria y evolucionando hasta una cavidad en la corona dental, y siendo el *S. mutans* el agente etiológico microbiano más importante.¹⁴

Para el estado peruano, y acorde al MINSA, el 98% de la población presenta lesiones cariosas dentarias. Siendo aun, mantenida como problema de salud pública mundial, debido a que perjudica la bienestar sanitario de quienes la sufren.²⁵

Keyes en 1960, refirió que la etiopatogenia de la caries obedece a la interacción simultánea de tres factores principales: un factor “microorganismo” que en presencia de un factor “sustrato” (ingesta de Carbohidratos), logra influir a un factor “diente” (también denominado huésped). Aquel estudioso, manifestó que la interrelación trifactorial, sustenta la génesis de la lesión cariosa dentaria.²⁵ Estos son:

Microorganismos: La cavidad oral posee una de las microbiota variada y numerosa, con más de 300 especies. Entre los microorganismos cariogénicos se encuentran el *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*. Siendo el *S. mutans* capaz de inducir la lesión cariosa en cualquier estructura superficial dental.^{25,26}

Dieta: El *S. mutans* promueve la adhesión bacteriana ya que induce la formación de glucanos, mutanos y fructanos a partir de la ingesta de glúcidos, sobretodo la

sacarosa, de elevado poder cariogénico. En este complejo proceso la microbiota oral producen ácidos al fermentar carbohidratos y que desmineralizan el esmalte dental.²⁷ inclusive el pH oral se vuelve crítico al caer por debajo de 5.5.²⁶

Huésped: incluye a la saliva y los dientes:

Saliva: Está corroborado que en el proceso cariogénico que, al reducir el volumen salival, aumenta los niveles de lesiones cariosa, como sucede en pacientes con xerostomía y corroborados por numerosos estudios en modelos biológicos.²⁵

Dientes: La lesión cariosa se va a manifestar en el esmalte, susceptible a ser desmineralizada por los ácidos, influida por su estructura anatómica, como los complejos sistemas de surcos, fisuras y puntos.²⁶

Tiempo: Se dice que un consumo frecuente de glúcidos varias veces al día aumenta de riesgo de lesión cariosa. Por lo que la cantidad, frecuencia de su consumo y permanencia de estos en la cavidad bucal influye directamente en el riesgo.²⁵

2.3. Definición de términos básicos

Efecto antibacteriano: Capacidad de agente bioquímico de eliminar o producir inhibición del crecimiento microorganismos bacterianos establecidos en un ambiente dado, bloqueando su desarrollo o produciendo directamente la muerte bacteriana.⁵⁴

Cepa bacteriana: Microorganismo bioquímicamente identificado con fenotipo y genotipo definidos.⁴⁸

***Streptococcus mutans*:** Considerado microorganismo etiológico primario de la lesión cariosa inicial.¹

In Vitro: Procedimiento técnico general en ambiente controlado y fuera de un ser vivo.⁵⁶

Aceite esencial: Líquido oleoso, volátil, algo soluble en etanol, cloroformo y aceite fijos; que posee terpenos, cetonas, fenoles, alcoholes, ácidos, aldehído y éteres.⁶⁰

Monoterpenos: Agente químico de esencias florales y de aceites esenciales de hierbas y plantas.⁶⁰

Antiséptico: Agente bioquímico compatible que inhibe el crecimiento y desarrollo microbiano.⁶⁰

Patogenia: Conjunto de mecanismos bioquímicos que originan una enfermedad.⁶⁰

Taxonomía: Estudia similitudes entre los organismos y su evolución histórica.⁶⁰

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): Menor concentración de un agente químico que produce inhibición del crecimiento y desarrollo visible de microorganismo.⁶⁰

CAPÍTULO III.

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Formulación de Hipótesis Principal y Derivadas

Hipótesis Principal

El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) tiene mayor efecto antibacteriano in vitro que la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

Hipótesis Derivadas

H1: El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 25% supera en halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro a la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

H2: El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 50% supera en halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro a la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

H3: El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 75 supera en halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro a la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

H4: El extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 100% supera en halos de inhibición de crecimiento bacteriano in vitro a la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

H5: Existen diferencias estadísticamente significativas del CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) y CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

3.2 Variables, Definición Conceptual y Operacional

3.2.1 Variable Dependiente

Efecto antibacteriano: Capacidad de agente bioquímico de eliminar o producir inhibición del crecimiento microorganismos bacterianos establecidos en un ambiente dado, bloqueando su desarrollo o produciendo directamente la muerte bacteriana.⁵⁵

3.2.2 Variable Independiente

Concentración del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y de la clorhexidina al 0.12%: Macerado de planta aromática en alcohol etílico, rico en compuestos solubles en este alcohol. ⁵⁵

3.2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Dimensión	Indicador	Escala de medición	Valores
Efecto antibacteriano	Halos de Inhibición bacteriana	Halos de Inhibición de crecimiento bacteriano (Método de Kirby Bauer)	Ordinal	Sensibilidad baja Sensibilidad media Sensibilidad alta Resistente
	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	UFC	Razón	Número de UFC
Extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i>	-----	Concentración asignada	Razón	25%, 50%, 75% y 100%
Clorhexidina	-----	Concentración asignada	Razón	0.12%

CAPÍTULO IV

METODOLÓGIA

4.1 Diseño metodológico

El estudio es de tipo **experimental In vitro, prospectivo, transversal y comparativo**.

Experimental in vitro: Se controla y manipula las variables de estudio.

Prospectivo: Los resultados que se obtienen a partir de la fecha de la ejecución del estudio hasta el análisis de los resultados.

Transversal: El estudio se realizará en un solo corte de tiempo.

Comparativo: Se verifica y compara el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) y CHX al 0.12%.

4.2 Diseño Muestra

Este estudio tiene como unidad de análisis a la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25125) y está conformada por placas petri cultivadas que cumplen los criterios de inclusión y exclusión de la investigación.

Serán considerados los siguientes grupos:

Grupo 01: Placas Petri cultivadas con cepa de *S. mutans* (ATCC 25125) y expuestas al extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 25%

Grupo 02: Placas Petri cultivadas con cepa de *S. mutans* (ATCC 25125) y expuestas al extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 50%.

Grupo 03: Placas Petri cultivadas con cepa de *S. mutans* (ATCC 25125) y expuestas al extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 75%.

Grupo 04: Placas Petri cultivadas con cepa de *S.mutans* (ATCC 25125) y expuestas al extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 100%.

Grupo 05: Placas Petri cultivadas con cepa de *S.mutans* (ATCC 25125) y expuestas a CHX al 0.12%.

De acuerdo a los resultados del estudio piloto, se aplicó la prueba estadística de comparación de medias.

```
. sampsi 24.06 28.8, sd1(1.29) sd2(2.31) alpha(0.05) power(.80)
```

```
Estimated sample size for two-sample comparison of means
```

```
Test Ho: m1 = m2, where m1 is the mean in population 1  
and m2 is the mean in population 2
```

```
Assumptions:
```

```
alpha = 0.0500 (two-sided)  
power = 0.8000  
m1 = 24.06  
m2 = 28.8  
sd1 = 1.29  
sd2 = 2.31  
n2/n1 = 1.00
```

```
Estimated required sample sizes:
```

```
n1 = 3  
n2 = 3
```

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

Cepa de *Streptococcus mutans* viable.

Extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) al 25%, 50%, 75% y 100%.

Clorhexidina al 0.12%.

Criterios de exclusión:

Placas Petri con medios de cultivos contaminados después del periodo de incubación.

Extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuya) contaminado.

Clorhexidina en otras concentraciones.

Clorhexidina contaminada.

Cepas de *Streptococcus mutans* contaminadas.

4.3 Técnica e instrumento de recolección de datos

Técnica de Recolección de datos

La presente investigación utilizó una Ficha de Recolección de Datos elaborada con anticipación. Asimismo, se usó la técnica de difusión en placa (Método de Kirby y Bauer) para medir los halos de inhibición de crecimiento bacteriano; y de dilución en serie para medir Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Procedimiento para la recolección de datos

Obtención de cepas bacterianas

El presente estudio usó la cepa bacteriana *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), la cual se obtuvo del Laboratorio GenLab del Perú S.A.C.

Obtención de la *Passiflora edulis* (Maracuya)

La maracuya fue obtenida de forma natural del Centro de Abasto de Santa Anita en Lima. Una vez recolectados (10 kg) son colocados en bolsas herméticas y llevadas al Lab. Central de la UAP donde se procedió a lavarlas con agua destilada, eliminando tallos y hojas que alteren la maceración; luego fueron conservadas en refrigeradora a 14°C para la posterior elaboración del extracto etanólico.

Preparación del Extracto Etanólico

A los 10 kg de la muestra bruta, se le extrajo la pulpa del fruto, de consistencia viscosa y de color naranja opaco, y se le almacena en un recipiente aparte. Posteriormente es sometido a un procedimiento extractivo a presión obteniéndose una muestra en estado líquido. Al volumen de extracto puro obtenido se le añade 01 Litro alcohol etílico al 70%; que se almacena al ambiente en recipiente de

macerado cerrado y hermético y envuelto con bolsas negras y evitar la exposición solar.⁴⁸

Los frascos de maceración conteniendo la mezcla se dejan reposar durante 10 días, agitándose tres veces al día. Cumplido el periodo determinado, el concentrado se somete a filtración usando algodón y gasa primero para eliminar partículas gruesas; y luego con papel de filtración para eliminar partículas más finas y así garantizar la pureza del extracto. El extracto altamente concentrado se coloca en un recipiente de vidrio pyrex de 60 x 30 cm para luego ser llevado al horno a 45°C por 8 días con la finalidad de volatilizar el etanol y obtener extracto altamente puro. Pasado el tiempo establecido el extracto etanólico obtenido es pesado y guardado en un frasco ámbar de ancha abertura y sellado hasta la ejecución del estudio.⁶⁰

Dilución del Extracto Etanólico

Para la dilución del extracto puro de *Passiflora edulis* se usó como medio, agua destilada, y obtener las concentraciones necesarias para el estudio, como son 25%, 50%, 75% y 100%, siendo la última el extracto etanólico puro sin diluir con ningún agente. Todos los extractos a diferentes concentraciones son almacenados en frascos ámbar de boca ancha y sellada herméticamente para su posterior uso.

60

Reactivación de la Cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

Para la reactivación de la cepa ATCC, esta se mantendrá en refrigeración entre 2 y 8 °C, desde la compra hasta la reactivación en el Lab. Central UAP. Esta cepa estará contenida en su respectivo envase Kwik – Stick™, luego se retirará considerando estrictamente las indicaciones del fabricante, será sembrada en placas con medio TSA, e incubada por 48 horas y a 37°C. Este paso se realizará en un tiempo no mayor a 5 minutos.⁶⁰

Actividad Antimicrobiana: Método de difusión en disco

La medición de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo por medios de discos de difusión; se prepara un inóculo en un tubo de ensayo con 5 ml agua destilada con la cepa de *Streptococcus mutans* a razón de 0.5 según escala de Mc Farland. 100µl

del inóculo contiene aproximadamente 10^8 UFC/ml que será sembradas en placas de agar sangre según los grupos de estudio.

Para medir la actividad antimicrobiana, discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro fueron impregnados con 100µl del ex. etanólico de *Passiflora edulis* por cada una de sus respectivas concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, para ser incluidas en las placas de agar sangre sembradas con la cepa. Como control positivo se colocó un disco de 6 mm impregnado con 100µl de ampicilina; este proceso se repetirá 4 veces para establecer una media del efecto antibacteriano.⁵⁸ El mismo procedimiento se realizó para la clorhexidina al 0.12%.

Todas las placas fueron rotuladas y llevadas a incubadora por 48 horas y a 37°C. Posteriormente la actividad antimicrobiana es evaluada mediante la medición del diámetro de los halos de inhibición de crecimiento microbiano, para luego estos datos ser registrados en la FRD.

Actividad Antimicrobiana: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se realizó un método de dilución en serie para el extracto etanólico de *Passiflora edulis*.⁵⁸ Se preparó de 10 tubos en serie, el primer tubo contenía 1 ml de caldo nutritivo BHI. Al mismo se añadió 1ml de extracto etanólico de maracuya homogenizando. Luego se tomó 1 ml del primer tubo al tubo segundo y siguiendo el mismo procedimiento con los tubos restantes.

Se añaden 100 ul del inóculo debajo de la superficie a cada uno de los tubos ajustado espectrofotométricamente a 5×10^5 .

Se preparan dos tubos adicionales para controlar el crecimiento bacteriano y su esterilidad. La concentración más baja de extracto etanólico de *Passiflora edulis* que eliminó el crecimiento bacteriano visible de colonias sobre placa definió la concentración mínima bactericida.⁵⁸

4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información

En el análisis univariado, se usó pruebas de estadística descriptiva como medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis bivariado, primero se evaluó

la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk., al ser simétrica, se utilizó ANOVA para comparar el efecto antibacteriano.

Se empleó el programa de Microsoft Excel para la recopilación de datos y para el análisis se usará el paquete estadístico SPSS versión 25.0

4.4 Aspectos Éticos

El presente estudio al ser un estudio experimental in vitro, no existió contacto alguno con individuos, únicamente se utilizaron cepas microbianas. Asimismo, se utilizó materiales e instrumental de laboratorio cuyo objetivo será compara el efecto antibacteriano entre dos agentes químicos; por ende, no es requerido el consentimiento informado.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos, fotos, tablas, etc

Tabla Nº 1

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

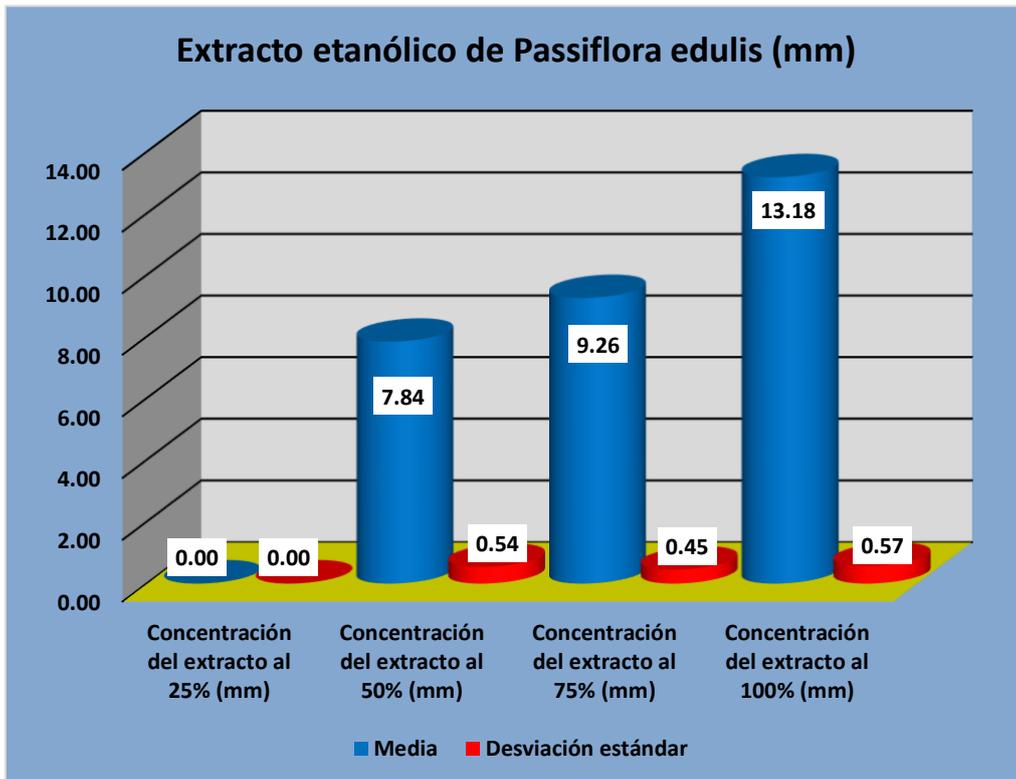
Extracto etanólico de <i>Passiflora edulis</i> (mm)					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Concentración del extracto al 25% (mm)	16	0,00	0,00	0	0
Concentración del extracto al 50% (mm)	16	7,84	0,54	6,9	9,1
Concentración del extracto al 75% (mm)	16	9,26	0,45	8,5	9,9
Concentración del extracto al 100% (mm)	16	13,18	0,57	12,6	14,3

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro en el efecto antibacteriano del extracto de etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) tenemos una mayor concentración con un promedio o media del total con un valor de 13,18 (mm) y un valor en la desviación estándar es 0,57 (mm) con un mínimo valor de 12,6 (mm) y un máximo valor de 14,3 (mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25125). Por lo que la cepa es resistente a las concentraciones de 25% y 50% ; y de sensibilidad baja y media para 75% y 100% respectivamente.

Gráfico N° 1

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)



Fuente: Propia del investigador

Tabla N° 2

Efecto antibacteriano in vitro de la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa S.mutans (ATCC 25125)

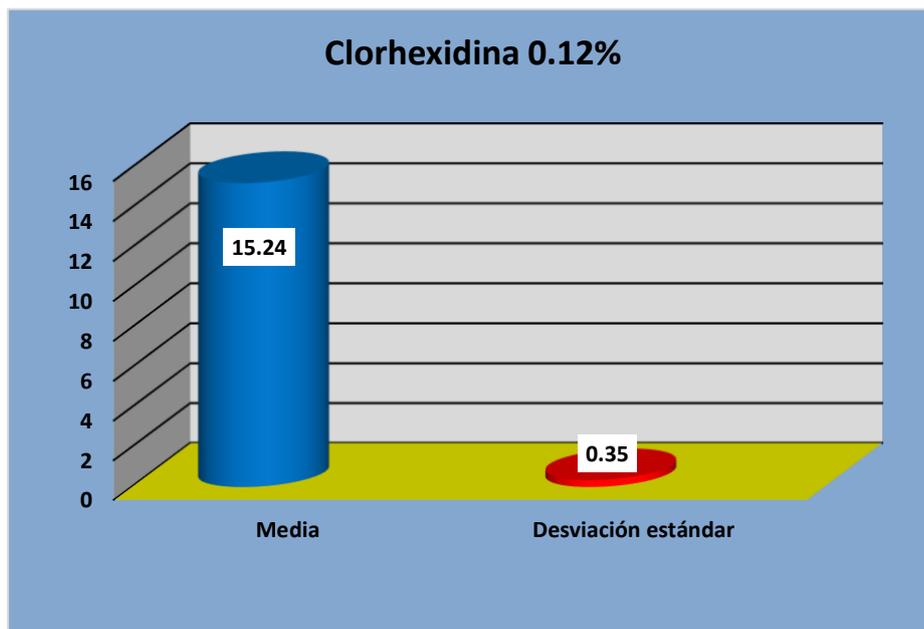
Clorhexidina 0.12%					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Clorhexidina 0.12%	16	15,24	0,35	14,8	15,8

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra in vitro el efecto antibacteriano de la Clorhexidina 0.12% tenemos un promedio o media del total con un valor de 15,24 (mm) y un valor en la desviación estándar es 0,35 (mm) con un mínimo valor de 14,8 (mm) y un máximo valor de 15,8 (mm) en concentraciones sobre cepas de S.mutans (ATCC 25125).

Gráfico N° 2

Efecto antibacteriano in vitro de la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa S.mutans (ATCC 25125)



Fuente: Propia del investigador

Tabla N° 3

CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

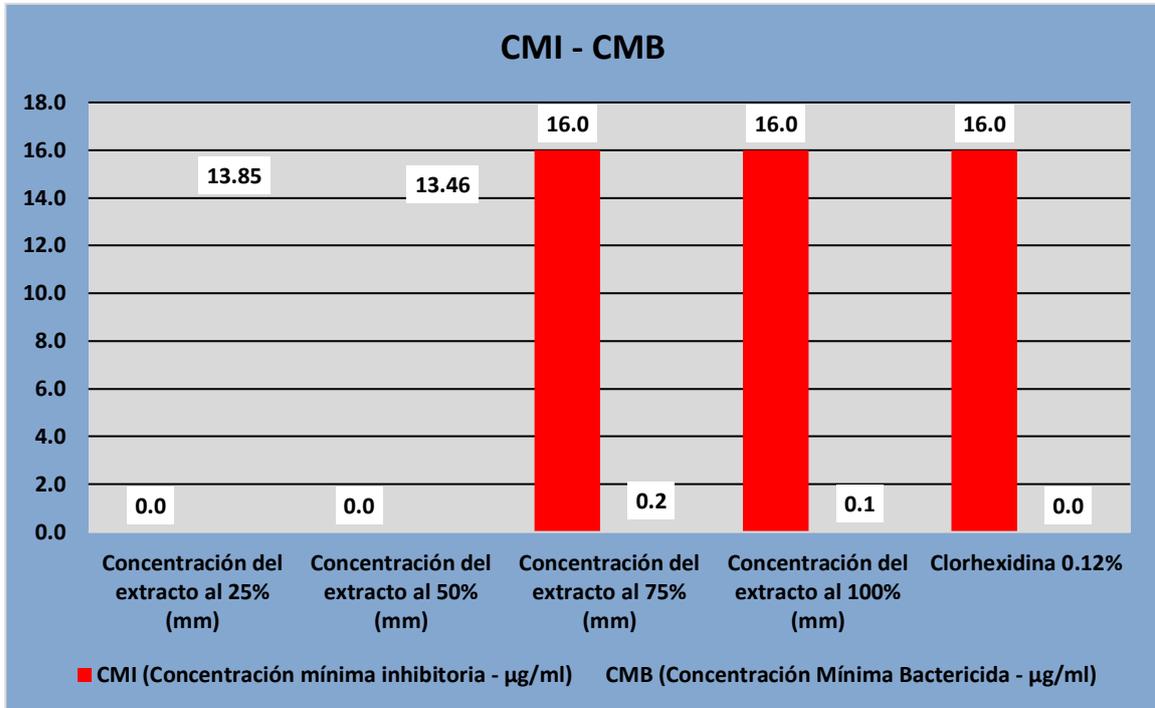
	CMI (Concentración mínima inhibitoria - µg/ml)		CMB (Concentración Mínima Bactericida - UFC)	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Concentración del extracto al 25% (mm)	0,0	0,0	13,85	100,0
Concentración del extracto al 50% (mm)	0,0	0,0	13,46	100,0
Concentración del extracto al 75% (mm)	16,0	100,0	0,2	100,0
Concentración del extracto al 100% (mm)	16,0	100,0	0,1	100,0
Clorhexidina 0.12%	16,0	100,0	0,0	0,0

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro tenemos un mayor porcentaje en el CMI (Concentración mínima inhibitoria) con 16,0 (µg/ml) en las concentraciones de 75%,100% y la Clorhexidina 0.12% sobre cepas de *S.mutans* (ATCC 25125).

Gráfico N° 3

CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)



Fuente: Propia del investigador

5.2 Análisis inferencial, pruebas estadísticas paramétricas, no paramétricas, de correlación, de regresión u otras

Tabla N° 4

Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

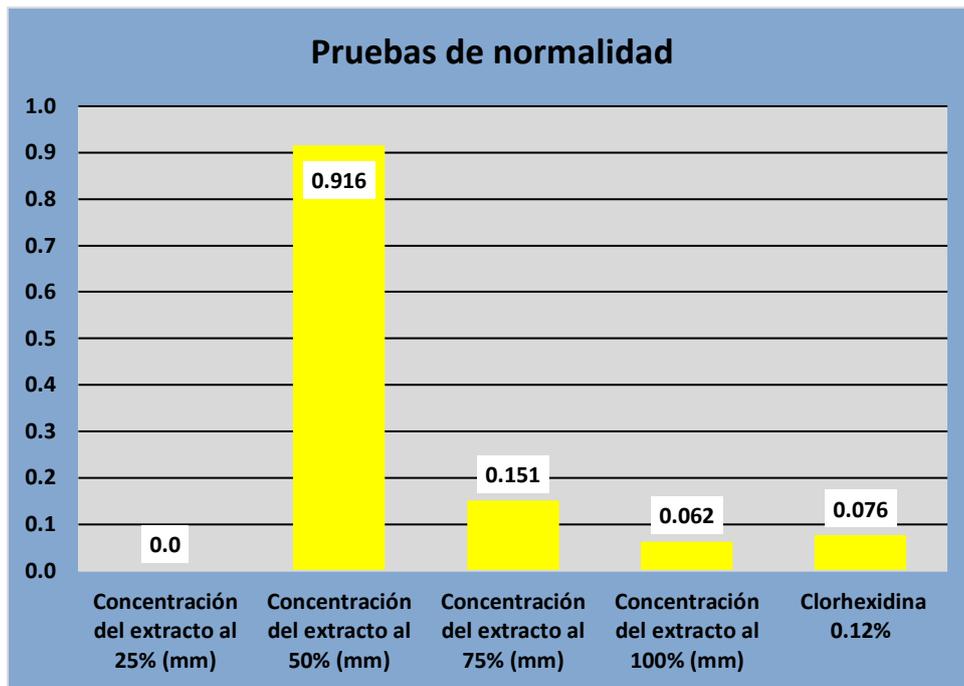
Pruebas de normalidad			
	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Concentración del extracto al 25% (mm)	-	16	-
Concentración del extracto al 50% (mm)	0,975	16	0,916
Concentración del extracto al 75% (mm)	0,917	16	0,151
Concentración del extracto al 100% (mm)	0,875	16	0,062
Clorhexidina 0.12%	0,899	16	0,076

Fuente: propia del investigador

Se realizó la prueba de normalidad en este caso usaremos a Shapiro-Wilk ya que las nuestras son menores de 50; para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* de cada concentración con la finalidad de demostrar que estos tienen una distribución normal ($P \geq 0,05$) al 95 % de nivel de confianza. Se encontró que en el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% mm y la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, presentan distribución normal ($P \geq 0,05$).

Gráfico N° 4

Prueba de normalidad de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25%, 50%, 75 % y 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans*



Fuente: Propia del investigador

5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

Tabla Nº 5

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

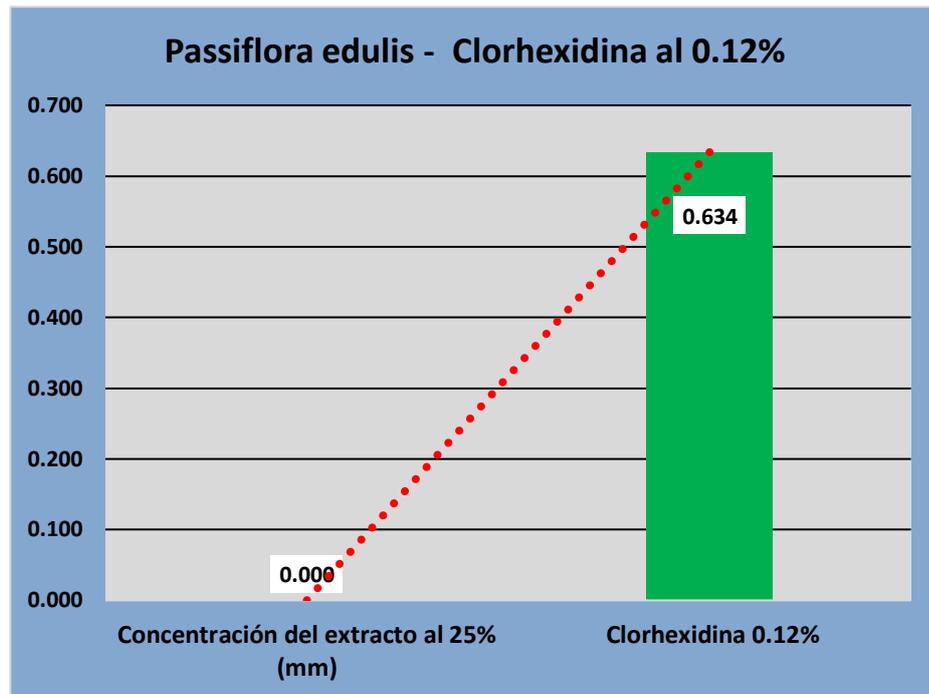
ANOVA						
Halo de inhibición						
Passiflora edulis - Clorhexidina al 0.12%						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración del extracto al 25% (mm)	Entre grupos	0,000	1	0,000	-	-
	Dentro de grupos	0,000	14	0,000		
	Total	0,000	15			
Clorhexidina 0.12%	Entre grupos	0,031	1	0,031	0,237	0,634
	Dentro de grupos	1,809	14	0,129		
	Total	1,839	15			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba ANOVA no se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 25% y la Clorhexidina 0.12%; con lo que se pudo concluir que no existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 5

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)



Fuente: Propia del investigador

Tabla N° 6

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 50% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

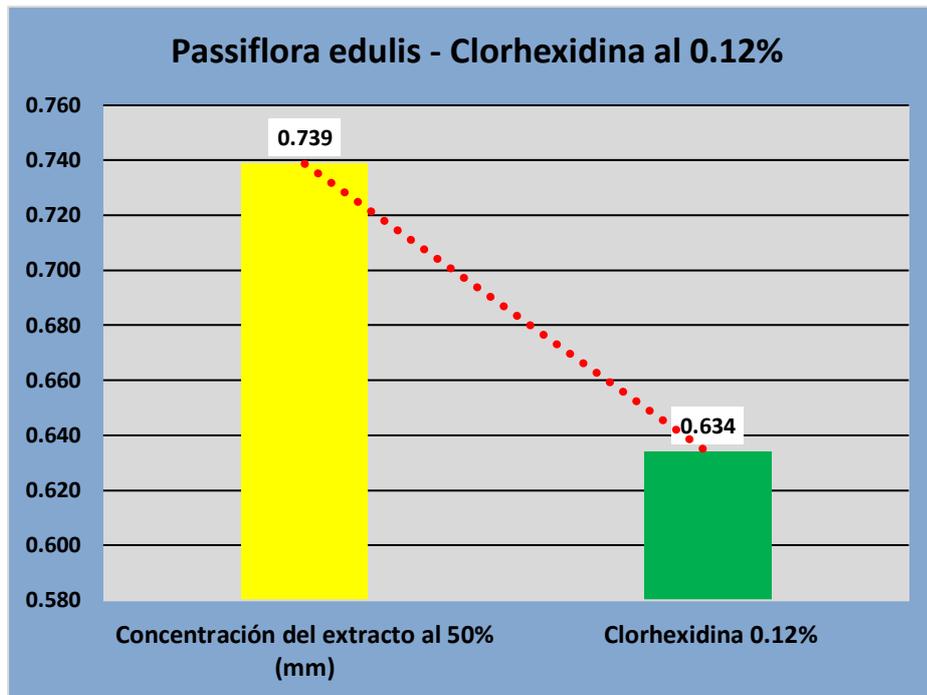
ANOVA						
Halo de inhibición						
<i>Passiflora edulis</i> - Clorhexidina al 0.12%						
Concentración del extracto al 50% (mm)	Entre grupos	0,040	1	0,040	0,116	0,739
	Dentro de grupos	4,838	14	0,346		
	Total	4,878	15			
Clorhexidina 0.12%	Entre grupos	0,031	1	0,031	0,237	0,634
	Dentro de grupos	1,809	14	0,129		
	Total	1,839	15			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova no se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 50% y la Clorhexidina 0.12%; con lo que se pudo concluir que no existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 6

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 50% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)



Fuente: Propia del investigador

Tabla N° 7

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 75% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

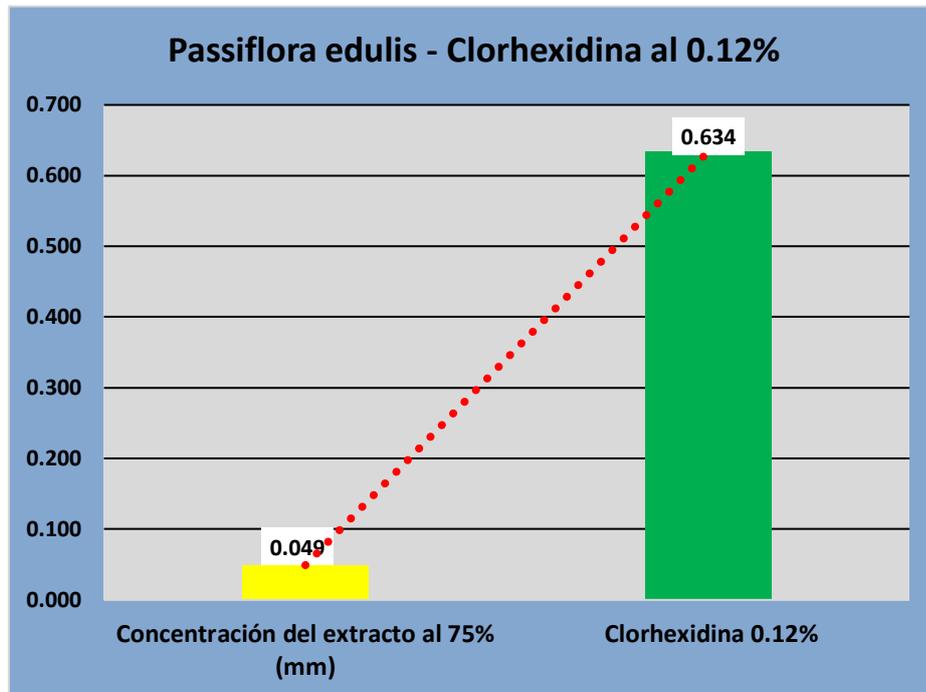
ANOVA						
Halo de inhibición						
<i>Passiflora edulis</i> - Clorhexidina al 0.12%						
Concentración del extracto al 75% (mm)	Entre grupos	0,141	1	0,141	0,675	0,049
	Dentro de grupos	2,919	14	0,208		
	Total	3,059	15			
Clorhexidina 0.12%	Entre grupos	0,031	1	0,031	0,237	0,634
	Dentro de grupos	1,809	14	0,129		
	Total	1,839	15			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 75%; $P = 0,049$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 7

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 75% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).



Fuente: Propia del investigador.

Tabla N° 8

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

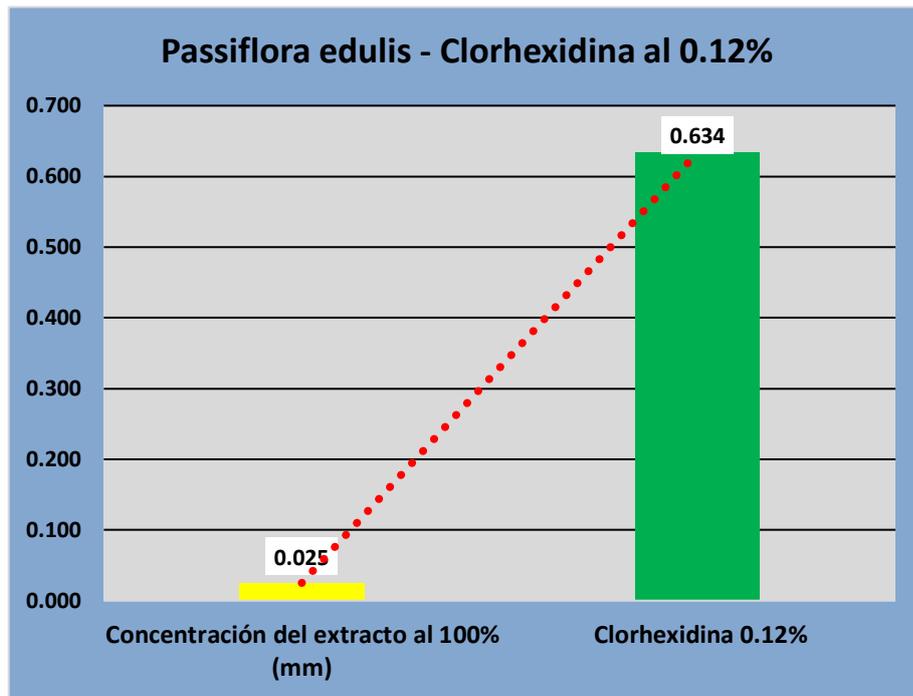
ANOVA						
Halo de inhibición						
<i>Passiflora edulis</i>						
Concentración del extracto al 100% (mm)	Entre grupos	0,391	1	0,391	1,397	0,025
	Dentro de grupos	3,914	14	0,280		
	Total	4,304	15			
Clorhexidina 0.12%	Entre grupos	0,031	1	0,031	0,237	0,634
	Dentro de grupos	1,809	14	0,129		
	Total	1,839	15			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; $P = 0,025$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 8

Comprobación de halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).



Fuente: Propia del investigador

Tabla N° 9

Comparar in vitro el CMI y CMB del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125)

		ANOVA									
		CMI (Concentración mínima inhibitoria)					CMB (Concentración Mínima Bactericida)				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración del extracto al 25% (mm)	Entre grupos	0,000	1	0,000	0,000	0,000	0,058	1	0,058	4,294	0,057
	Dentro de grupos	0,000	14	0,000			0,189	14	0,014		
	Total	0,000	15				0,247	15			
Concentración del extracto al 50% (mm)	Entre grupos	0,000	1	0,000	0,000	0,000	0,108	1	0,108	5,246	0,038
	Dentro de grupos	0,000	14	0,000			0,289	14	0,021		
	Total	0,000	15				0,397	15			
Concentración del extracto al 75% (mm)	Entre grupos	0,563	1	0,563	4,200	0,060	0,000	1	0,000	0,000	1,000
	Dentro de grupos	1,875	14	0,134			0,000	14	0,000		
	Total	2,438	15				0,000	15			
Concentración del extracto al 100% (mm)	Entre grupos	1,266	1	1,266	4,765	0,047	0,000	1	0,000	0,000	1,000
	Dentro de grupos	3,719	14	0,266			0,000	14	0,000		
	Total	4,984	15				0,000	15			
Clorhexidina 0.12%	Entre grupos	1,000	1	1,000	2,333	0,149	0,000	1	0,000	0,000	0,000
	Dentro de grupos	6,000	14	0,429			0,000	14	0,000		
	Total	7,000	15				0,000	15			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; donde $P = 0,047$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la concentración mínima inhibitoria en las 16 muestras realizadas en el laboratorio. Consecutivamente podemos observar en la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 50%; donde $P = 0,038$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la concentración mínima bactericida en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

5.4 Discusión

Este estudio tuvo como objetivo comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

Es importante referir que los estudios fitoquímicos establecen que las plantas poseen en su composición diferentes productos que requieren para su crecimiento y desarrollo mediante las denominadas rutas metabólicas y estas rutas se conocen como metabolitos, ya sean primarios y secundarios, los cuales a su vez les atribuyen propiedades especiales a la especie vegetal, ejerciendo una acción farmacológica, favorable o perjudicial, sobre el organismo humano.

De los resultados obtenidos en este estudio in vitro del efecto antibacteriano del extracto de etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) se encontró que el extracto a las concentraciones de 25% y 50% no presentaba efecto alguno en los halos de inhibición del crecimiento bacteriano sobre el *S.mutans* (ATCC 25125); mientras que a una mayor concentración si tuvo efecto, con un promedio o media del total con un valor de 13,18 (mm) y un valor en la desviación estándar es 0,57 (mm) con un mínimo valor de 12,6 (mm) y un máximo valor de 14,3 (mm), en concentraciones al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25125); resultados similares con estudios previos de frutos provenientes de la Familia *Passiflora*, como la investigación realizada por **Calderón et al (2019)**,⁶² que usando un extracto etanólico de *Passiflora mollissima* a una concentración de 100%, encontraron una media de 12.8 mm y una desviación estándar de 2.00 mm., y el estudio realizado por **Kannan et al (2010)**,⁵⁹ quienes en su investigación publicada usando extracto metanólico de hojas de *Passiflora mollissima*, llegaron también a la conclusión que presentan un efecto antimicrobiano significativo sobre bacterias grampositivas como el *Staphylococcus aureus* y bacterias gramnegativas como la *Salmonella typhi*; que corroboran el efecto antibacteriano de esta Familia *Passiflora* sobre este agente microbiano grampositivos como el *Streptococcus mutans*, principal agente etiológico de la caries dental.

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro el efecto antibacteriano de la Clorhexidina 0.12% tenemos un promedio o media del total con un valor de 15,24

(mm) y un valor en la desviación estándar es 0,35 (mm) con un mínimo valor de 14,8 (mm) y un máximo valor de 15,8 (mm) en concentraciones sobre cepas de *S. mutans* (ATCC 25125); resultados similares a los obtenidos por **Ayala et al (2016)**,⁶³ quienes usando barnices de una combinación de clorhexidina 1 % y fluoruro de sodio 5 % encontraron una inhibición de crecimiento de 15.267 mm y una desviación estándar de 9.816; mientras que difiere con los resultados de **Aguilera et al (2011)**,⁶⁴ quienes en su investigación de sensibilidad a la clorhexidina al 0.12%, encontraron halos de inhibición de crecimiento de 8.0 mm de media; que corroboran el efecto antibacteriano de este agente químico y la sensibilidad del *Streptococcus mutans* a la Clorhexidina, pero que se refieren, por los estudios previos, diferentes medias en los halos de inhibición. Es importante recalcar que el gluconato de clorhexidina al ser una bisbiguanida se considera de acción rápida y presenta un elevado índice de adhesión residual o permanencia en la piel (sustantividad), 7 a 12 h en concentraciones al 0.12% y 0.2% y en combinación con otros compuestos como alcoholes, usado en los colutorios, presenta un amplio espectro antimicrobiano y fungicida.

Antes de la comparar, se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (muestras menores de 50); para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la clorhexidina al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* de cada concentración se demostró la distribución normal ($P \geq 0,05$) al 95 % de nivel de confianza. Por lo que se procedió a utilizar la prueba de ANOVA para la comparación del efecto de antibacteriano.

De acuerdo a la prueba ANOVA no se registró una significancia ($p < 0,05$). En las concentraciones al 25% y 50% del extracto, y la Clorhexidina 0.12%; con lo que se pudo concluir que no existe diferencias en la efectividad de estas concentraciones experimentales para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

Asimismo, para las concentraciones de 75% ($P=0,049$) y 100% ($P=0,025$) en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 16 muestras realizadas en el laboratorio frente a la Clorhexidina 0.12%. Por lo que se concluye similar efecto antibacteriano, sobre todo al 100%, al de la clorhexidina

0.12%. Y al no existir estudios comparativos previos es necesario realizar investigaciones complementarias para corroborar los resultados de este estudio.

Ahora, de acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; donde $P = 0,047$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la concentración mínima inhibitoria en las 16 muestras realizadas en el laboratorio. Consecutivamente podemos observar en la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 50%; donde $P = 0,038$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la concentración mínima bactericida en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

CONCLUSIONES

Existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

No existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 25% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

No existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 50% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 75% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición del extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) al 100% y la CHX al 0.12% sobre el crecimiento de la cepa *S.mutans* (ATCC 25125).

Existe diferencias en CMI entre la concentración al 100%; ($P=0,047$) en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) y la CHX al 0.12% . Consecutivamente podemos observar en la prueba Anova se registró una significancia ($p<0,05$). En la concentración al 50%; donde $P=0,038$ en el extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá) con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en CMB en las 16 muestras realizadas en el laboratorio.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios que corroboren los resultados obtenidos en la presente investigación, mediante pruebas cualitativas y cuantitativas, fundamentales para sustentar el uso de la *Passiflora edulis* (Maracuyá) en terapia alternativa frente a infecciones orales.

Continuar estudios sobre el efecto antimicrobiano de la *Passiflora edulis* (Maracuyá) frente a otros microorganismos patógenos de la cavidad oral.

Fomentar investigaciones y el estudio fitoquímico para identificar los componentes de la *Passiflora edulis* (Maracuyá) responsables del efecto antimicrobiano y sea utilizado en la elaboración de productos terapéuticos a nivel oral.

Continuar con los estudios comparativos de productos vegetales con clohexidina y fomentar nuevos productos de uso en salud oral continuo, sin contraindicaciones y reacciones adversas.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Loesche W. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbial Rev* 1986;50:353–380.
2. Bowden GH. The role of microbiology in models of dental caries. *Adv Dent Res* 1995;9:244–254.
3. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994;73:672–681.
4. Corby Y, Lyons-Weiler J, Bretz WA, et al. Microbial risk indicators of early childhood caries. *J Clin Microbiol* 2005;43: 5753–5759.
5. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol* 2008;46:1407–1417.
6. Chhour LK, Nadkarni MA, Byun R, et al. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol* 2005;43:843–849.
7. Ten Cate J. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999;57:325–329.
8. Hamilton IR. Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. *Caries Res* 1977;11:262–291.
9. Haraszthy VI, Zambon JJ, Sreenisavan PK. Evaluation of the antimicrobial activity of dentifrices on human oral bacteria. *J Clin Dent* 2010;21:96–100.
10. Arnold WA, Dorow A, Langenhorst S, Ginter Z, Banoczy J. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Hlth* 2006;6:1–6.
11. Duckworth RM, Knoop DT, Stephen KW. Effect of mouthrinsing after toothbrushing with a fluoride dentifrice on human salivary fluoride levels. *Caries Res* 1991;25:287–291.
12. Den Besten P, Ko HS. Fluoride levels in whole saliva of preschool children after brushing with 0.25 g (pea sized) as compared to 1.0 g (full brush) of a fluoride dentifrice. *Pediatr Dent* 1996;18:277–280.

13. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol* 2010;192:5002–17.
14. Armitage GC. Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics: a 50-year perspective. *Periodontol* 2000 62: 20–36.
15. Pan PC, Harper S, Ricci-Nittel D, Lux R, Shi W. In-vitro evidence for efficacy of antimicrobial mouthrinses. *J Dent* 2010; 38(Suppl 1): S16–S20.
16. Marsh PD. Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. *Caries Res* 1993; 27(Suppl 1): 72–76.
17. Turesky S, Warner V, Lin PS, Soloway B. Prolongation of antibacterial activity of chlorhexidine adsorbed to teeth. Effect of sulfates. *J Periodontol* 1977; 48: 646–649.
18. Ernst CP, Prockl K, Willershausen B. The effectiveness and side effects of 0.1% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses: a clinical study. *Quintessence Int* 1998; 29: 443–448.
19. Addy M, Moran J, Newcombe R. A comparison of 0.12% and 0.1% chlorhexidine mouthrinses on the development of plaque and gingivitis. *Clin Prev Dent* 1991; 13: 26–29.
20. Hepso HU, Bjornland T, Skoglund LA. Side-effects and patient acceptance of 0.2% versus 0.1% chlorhexidine used as post-operative prophylactic mouthwash. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988; 17: 17–20.
21. Zibadi S, Watson RR. Passion fruit (*Passiflora edulis*) composition, efficacy and safety. *Evid Based Integrative Med* 2004; 1: 183–7.
22. Nicolls JM, Birner J, Forsell P. Passicol, an antibacterial and antifungal agent produced by *Passiflora* plant species: qualitative and quantitative range of activity. *Antimicrob Agents Chemother* 1973; 3: 110–7.
23. Lee DW, Jung JE, Yang YM, Kim JG, Yi HK, Jeon JG. The antibacterial activity of chlorhexidine digluconate against *Streptococcus mutans* biofilms follows sigmoidal patterns. *Eur J Oral Sci* 2016; 124: 440–446.
24. Sharma M, Tandon S, Aggarwal V, Bhat KG, Kappadi D, Chandrashekar P, Dorwal R. Evaluation of antibacterial activity of *Calotropis gigantea* against

- Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An in vitro comparative study. *Journal of Conservative Dentistry*. 2015; 18(6): 457 – 460.
25. Pardo-Jumbo A, Matute NL, Echavarría AP Determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*). *FAC SALUD-UNEMI*. 2017; 1(1): 5 - 11.
26. Ramos H, Pari R. Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Kunth) “tumbo serrano”. [Tesis Título Profesional]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2019.
27. Ruiz Gutierrez Y y Sifuentes Gonzales K. evaluación in vitro de la fotoprotección del extracto de las hojas de *Passiflora edulis* “maracuyá”. [Tesis Bachiller]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
28. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa Rica. Costa Rica: Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola; 1991. p.30-2.
29. Galindo F, Villavicencio M. Maracuyá. Seminario de Agronegocios. Lima: Universidad del Pacífico; 2000.
30. Puricelli L, Dell’Aica I, Sartor L, Garbisa S, Caniato R. Preliminary evaluation of inhibition of matrix metalloprotease MMP-2 and MMP-9 by *Passiflora edulis* and *P. foetida* aqueous extracts. *Fitoterapia*. 2003;74(3):302-4.
31. Rowe C, Nantz M, Deniera C, Green K, Talcott S, Percival S. Inhibition of neoplastic transformation of benzo[alpha]pyrene-treated BALB/c 3T3 murine cells by a phytochemical extract of passion fruit juice. *J Med Food*. 2004;7(4):402-7.
32. Gonçalves A, Martins O, Ligocki A, Tâmbara R, De Almeida C, Arnulf T, et al. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* (maracujá) na cicatrização de bexiga em ratos: estudo morfológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2006;21(Supl. 2):3-8.
33. Vargas A, Geremias D, Provensi G, Fornari P, Reginatto F, Gosmann G, et al. *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. *Fitoterapia*. 2007;78(2):112-9.

34. Montanher A, Zucolotto S, Schenkel E, Fröde T. Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. *J Ethnopharmacol.* 2007;109(2):281-8.
35. Ngo E, Ngahb E, Ekoundic C, Dongc C, Ayissi R, Rakotonirinac S, et al. Sedative and anticonvulsant properties of *passiflora edulis* dried leaves decoction in mice. *Afr J Trad CAM.* 2004;1:63-71.
36. Müller V, Chávez J, Reginatto F, Zucolotto S, Niero S, Navarro D, et al. Evaluation of antiviral activity of south american plant extracts against herpes simplex virus type 1 and rabies virus. *Phytother Res.* 2007;21:970-4
37. Pelegrini P, Noronha E, Muniz M, Vasconcelos I, Chiarello M, Oliveira J, et al. An antifungal peptide from passion fruit (*Passiflora edulis*) sedes with similarities to 2S albumin proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1764(6):1141-6.
38. Petry R, Reginatto F, de-Paris F, Gosmann G, Salgueiro J, Quevedo J, et al. Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves. *Phytother Res.* 2001;15:162-4.
39. Reginatto F, De-Paris F, Petra R, Quevedo J, González G, Gosmann G, et al. Evaluation of anxiolytic activity of spray dried powders of two south Brazilian *Passiflora* species. *Phytother Res.* 2006;20:348-51.
40. Coleta M, Batista M, Campos M, Carvalho R, Cotrim M, De Lima T, et al. Neuropharmacological evaluation of the putative anxiolytic effects of *Passiflora edulis* Sims, its sub-fractions and flavonoid constituents. *Phytother Res.* 2006;20:1067-73.
41. Barbosa P, Valvassori S, Bordignon C, Kappel V, Martins M, Gavioli E, et al. The aqueous extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* reduce anxiety-related behaviors without affecting memory process in rats. *J Med Food.* 2008;11(2):282-8.
42. Bruschi M, Cardoso M, Milani H. Avaliação farmacológica de um extrato de *Passiflora edulis* variedade flavicarpa. *Rev Ciênc Farm.* 2002;23(2):263-76.
43. Dhawan K, Kumar S, Sharma A. Comparative biological activity study on *Passiflora incarnata* and *P. edulis*. *Fitoterapia.* 2001;72:698-702

44. Maluf E, Barros M, Frochtengarten M, Benti R, Leite J. Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *Passiflora edulis* aqueous extract in rodents and humans. *Phytother Res.* 1991;5:262-6.
45. Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of Chlorhexidine. *J Hosp Infect* 1993; 25 : 229-38.
46. Fitzgerald K A, Davis A, Russell AD. Uptake of ¹⁴C-chlorhexidine diacetate to *E. coli* and *P. aeruginosa* and its release by azolectin. *FEMS Microbiol Lett* 1989; 60: 327-32.
47. Hiom SJ, Furr JR, Russell AD, Dickinson JR. Effects of chlorhexidine diacetate on *C. albicans*, *C glabrata* and *S cerevisiae*. *J Appl Bacteriol* 1992; 72: 335-40.
48. Disinfectants and preservatives. In: Parfitt E, ed. *Martindale: the complete drug reference*. 32th ed. London: Pharmaceutical Press; 1999. p.1097127.
49. Perapoch J, Salcedo S, Gallart A, Peguero G, Casellas M, Barroso C, et al. Colonización umbilical en recién nacidos normales. Estudio comparativo de cuatro métodos de antisepsia umbilical. *An Esp Pediatr* 1993; 39: 195-8.
50. Pava Ángel T. Actividad antimicrobiana de extractos de *Allium Sativum* y *Zingiber officinale* sobre microorganismos de importancia en patologías infecciosas de la cavidad oral. [Trabajo de grado]. Bogota: Pontificia Universidad Javeriana; 2016.
51. Nakano y Col, et al. Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44(9):3313–7.
52. Martínez MC, Rodríguez A. Estudio de las cepas de *Streptococos* del grupo *mutans* presentes en binomios madre–hijo. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*. 2010; 21 (2): 177 - 186
53. Caufield, P. W., Cutter, G. R., & Dasanayake, A. P. (1993). Initial acquisition of *mutans streptococci* by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res*. 1993; 72(1): 37-45
54. Berkowitz RJ. *Mutans streptococci: acquisition and transmission*. *Pediatric dentistry*. 2006;28(2):106–109

55. Napimoga MH, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. *Journal of Oral Science*. 2005;47(2):59–64.
56. Agapito T, Sung I. *Fito Medicina 110 Plantas Medicinales*. 1° edición. Lima: Editorial Isabel IRL; 2003.
57. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg-26*. Mc Graw Hill. 2014
58. Mohanasundari C, Natarajan D, Srinivasan K, Umamaherwari S, Ramachandran A. Antibacterial Properties of *Passiflora foetida* L a common exotic medicinal plant. *Afr J Biotechnol* 2007; 6 (23): 2650 – 53
59. Kannan S, Parimala B, Jayakar B. In vitro antibacterial activity of various extracts on leaves of *Passiflora mollisima*. *J Chem Pharm Res*. 2010; 2 (5): 225 – 8.
60. Martínez H, Mayorga, L. Implementación de un sistema para el mantenimiento de cepas de bacterias en el laboratorio de microbiología de la Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas. [Tesis de pregrado]. Bogotá-Colombia: Universidad Distrital Francisco José de Caldas; 2013.
61. Ccallo S. Concentracion minima inhibitoria de la aceite esencial del *Mintostachys mollis* (Muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Porphyromona gingivalis*. [Tesis Pregrado]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
62. Calderón A, Salas J, Dapello G, Gamboa E, Rosas J, Chávez J, Retuerto F, Mayta-Tovalino F. Assessment of Antibacterial and Antifungal Properties and In Vivo Cytotoxicity of Peruvian *Passiflora mollisima*. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, February 2019;20(2):145-151
63. Ayala G, Álvarez M, Nuñez M. Efecto de la combinación de clorhexidina y fluoruro de sodio sobre *Streptococcus mutans* en preescolares con manchas blancas. *Rev. Estomatol. Herediana*. 2016; 26(3): 132 – 138.

64. Aguilera MC, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). ODOUS CIENTIFICA. 2011; 12(1): 7 – 13.

ANEXO N° 1



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

N° de Ficha: _____

Fecha: _____

Nombre del Investigador: _____

Microorganismo estudiado: Cepa Streptococcus mutans (ATCC 25125)

Medio de cultivo usado:

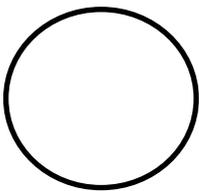
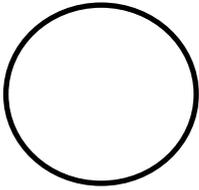
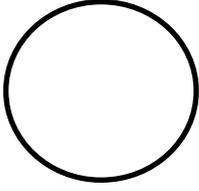
Técnica de siembra usada: Difusión de disco en Placa/D

Cultivo positivo: Si () No ()

Agente antimicrobiano a evaluar: _____

Temperatura de cultivo: 37°C Tiempo de cultivo: 48 hrs

Efecto Antibacteriano

Esquema	Discos de sensibilidad	Presencia de Halo de Inhibición Medida (mm)	CMI/CMB
Placa 01 	Disco 01 () Disco 02 () Disco 03 () Disco 04 ()	Si () No () Si () No () Si () No () Si () No ()	_____ _____ _____ _____
Placa 02 	Disco 05 () Disco 06 () Disco 07 () Disco 08 ()	Si () No () Si () No () Si () No () Si () No ()	_____ _____ _____ _____
Placa 03 	Disco 09 () Disco 10 () Disco 11 () Disco 12 ()	Si () No () Si () No () Si () No () Si () No ()	_____ _____ _____ _____

ANEXO N° 2

Certificado de cepa Streptococcus mutans (ATCC 25175)



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-26** Reference Number: ATCC® 25175™** Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/2/29 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2018/3/13
--	--

Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Performance Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative <div style="text-align: center;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
---	---

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual basic lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans
 Sample Description: 0266
 Sample ID: 266-26
 Sample Creation Date/Time: 2018-03-08T11:58:23.608 cs
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D1 (+++)(A)	266-26	Streptococcus mutans	2.09

Comments:

n/a

ANEXO N° 3

Constancia de Ejecución de Investigación



PERÚ

Ministerio
de Defensa

Marina de Guerra
del Perú

Dirección del Centro
Médico Naval "CMST"

"DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA LA MUJER Y HOMBRE"
"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"

CONSTANCIA

Por medio el presente, certifica que el Bachiller, **Luis Jhorlly Jhivan SANDOVAL Jaramillo**, con Número de DNI 47333095 y Código 2010208457, de la Escuela Profesional de Estomatología – Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, procedente de la Universidad Alas Peruanas, ha ejecutado su trabajo de Investigación (tesis) con Título: "COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PASSIFLORA EDULIS (MARACUYÁ) Y CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE LA CEPA STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25125)" en el Área de Microbiología del Laboratorio Suiza Lab, con sede en el Centro Médico Naval "CMST" cumpliendo con los protocolos de bioseguridad establecidos.

Se expide la presente Constancia para ser presentada a la Universidad de procedencia y trámites personales.

Bellavista, 24 Noviembre 2020

Lic. Tec. Médico

Giovanna GUTIERREZ Valladares
DNI. 25743078


SINER S.A.S.
Instituto de Investigación y
Asesoría en Salud



ANEXO N° 4

Fotos de la Investigación

Elaboración de extracto etanólico de *Passiflora edulis* (Maracuyá)



Filtración de extracto etanólico para posterior secado en estufa.



Extracto etanólico diluido en 25%, 50%, 75% y al 100%

Elaboración de medios de cultivo



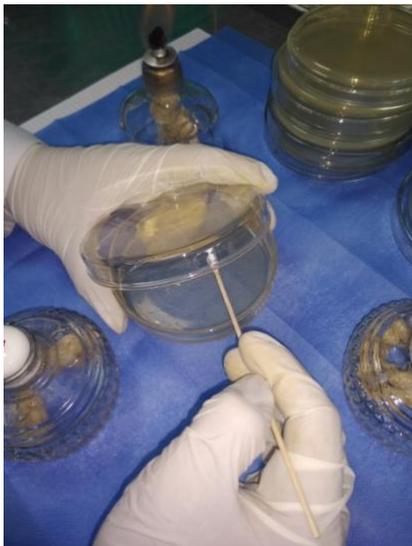
Mezcla, homogenización y autoclavado de medios de cultivo para el estudio

Reactivación de la Cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

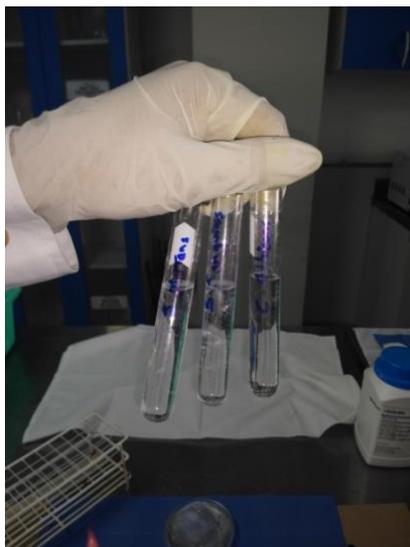


Apertura de kwikstik, siembra de cepa liofilizada e incubación

Efecto antibacteriano del extracto etanólico en diferentes porcentajes y clorhexidina al 0.12%



Siembra por difusión en placa para medición de halos de inhibición de crecimiento de cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

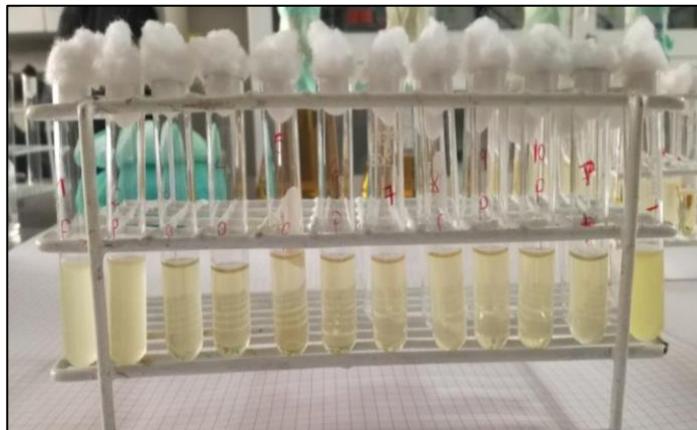


Siembra por difusión en tubo para medición de CMI y CMB sobre crecimiento de cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)

Resultados :



Medición de halo de inhibición de crecimiento de cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)



Medición de CMI y CMB sobre crecimiento de cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25125)