



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL VACCINIUM CORYMBOSUM
SOBRE LA *PREVOTELLA INTERMEDIA* (ATCC® 25611)**

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

PRESENTADO POR:

BACHILLER: AVILA SOTO, ALEXANDER JAVIER

ASESOR: Mg. C.D. GAMBOA ALVARADO, ELOY

LIMA – PERÚ

2019

A mi madre, por haberme apoyado en todo momento,
por sus consejos, sus valores, por la motivación
constante que me ha permitido ser una persona de
bien.

A Dios, por brindarme la dicha de salud, bienestar físico y espiritual, a mi madre, tíos y padrinos como agradecimiento de su esfuerzo, amor y apoyo incondicional durante mi formación tanto personal como profesional. A mi asesor el Mg. C.D. Gamboa Alvarado Eloy, por incentivar me a realizar el presente trabajo de tesis.

RESUMEN

El respectivo trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* "Arándano azul" sobre la *Prevotella Intermedia* a través de un diseño de investigación experimental, tipo de investigación prospectivo in vitro longitudinal y nivel cuantitativo. Para el cual se obtuvieron los frutos de la provincia de Cañete, se procedió a triturar los frutos de arándano azul, se filtró y se obtuvo el respectivo extracto etanólico a concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% por dilución con alcohol de 96°, realizado en la facultad de Farmacia y Bioquímica de UNMSM.

La prueba de efecto antibacteriano se realizó usando el método de Kirby Bauer, para el cual se utilizó 10 microlitros de extracto de arándano de cada concentración y 10 microlitros de sustancia control con ayuda de una micropipeta vertidos en 4 discos por placa con un total de 3 placas Petri por concentración en grupo experimental y 3 por grupo control utilizando el gluconato de Clorhexidina al 0.12% (DENTODEX), con medio de cultivo Müller Hinton previamente sembrados con *Prevotella Intermedia* con concentración igual a la escala de Mc Farland de 0.5, donde se incubó los medios a 37 °C y se realizó la lectura a las 12, 18 y 24 horas.

Se procedió a medir los diámetros de halos de inhibición en milímetros de cada disco de las concentraciones de grupo experimental y control, obteniendo un promedio de medida. Para el respectivo análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS versión 23, donde se utilizó la prueba estadística paramétrica Anova One Way donde se estableció la diferencia en periodos de tiempo de 12,

18 y 24 horas en grupo experimental a concentraciones y control, se evaluó la media, la varianza y desviación estándar.

Los respectivos resultados demostraron que a las 12 y 18 horas hubo mayor inhibición tanto en grupo experimental como control, siendo en grupo experimental donde las concentraciones de 75% y 100% fueron las más eficaces, pero a la vez el grupo control demostró mayor inhibición respecto a las mismas concentraciones.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Vaccinium Corymbosum*, *Prevotella intermedia*.

ABSTRACT

The objective of the research work was to determine the in vitro antibacterial effect of *Vaccinium Corymbosum* "Blueberry" on the *Prevotella Intermedia* through an experimental research design, type of prospective longitudinal in vitro research and quantitative level. For which the fruits of the province of Cañete were obtained, the cranberry fruits were crushed, filtered and the respective ethanolic extract was obtained at concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% by dilution with alcohol of 96°, realized in the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of UNMSM.

The antibacterial effect test was carried out using the Kirby Bauer method, for which 10 microliters of cranberry extract of each concentration and 10 microliters of control substance were used with a micropipette discharged in 4 disks per plate with a total of 3 Petri plates by concentration in experimental group and 3 by control group using 0.12% Chlorhexidine gluconate (DENTODEX), with Müller Hinton culture medium previously seeded with *Prevotella Intermedia* with concentration equal to the Mc Farland scale of 0.5, where the media was incubated at 37 ° C and read at 12, 18 and 24 hours.

We proceeded to measure the diameters of halos of inhibition in millimeters of each disc of the concentrations of experimental group and control, obtaining an average of measurement. For the respective statistical analysis, the statistical program SPSS version 23 was used, where the Anova One Way parametric statistical test was used where the difference was established in time periods of 12, 18 and 24 hours in the experimental group at concentrations and control, was evaluated the mean, the variance and standard deviation.

The respective results showed that at 12 and 18 hours there was greater inhibition in both the experimental and control groups, being in the experimental group where the concentrations of 75% and 100% were the most effective, but at the same time the control group showed greater inhibition regarding at the same concentrations.

Key words: Antibacterial effect, *Vaccinium Corymbosum*, *Prevotella Intermedia*.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
ÍNDICE	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE GRÁFICOS	
INTRODUCCIÓN	15
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
1.1 Descripción de la realidad problemática	18
1.2 Formulación del problema	22
1.3 Objetivos de la investigación	22
1.4 Justificación de la investigación	23
1.4.1 Importancia de la investigación	24
1.4.2 Viabilidad de la investigación	26
1.5 Limitaciones del estudio	28

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	29
2.1 Antecedentes de la investigación	29
2.2 Bases teóricas	42
2.3 Definición de términos básicos	58
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	61
3.1 Formulación de hipótesis principal y derivadas	61
3.1.1 Hipótesis principal	61
3.1.2 Hipótesis derivadas	61
3.2 Variables, dimensiones e indicadores y definición conceptual y operacional	62
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	64
4.1 Diseño metodológico	64
4.2 Diseño muestral	69
4.3 Técnica y ficha de recolección de datos	72
4.4 Técnicas de procesamiento de la información	73
4.5 Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información	74
4.6 Aspectos éticos contemplados	74
CAPÍTULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	76
5.1 Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, tablas, etc.	76

5.2 Análisis inferencial, prueba estadística paramétrica	88
5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas	97
5.4 Discusión	113
CONCLUSIONES	117
RECOMENDACIONES	118
FUENTES DE INFORMACIÓN	120
ANEXOS	132
Anexo 1: Carta de presentación	
Anexo 2: Constancia de desarrollo de la investigación	
Anexo 3: Ficha de recolección de datos	
Anexo 4: Matriz de consistencia	
Anexo 5: Certificado de taxonomía de <i>Vaccinium Corymbosum</i>	
Anexo 6: Certificado de marcha fitoquímica	
Anexo 7: Certificado de elaboración de extracto etanólico de <i>Vaccinium Corymbosum</i> a concentraciones	
Anexo 8: Certificación de cepa bacteriana	
Anexo 9: Certificación del agar Schaedler	
Anexo 10: Certificación de sangre de oveja desfibrinada estéril	
Anexo 11: Fotografías	

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1: Distribución de las sustancias antibacterianas del Vaccinium Corymbosum y clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	76
Tabla N° 2: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 25% sobre la Prevotella Intermedia	78
Tabla N° 3: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 50% sobre la Prevotella Intermedia	80
Tabla N° 4: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 75% sobre la Prevotella Intermedia	82
Tabla N° 5: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 100% sobre la Prevotella Intermedia	84
Tabla N° 6: Evaluación de la inhibición de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	86
Tabla N° 7: Efecto antibacteriano a las 12 horas del Vaccinium Corymbosum y la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	88
Tabla N° 8: Efecto antibacteriano a las 18 horas del Vaccinium Corymbosum y la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	91
Tabla N° 9: Efecto antibacteriano a las 24 horas del Vaccinium Corymbosum y la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	94
Tabla N° 10: Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 25% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas	97

Tabla N° 11: Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 50% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas	99
Tabla N° 12: Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 75% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas	101
Tabla N° 13: Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo del Vaccinium Corymbosum 75%	102
Tabla N° 14: Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 100% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas	105
Tabla N° 15: Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo del Vaccinium Corymbosum 100%	106
Tabla N° 16: Prueba ANOVA clorhexidina 0,12% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas	109
Tabla N° 17: Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo de la clorhexidina 0,12%	110

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico N° 1: Distribución de las sustancias antibacterianas del Vaccinium Corymbosum y clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	77
Gráfico N° 2: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 25% sobre la Prevotella Intermedia	79
Gráfico N° 3: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 50% sobre la Prevotella Intermedia	81
Gráfico N° 4: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 75% sobre la Prevotella Intermedia	83
Gráfico N° 5: Evaluación de la inhibición del Vaccinium Corymbosum 100% sobre la Prevotella Intermedia	85
Gráfico N° 6: Evaluación de la inhibición de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	87
Gráfico N° 7: Efecto antibacteriano a las 12 horas del Vaccinium Corymbosum y de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	90
Gráfico N° 8: Efecto antibacteriano a las 18 horas del Vaccinium Corymbosum y de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	93
Gráfico N° 9: Efecto antibacteriano a las 24 horas del Vaccinium Corymbosum y de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia	96
Gráfico N° 10: Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 25% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas	98

Gráfico N° 11: Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 50% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas	100
Gráfico N° 12: Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 75% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas	104
Gráfico N° 13: Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 100% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas	108
Gráfico N° 14: Gráfico de medias ANOVA clorhexidina 0,12% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas	112

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal se encuentra entre una de las enfermedades orales más comunes y prevalentes a nivel mundial causada por un determinado grupo de bacterias predominando anaerobias estrictas gran negativas asociadas entre sí produciendo gran destrucción de los tejidos periodontales y afectando gravemente e irreversiblemente la estética, fonación y función.

En el Perú ocupa el segundo lugar de morbilidad general de consulta externa representando igualmente un problema de salud pública donde los pacientes de 60 años a más presentan un índice de tasa mayor siendo el sexo femenino el más afectado y región de la costa sin considerar Lima Metropolitana el lugar con mayor atención seguidos por regiones geográficas como sierra y selva, en orden ascendente.¹

Investigadores interesados en combatir este tipo de enfermedad bucal buscan que el paciente no genere resistencia a distintos tipos de fármacos muy comunes en nuestra industria farmacéutica que se utilizan para combatir la enfermedad periodontal, razón por la cual se ven interesados en frutos o plantas medicinales capaces de contrarrestar la patogenia producida.

Desde la antigüedad el uso de ciertas plantas, frutos por su biodiversidad fueron comúnmente usadas para combatir distintos tipos de enfermedades ya que presentaban ciertos metabolitos secundarios que proporcionan una novedosa fuente de probables principios activos efectivos frente a un amplio grupo de bacterias; desarrollado en estos últimos años centros de investigación donde

buscan mejorar los efectos terapéuticos antibacterianos de distintos tipos de extractos sin causar posibles efectos adversos.²

Entre las investigaciones realizadas se muestran la elaboración de extractos como de canela, uvas, frutos de pigmentación oscura u otros como el ajo en distintas formas como en polvo o aceites.

Entre estos tipos de frutos medicinales tenemos al arándano azul *Vaccinium Corymbosum* y al arándano americano *Vaccinium Macrocarpon* Aiton que han demostrado poseer un efecto beneficioso para tratar ciertos tipos de enfermedades producidas por bacterias anaerobias gram negativas. Estos tipos de *Vaccinium* son generalmente utilizados para tratar enfermedades de vías urinarias gracias a su actividad inhibitoria de adherencia debido a su alto contenido en proantocianidinas y antocianos, siendo estos sus principales componentes, metabolitos que por su acción beneficiarían también el control de la enfermedad periodontal.³

El antibiograma ha sido uno de los medios más comúnmente utilizados desde años atrás para poder determinar la efectividad in vitro de un determinado antibiótico frente a un determinado grupo de bacterias el cuál va a reflejar su capacidad de inhibir crecimiento de una o más bacterias. Este antibiograma se basa en difusión de agar en disco basándose en el método de Kirby Bauer que es el método que recomienda la NCCLS (National Committee for clinical Laboratory standards) para determinar sensibilidad a los antimicrobianos. Este antibiograma consiste en colocar en superficie de un determinado agar de una placa respectivamente inoculada con el respectivo microorganismo discos

absorbentes impregnados de distintas sustancias antibióticas. Con lo cual el disco se pone en contacto con la superficie del agar y el antibiótico se va a difundir en el respectivo agar. Transcurridas las 12, 18 a 24 horas de incubación aparecen halos de inhibición y se realizan respectivas lecturas.^{4 5}

Del mismo modo se pretende determinar a través del respectivo antibiograma evaluando los respectivos halos de inhibición el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* sobre la *Prevotella Intermedia* a distintas concentraciones como a 25%, 50%, 75% y 100% a 12, 18 y 24 horas.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La enfermedad periodontal al ser tan destructiva y nociva por la presencia de bacterias o microorganismos anaerobios estrictos gram negativos que en la actualidad están incrementando su poder de destrucción hacia los tejidos que componen el periodonto de sostén o de soporte (ligamento periodontal, hueso alveolar y cemento radicular) en algunos y determinados casos resistentes como no sensibles necesita ser atendida desde el punto de vista social, teórico práctico y clínico que permita fácilmente el control de aquella sin afectar o alterar localmente e irreversiblemente los tejidos de la cavidad oral.⁶

En la actualidad existen sustancias empleadas como tratamiento de enfermedad periodontal que perjudican o dañan la microflora oral; por lo cual se ha estado buscando de esta forma un tratamiento el cual garantice el no daño de dicha microflora con manifestaciones terapéuticas aceptables por toda nuestra comunidad nacional e internacional para que de esta forma el tratamiento periodontal sea visto desde otro punto de vista; terapéutico y no comercial, y a la vez evitemos tratamientos traumáticos, iatrogénicos; perjudiciales para el paciente sometido a terapia.⁶

Teniendo como conocimiento de esta forma que la enfermedad periodontal es irreversible, es la razón por la que nuevas casas comerciales lanzan al mercado productos no naturales para poder en cierto modo revertir dicha patología siendo

no logrado hasta la actualidad y cada vez perjudicando más los respectivos tejidos orales.⁶

Siendo así que los factores de higiene de cada persona hacia su cavidad oral teniendo en cuenta distintos factores locales, sistémicos, socioeconómicos como bajos, medios, altos pueden ser determinantes para el progreso, desarrollo de enfermedad periodontal, por consiguiente, debe tratarse en sus fases iniciales y no tardías, con gran avance, para que de esta forma se pueda evitar un mal mayor y detener dicha actividad causante de gran pérdida de piezas dentarias como inestabilidad emocional y desintegración social.⁶

El uso de ciertas plantas, frutos como el *Vaccinium Corymbosum* en nuestra sociedad comunitaria nacional e internacional para combatir dicha enfermedad se encuentra muy reducida y limitada por la poca información que encontramos en las respectivas literaturas bibliográficas, donde se informa un efecto antibacteriano no muy claro y específico; atribuyéndole al *Vaccinium Corymbosum* también propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, y antiadhesivas respectivamente.

Otra realidad problemática constituye identificar los componentes y a la variedad de familia taxonómica a la que pertenece el fruto *Vaccinium Corymbosum* ya que en nuestro país no existen muchos centros especializados, siendo de esta forma un desafío para la investigación determinar el tipo de género como constituyente primario.⁷

Sin embargo, en la actualidad se han descubierto determinados metabolitos los cuáles proporcionan las propiedades anteriormente mencionadas con grandes

cambios a nivel celular que no se encuentran en todas las plantas o frutos sino en algunas especies del género *Vaccinium* conocido como arándano y otras bayas o berries caracterizadas por su intenso y resaltante color como puede presentarlo el *Vaccinium Corymbosum*.⁷

Así mismo, no toda la población mundial reconoce los beneficios tan eficaces que proporciona este fruto *Vaccinium Corymbosum* (arándano) sino lo atribuyen a otros productos de consumo diario con valor nutricional y energético parecido a éste; influyendo principalmente los polímeros flavonoides como las proantocianidinas siendo la principal la de tipo A y antocianos.⁷

Siendo de esta forma que la gran variedad de arándanos pueden poseer las mismas propiedades pero pueden variar según el lugar donde son cultivados por las variedades de características que puede manifestar determinado lugar.

Igualmente, se dificulta en cierto modo diferenciar que tipo o variedad de arándano puede poseer mayor o mejor propiedad beneficiosa para el organismo humano ya que al tener efecto antibacteriano este puede ser de amplio o reducido espectro lo cual no es totalmente determinado y evidenciado, y sería convenientemente determinarlo al igual que las otras propiedades según la variación en género del *Vaccinium*.

Una razón problemática adicional del estudio sería el poco tiempo en que este fruto ha sido estudiado en distintos países ya que aún este fruto no es consumido mundialmente por razones de costo y por lo que cada país no dispone con las condiciones adecuadas y apropiadas para proceder a realizar dichos cultivos tan beneficiosos, que si se obtuvieran mundialmente; el consumo diario de

Vaccinium Corymbosum (arándano) podría prevenir como también no infecciones bacterianas en su totalidad, sea cual sea la infección.⁷

Otra problemática adicional de estos frutos berries radica justo en la propiedad antibacteriana que en distintos estudios demuestran actividad bacteriostática, en otros bactericidas pudiéndose de esta forma a no determinarse a ciencia cierta contra qué tipo de enfermedades orales pueden ser eficaces y contrarrestar sus fases activas, y que concentración puede ser más efectiva si al 25%, 50%, 75% y 100% en distintos periodos de tiempo.

Sin embargo, el tiempo de efecto de estos distintos berries del género Vaccinium sobre determinadas bacterias en el organismo humano sigue siendo motivo de controversia ya que varía según horas y momentos a administrar. Del mismo modo, el Vaccinium Corymbosum podría demostrar menor, regular o mejor actividad.⁷

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema principal

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* sobre la *Prevotella Intermedia*?

1.2.2. Problemas derivados

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 25% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 50% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 75% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 100% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* sobre la *Prevotella Intermedia*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 25% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 50% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 75% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* al 100% sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.

1.4. Justificación de la investigación

El presente trabajo de investigación se realizó con la intención de encontrar un producto novedoso, natural y eficaz como fue el *Vaccinium Corymbosum* conocido comúnmente como blueberry o arándano azul que podría contribuir a tratar los distintos tipos de enfermedad periodontal paralelo al tratamiento odontológico en fases activas e inactivas por medio de sus principales componentes como son las proantocianidinas de tipo A y los antocianos. Siendo la enfermedad periodontal tan destructiva e irreversible producida por una gran variedad de bacterias anaerobias estrictas gram negativas cada vez más resistentes a distintas sustancias antibacterianas surgió como una alternativa el empleo de esta sustancia, es el motivo por el que se elaboró el presente estudio, donde se determinó que el *Vaccinium Corymbosum* conocido como arándano azul fue capaz de contrarrestar una de las principales bacterias prevalentes de enfermedad periodontal (*Prevotella Intermedia*) causante de daño a tejidos periodontales de soporte como de protección, demostrando así no resistencia bacteriana ante su efecto en relación a otras especies del mismo género.

Así mismo, se desarrolló el presente trabajo de investigación in vitro donde se contribuyó clínica y teóricamente a la sociedad ya que al observarse inhibición bacteriana en un respectivo medio este mismo efecto se podría dar de forma in vivo sin presentar efectos adversos o colaterales en la persona que consuma el respectivo arándano siendo así cada vez más comprobada su eficacia ante bacterias gram negativas presentes no tan solo en cavidad oral sino también presentes en cualquier parte del organismo humano y así se determinó la posibilidad de efecto bacteriostático o bactericida.

De la misma forma se estudió el efecto antibacteriano presente en el *Vaccinium Corymbosum* ya que en la literatura encontrada hasta la actualidad sobre este tipo de *Vaccinium* predominó su efecto antiadhesivo a comparación del antibacteriano, de esta forma se estimuló al investigador a realizar más estudios sobre su actividad antibacteriana para que de esta forma se pueda ampliar conocimientos y obtener resultados de su acción hacia otros tipos de género y especie bacteriana.

1.4.1. Importancia de la investigación

Este estudio tiene importancia clínica debido a que los resultados que se obtuvieron de forma in vitro pueden ser utilizados clínicamente en pacientes que necesiten tratamiento inmediato de cualquier tipo de enfermedad periodontal sea leve, moderada o severa; reduciendo y controlando favorablemente este tipo de enfermedad oral tan destructiva en su fase activa sea en niños, jóvenes, adultos y ancianos, logrando así detener su avance, desarrollo y posibles complicaciones irreversibles que se pueden manifestar, como el deterioro de los

tejidos blandos y óseos con la posterior pérdida de piezas dentarias sea parcial o total.

El presente estudio tiene importancia social debido a que la comunidad nacional como internacional podría controlar las manifestaciones clínicas de la enfermedad periodontal con el consumo del *Vaccinium Corymbosum* y así mejorar el aspecto estético, funcional de los pacientes mejorando “aceptabilidad social” y mejorando así la autoestima que en algunos casos se ve muy deteriorada por la impresión clínica que manifiesta el determinado paciente hacia la sociedad, siendo tan importante la integración social de estos pacientes a distintos tipos de comunidad a través de este tratamiento para que de esta forma disminuya la prevalencia y agresividad de este tipo de patología multicausal que es la periodontal.

El estudio tiene importancia teórica debido a que los resultados obtenidos aumentaron los conocimientos básicos referente a este fruto conocido como Berry azul (*Vaccinium Corymbosum*) y así ampliaron las bases teóricas que se pudieron obtener en distintas revisiones bibliográficas indexadas tanto nacionales como internacionales siendo revistas científicas, artículos científicos, libros, libros en red, folletos científicos en red o físicos; siendo hasta ahora muy reducidas y limitadas para poder determinar efectiva y claramente sin lugar a dudas las propiedades que presentó dicho fruto como son antioxidante, antiinflamatoria, antiadhesiva y antimicrobiana como en especies aerobias, anaerobias, gram positivas, negativas que figuran en literaturas antiguas y actuales.

1.4.2. Viabilidad de la investigación

La presente investigación fue viable porque se contó con los siguientes recursos que son:

Recursos humanos

- Equipo asesor: Mg.C.D. Gamboa Alvarado Eloy.
- Jefa del laboratorio central de Universidad Alas Peruanas: Mg. Blga. Carmen Aquije Dapozzo.
- Docente del área de microbiología: Mg. C.D. Gamboa Alvarado Eloy.
- Director del Centro de Control Analítico: Q.F. Gustavo Guerra Brizuela; para elaboración de extracto etanólico de arándano a concentraciones realizada en UNMSM.
- Equipo asesor de estadística.

Recursos físicos y materiales

- Laboratorio de microbiología: Universidad Alas Peruanas.
- Material general de internet: Biblioteca virtual.
- Sala de informática y estadística: Universidad Alas Peruanas.
- Placas Petri, instrumental de siembra y medio de cultivo: Agar Schaedler con respectivo certificado y Agar Müller Hinton.
- Equipo de anaerobiosis y clorhexidina al 0.12%.
- Extracto etanólico de arándano y discos de papel filtro absorbente.
- Bacteria anaerobia previamente identificada: Prevotella Intermedia ATCC® 25611 con su respectivo certificado.

- Certificados de componentes (marcha fitoquímica) y de estudio taxonómico de planta y frutos.
- Certificado de sangre de oveja desfibrinada estéril.

Recursos financieros

Se contó con todos los recursos financieros que involucraron al presente trabajo de investigación como son: Servicios de movilización del investigador, también para realización de todo tipo de trámites, recoger resultados; también para obtención de extracto de “Vaccinium Corymbosum” a concentraciones y material absorbente, obtención de bacteria previamente identificada (Prevotella Intermedia ATCC® 25611).

Recursos de tiempo

Se contó con el tiempo adecuado para tener acceso a todo tipo de información requerida para elaboración del presente trabajo de investigación como fueron: Revisión de literatura bibliográfica, cotización de cepa bacteriana previamente identificada (Prevotella Intermedia ATCC® 25611), cotización para certificados de estudio de componentes (marcha fitoquímica) y estudio taxonómico de Vaccinium Corymbosum.

Acceso a información y conocimiento

En el presente trabajo de investigación se pudo tener acceso a fuentes bibliográficas donde proporcionaron información necesaria del fruto de estudio Vaccinium Corymbosum donde demostró efecto sobre otras determinadas

bacterias anaerobias gram negativas también presentes en otras partes del organismo humano.

1.5. Limitaciones del estudio

- Dificultad de poder adquirir la bacteria debido a que no se pudo adquirir en laboratorios de la Universidad Alas Peruanas y de otras Universidades teniendo que recurrir a un laboratorio comercial donde la bacteria tenía un elevado costo y tomaba mucho tiempo en traerla.
- Dificultad en poder adquirir el Agar Schaedler debido al costo elevado y el tiempo en poder adquirirlo, al igual de sangre de oveja defibrinada estéril.
- Dificultad en poder adquirir ramas de arándano con frutos maduros para el respectivo estudio taxonómico.
- Dificultad en poder adquirir certificadamente los componentes del fruto debido al costo elevado para poder llevar a cabo dicho estudio y por la dificultad en el procedimiento de la marcha fitoquímica y dilución de extracto etanólico a concentraciones.
- Existe poca información sobre el fruto de estudio para poder obtener todas sus características, propiedades y usos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Antecedentes internacionales

Burleigh AE, Benck SM, McAchran SE, Reed JD, Krueguer CG, Hopkins WJ (2013) USA, en su artículo científico realizaron una investigación queriendo determinar si el consumo de arándanos desecados y previamente endulzados podrían disminuir infecciones urinarias recurrentes y si se podría ver alterada la heterogeneidad, factores de virulencia vinculados al número de Escherichia Coli intestinal. Tomando como población de estudio un grupo de 20 mujeres con ITUS recurrentes donde consumieron una porción de arándanos desecados mediante 14 días, determinando el efecto clínico mediante dos criterios como es la disminución de tasas de ITUS a 6 meses previos y posteriores del consumo del arándano e incremento en tiempo hasta el comienzo de la primera ITU. La muestra de Escherichia Coli intestinal se obtuvo mediante hisopos rectales evaluando dichas muestras mediante ADN y PCR cuantificando números de Escherichia Coli intestinal. Dando como resultados una inhibición de crecimiento bacteriano de E. Coli determinado por los polifenoles que presenta este fruto, como otro resultado que en la población de estudio más del 50% no presentó ITU en 6 meses posteriores al consumo del arándano. Concluyendo de esta forma que los resultados de esta investigación señalan el efecto beneficioso de consumir arándanos desecados para prevenir ITU e infecciones

gastrointestinales producidas por E. Coli intestinal mostrando efecto bacteriostático.⁸

Lacombe A, Tadepalli S, Hwang CA, Wu VC (2013) USA, en su artículo científico realizaron un estudio de la acción de componentes poli fenólicos obtenidos de arándanos silvestres y de la actividad antimicrobiana sobre E. Coli. Tomaron como muestra de estudio los polifenoles extraídos de arándanos silvestres separando la muestra mediante un cartucho C-18 de sep - pak de ácidos fenólicos y antocianinas adicionando proantocianidinas. La muestra de ambos se separó en distintos grupos usando una respectiva columna LH-20. Cada muestra procedieron a diluirla en 0.85% de cloruro de sodio inoculando Escherichia Coli para poder lograr formar 8 UFC por ml incubando a 25 °C por un tiempo de una hora, usando como método evaluativo el conteo de células viables para las evaluaciones de supervivencia de Escherichia Coli y método de permeabilidad de membrana celular de la misma bacteria se determinó mediante viabilidad, el daño de aquella se visualizó con microscopía electrónica. Teniendo como resultados reducciones significativas ($p < 0.05$) de 5 log CFU / mL de E. Coli para MPA a 0.4 g / L de ácido gálico y antocianinas a 0.65 g / L. Observándose reducciones de 6 a 7 UFC por ml para MPA a 0.8 g / L y antocianinas a 1.3 g / L. Concluyendo de esta forma que este estudio demostró efecto antibacteriano de polifenoles sobre Escherichia Coli.⁹

Lacombe A, McGivney C, Tadepalli S, Sun X, Wu VC (2013) USA, en su artículo científico estudiaron in vitro las propiedades antibacterianas de arándano americano sobre E. Coli, Lactobacillus Rhamnosus y Listeria Monocytogenes determinando efectos en permeabilidad de la membrana, lesión e inhibición del

crecimiento. Donde se procedió a separar el arándano americano previamente preparado en polvo utilizando un cartucho C-18 SEP - PAK en ácidos fenólicos monoméricos, ácidos orgánicos y antocianinas, añadiendo proantocianidinas (F3); separando esta última fracción en antocianinas y proantocianidinas utilizando respectivamente la columna LH-20 sephadex. En forma de estudio se procedió a diluir cada fracción en caldo de infusión de corazón y cerebro determinando concentraciones inhibitoras y bactericidas mínimas, procedieron a estudiar el potencial de la membrana y permeabilidad empleando un ensayo de viabilidad LIVE / DEAD. Dando como resultados que *L. Monocytogenes* fue el tratamiento más susceptible a la fracción de arándano con la mínima seguido de *Escherichia Coli* y *L. Rhamnosus*, como también otro resultado que *L. Rhamnosus* demostró la permeabilidad más alta seguida por *E. Coli* y *L. Monocytogenes*. Concluyendo que los componentes de arándano americano se pueden utilizar para tratar enfermedades bacterianas y reemplazar potencialmente a los antibióticos.¹⁰

Garrido V (2014) España, en su revista científica realizó un estudio evaluando el contenido en compuestos fitoquímicos y el contenido nutricional del *Vaccinium Macrocarpon Ait*, relacionado también a aspectos beneficiosos para la salud humana. Demostró que beber zumo de Arándano *Macrocarpon Ait* previene infecciones del tracto urinario originado por la *Escherichia Coli* por las altas cantidades de flavonoides. Desarrolló su estudio identificando una PAC de tipo A demostrando como resultado que inhibe adherencia de un 60 a 75% a superficies celulares del tracto urinario atribuyéndoles a ser responsables de acción antiséptica, antibacteriana y antioxidante. Concluyendo de esta forma a

través de otro estudio paralelo que presenta también efecto antibacteriano frente a *H. Pylori* causante de enfermedad inflamatoria gástrica.¹¹

Mathison BD, Kimble LL, Kaspar KL, Khoo C, Chew BP (2014) USA, en su artículo científico evaluaron la ingesta de alimentos ricos en polifenoles. Realizaron su estudio con la posible respuesta que una única dosis de arándano en bebida podría mejorar la inflamación, actividad de adhesión antibacteriana en orina y estrés oxidativo. Tomaron como población de estudio a seis hombres y seis mujeres administrándoles un placebo como bebida control y bebida de extracto de hojas de arándano como bebida experimental de manera aleatoria. Procediendo a recolectar sangre a 0, 2, 4, 8, 24 horas después de haber consumido ambas bebidas tanto control como experimental para proceder a medir biomarcadores oxidativos e inflamatorios; la orina se procedió a recoger también a distintas horas, dando como resultados que la ingesta de bebida de extracto de arándano incrementó la actividad peroxidasa en sangre ($p < 0,05$), como a las 0 a 3 horas posteriores a la ingesta de arándano la orina presentaba una actividad elevada de antiadherencia *ex vivo* ($p < 0,05$) contra *Escherichia Coli* a diferencia del placebo. Concluyendo así que este extracto de hojas de arándano posee gran actividad de antiadherencia bacteriana así como produce que las bacterias no colonicen por esta misma acción de antiadherencia.¹²

Margetis D, et al. (2015) USA, en su artículo científico realizaron una investigación tanto *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo* donde tenían como objetivo estudiar los efectos antibacterianos de extractos de PAC de arándano para poder determinar si actúan inhibiendo la *Escherichia Coli*, combaten infección pulmonar y alteran la adhesión a células epiteliales. De forma *in vitro* se evaluó el efecto

de PAC en sus concentraciones de arándano ante el crecimiento bacteriano en respectivas placas Petri. En ex vivo se evaluó la adhesión de Escherichia a células epiteliales orales humanas estando o no presente las PAC de arándanos utilizando en este caso microscopía. In vivo la letalidad, el recuento de bacterias pulmonares y la respuesta pulmonar inmune se evaluaron en un grupo modelo de neumonía con Escherichia Coli pre cultivado con o sin proantocianidinas de arándano. Obteniéndose como resultados inhibición significativa de la proliferación bacteriana incrementando la concentración de PAC de arándano afectando el tiempo hasta crecimiento máximo, dando como concentración mínima a la que se le produjo este efecto 250 µg / ml. La Proantocianidinas redujo mayormente la adherencia de Escherichia Coli a células epiteliales orales en un 80%. Los recuentos bacterianos en pulmones homogeneizados disminuyeron después de la exposición a la proantocianidina del arándano p <0.05 y p <0.01. Concluyendo de esta forma que las proantocianidinas presentan potentes y eficaces efectos sobre crecimiento, virulencia y adhesión de la respectiva bacteria Escherichia Coli.¹³

Bukhari S, Chiragh S, Tariq S, Alam MA, Wazir MS, Suleman M (2015) USA, en su artículo científico realizaron un trabajo de investigación in vitro del Vaccinium Macrocarpon sobre la principal bacteria uro patógena Escherichia Coli; tomaron un solo grupo de estudio para ver la actividad antibacteriana de este arándano, identificaron 96 cultivos positivos de distintos patógenos encontrados en la muestra recolectada. Donde procedieron a preparar un concentrado de arándano a distintas concentraciones colocándolos en pozos realizados en medio de cultivo agar nutriente. Obteniéndose como resultados

que se identificaron 35 aislamientos de 96 muestras de cultivo positivo de orina de E. Coli encontrándose sensibilidad a este compuesto de Vaccinium Macrocarpon; donde concluyeron que este arándano posee efecto antibacteriano sobre la bacteria uro patógena pero de forma dependiente a la dosis a aplicar muy aparte de su PH que es ácido y no contribuye a su efecto.¹⁴

Ben A, Dudonné S, Desjardins Y, Grenier D (2015) USA, en su artículo científico realizaron un estudio donde evaluaban al Vaccinium Angustifolium Ait por sus grandes componentes que presenta como son los flavonoides (metabolitos secundarios) a los que se le ha asociado efectos beneficiosos para la salud en general. Investigaron el extracto de este arándano rico en polifenoles y lo aplicaron sobre dos principales componentes predominantes de la enfermedad periodontal como F. Nucleatum y el Aggregatibacter ya que decidieron encontrar un producto que pueda combatir esta patología tan nociva y multifactorial; lograron obtener resultados de inhibición bacteriana en distintos estudios comparativos desarrollados sobre este mismo. Destacando en el presente estudio ácidos fenólicos, flavonoides en general y cianidinas que constituyeron el 16,6%, el 12,9% y el 2,7% del extracto de arándano respectivamente. De esta forma el extracto de este arándano mostró actividad antibacteriana sobre la bacteria patógena F. Nucleatum atribuyendo esta propiedad por la quelación del hierro. También el extracto de arándano a 62.5 µg / ml demostró inhibir el biofilm del Fusobacterium en un 87.5 ± 2.3%. Dando como característica principal que el extracto de arándano depende de la dosis a administrar para poder inhibir determinada bacteria, indicado en este estudio como agente prometedor terapéutico.¹⁵

García KB, Bragagnolo G, O'Callaghan D, Lavigne JP, Keriel A (2016) USA, en su artículo científico realizaron un ensayo de alto rendimiento y de manera rápida de forma in vitro donde se realizaron cultivos con células uro epiteliales humanas infectadas por E. Coli añadiendo extracto de arándano a dichos cultivos, utilizaron marcadores de fluorescencia con células epiteliales a la vez usando citometría de flujo en micro placas para visualizar la medición de asociación in vitro de aislados que se realizaron de forma clínica. Concluyeron que los resultados fueron que a través de estos métodos se detectaron variaciones en aquellas muestras aisladas expresando disminución de factores de virulencia, efecto inhibitorio de adhesión y de crecimiento de la E. Coli dado por las proantocianidinas, presentando de esta forma efecto bacteriostático. Por último manifestaron en su investigación que este ensayo es muy valioso para poder evitar ITUS a través de un componente PAC encontrado en arándanos.¹⁶

Lalaleo MD (2016) Ecuador, en su trabajo de tesis para obtener el título profesional de odontología realizó un estudio in vitro evaluando el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de Vaccinium Floribundum Kunth sobre el Streptococcus Mutans, obteniendo el extracto mediante método de percolación, obteniéndose así concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, para el procedimiento en sí se utilizó el método de Kirby Bauer usando como medio agar sangre para nueve placas Petri colocando las 4 concentraciones en cada placa, se utilizó un control positivo (Clorhexidina al 2%) y un control negativo (suero fisiológico); siendo estas incubadas a 35 ± 2 °C al 5% de CO₂ por 48 horas. Donde se procedieron a realizar dos repeticiones y por triplicado obteniendo un total de 54 muestras examinadas. Obteniéndose como resultados que la concentración

de 25% tiene mayor efecto respecto a las otras tres concentraciones, demostrando un halo de inhibición de promedio de 13,11mm. Concluyendo de esta forma que al 25% se genera inhibición del Streptococcus Mutans pero este efecto es menor al de la Clorhexidina al 2% utilizado como control positivo.¹⁷

Singh I, Gautam LK, Kaur IR (2016) USA, en su artículo científico evaluaron las proantocianidinas tipo A provenientes del extracto de arándano y aplicaron dicho extracto en pacientes con infección del tracto urinario recurrente afectados por Escherichia Coli para poder determinar propiedad antibacteriana in vitro, tomaron como población de estudio a 72 pacientes afectados por infección del tracto urinario recurrente, siendo divididos en dos grupos homogéneos 36 personas para cada grupo; grupo 1 con componente de estudio proantocianidina tipo A del extracto respectivo y grupo 2 placebo donde decidieron evaluar ambos grupos por el tiempo de 3 meses considerando este tiempo objetivo principal de la presente investigación. Obteniéndose como resultados que después de ese tiempo la valoración de adhesión bacteriana se redujo en (0.28) / (2.14) en el grupo 1 y grupo 2; en 32/36 (88.8%) y 2/36 (5.5%) respectivamente, dando que en el grupo 1 el crecimiento bacteriano disminuyó a 33.33 lo que no fue en el grupo 2 demostrando que no se pudo obtener efecto antimicrobiano de las PAC tipo A en su totalidad sino parcial atribuyendo su efecto antimicrobiano total a otros componentes estudiados en otras investigaciones. Concluyendo que se necesitan estudios aleatorios controlados para evidenciar su función precisa.¹⁸

Coddens A, Loos M, Vanrompay D, Remon JP, Cox E (2017) USA, en su artículo científico estudiaron el comportamiento del arándano en animales porcinos los cuáles padecían infección por Escherichia Coli, se dividieron en dos

grupos F4 y F18 comparando características, llegando a la conclusión que en el segundo grupo se inhibía en su totalidad la adherencia por Escherichia Coli en concentraciones reducidas de extracto de arándano (20 µg o 100 µg / ml), a diferencia del primero que demostró solo una fuerte capacidad inhibidora 75,3%, S.D. = 9,31 o 95,8%, S.D. = 2,56 respectivamente. En su misma investigación in vivo el extracto de arándano a 10mg o 100mg demostró que podría anular la unión de fimbrias en ambos grupos. Concluyeron de esta manera que el extracto de arándano también combate la infección por Escherichia Coli en humanos.¹⁹

Peron G, et al. (2017) USA, en su artículo científico realizaron una investigación en el cual se tomó un pequeño grupo de estudio constituido por personas sanas sin alguna alteración para poder evaluar posibles compuestos activos del arándano de forma in vitro predominando las procianidinas y ciertos derivados a base de quercetina sobre bacteria prevalente en el tracto urinario Escherichia Coli. Para dicha investigación los sujetos de estudio consumieron un producto a base de extracto de arándano que contiene 360 mg siendo 42,6% p / p de proantocianidina tipo A y 14,6% p / p de proantocianidina tipo B y 200 mg de quercetina. Decidieron recolectar muestras de orina que se procedieron a evaluar a distintas horas tales como a las 2, 4, 6, 8 y 24 horas. Determinándose cambios en propiedades antiadhesivas y antibacterianas sobre Escherichia Coli. Al observar los resultados predominaron principalmente propiedades antiadhesivas y antibacterianas de las muestras de orina anteriormente recolectadas e evaluadas dando como resultado que el mayor efecto se vio después de 6 a 8 horas de la administración de los productos, lo que afirma la utilidad de productos a base de arándano sobre todo en infección del tracto

urinario. Por presentar en la investigación niveles en la excreción urinaria que están en el rango de ng / ml, se determinó que el efecto antiadhesivo y antibacteriano del arándano se debe directamente a las proantocianidinas tipo A y a los metabolitos de polifenoles presentes en dicho fruto.²⁰

Peron G, et al. (2017) USA, en su artículo científico realizaron un estudio en roedores sanos donde estudiaron los efectos de administración de *Vaccinium macrocarpon* Aiton mediante 35 días donde demostraron que este fruto se usa para tratar ITUS no complicadas a base de proantocianidinas de tipo A considerado principal activo en inhibición de adhesión y crecimiento bacteriano, aunque por características limitadas su acción está en debate. Se tomaron como métodos de análisis la espectrometría y cromatografía líquida de resolución alta, con los cuáles se pudo observar también una excreción mayor urinaria de metabolitos. En un estudio paralelo se observó mayor eficacia a las 8 horas de estudio en distintas horas previamente analizadas las muestras. El método cromatográfico usado en el presente estudio permitió observar cambios en el compuesto urinario observando presencia de metabolitos de PAC siendo todo esto atribuido a su actividad antiadhesiva y antibacteriana. Concluyendo en este estudio que los humanos también son afectados por ITUS y que este fruto arándano puede combatir dicha infección.²¹

Ben A, LeBel G, Grenier D (2018) USA, en su artículo científico realizaron un estudio in vitro vinculando el uso de *Vaccinium Corymbosum* sobre la bacteria de estudio *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* donde analizaban el principal componente de este fruto las PAC para poder determinar si poseían doble acción siendo antibacteriana y antiinflamatoria. El método para determinar

la primera acción fue realizando una preparación del Vaccinium sobre el Aggregatibacter a una concentración de 500 µg / ml, donde se redujo su crecimiento en un 62.5% demostrando que altera así la membrana citoplasmática de dicha bacteria, posteriormente colocaron calceína el cuál usado como colorante fluorescente provocó lisis celular; probaron también efecto de las PAC en formación de las biopelículas a concentraciones que podían variar de 500 a 3.9 µg / ml concluyendo la inhibición significativa de la formación de estas biopelículas en un 93.98%, interviniendo como una forma de estudio en este efecto de las PAC la microscopía electrónica de barrido que permite ver la reducción de la arquitectura de estas biopelículas siendo específicamente 500 µg / ml de las PAC que redujeron la viabilidad del biofilm en un 29,32%. Determinaron que las PAC protegían las células orales y atribuyeron su efecto antibacteriano a esta proantocianidina.²²

2.1.2. Antecedentes nacionales

Ángel JS (2015) Trujillo, en su trabajo de tesis para obtener el título profesional biólogo-microbiólogo realizó un estudio in vitro evaluando el efecto del Vaccinium Corymbosum sobre el crecimiento bacteriano de Escherichia Coli y Staphylococcus Aureus mediante el método de Kirby Bauer usando como medio de cultivo Agar Müller-Hinton para las 6 placas Petri; 3 para Escherichia Coli y 3 para Staphylococcus Aureus diluyendo en cada placa Petri seis mm de diámetro del respectivo agar, previamente se procedió a triturar los frutos de este arándano filtrándose y obteniéndose el extracto de arándano a concentraciones de 50%, 75% y 100% por dilución con agua estéril. Se utilizó 50µL de extracto

de cada concentración vertidos en respectivas excavaciones de seis mm de diámetro en cada respectiva placa con Agar Müller-Hinton sembrando por superficie Escherichia Coli y Staphylococcus Aureus cada uno por separado en concentraciones iguales a 0.5 de la escala de Mc Farland, usando a estudio paralelo un grupo control con Gentamicina en disco. Donde se procedió a leer los resultados a 18 horas posteriores a incubación de 37 °C, procediéndose a medir los halos de inhibición de cada concentración respectivamente para Escherichia Coli y Staphylococcus Aureus, obteniéndose un promedio de los respectivos halos de inhibición. Los resultados demostraron que la concentración de 100% de Vaccinium Corymbosum posee mayor efecto inhibitorio sobre estas dos bacterias.⁷

Atencio EK (2015) Lima, en su trabajo de tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista realizó una investigación in vitro donde tomó como bacteria de estudio al Streptococcus Mutans obtenida de la saliva de un paciente procediendo a sembrar con Agar Sangre en respectivas placas Petri con seis mm de diámetro al cuál aplicó como sustancia de estudio el extracto de Vaccinium Corymbosum vertiendo 100uL a distintas concentraciones como al 25%, 50%, 75% y 100% siendo este el grupo experimental y tomando como grupo control la sustancia de Clorhexidina al 0.12% para poder determinar en ambos grupos el efecto antibacteriano pudiendo ser bactericida o bacteriostático, concluyendo de esta forma que la Clorhexidina al 0.12% posee efecto bactericida y el grupo experimental efecto bacteriostático donde se demostró a través de los halos de inhibición con un calibrador Vernier a las 24 y 48 horas este efecto; en

el cuál al 75% demostró mejor efecto ante esta determinada bacteria anaerobia.²³

Adrianzen JJ, Chiroque JA (2017) Trujillo, en su trabajo de tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico realizaron un estudio in vitro sobre el crecimiento de Escherichia Coli la cual la procedieron a activar en Agar Müller-Hinton en 6 placas Petri donde en cada placa respectiva se realizaron dos excavaciones e incubándola por el tiempo de 18 horas a 37 °C. Procedieron a tomar la respectiva bacteria con un asa bacteriológica y a colocarla en solución salina a un patrón de turbidez de 0.5 de escala de Mc Farland. Para la realización del trabajo experimental procedieron a determinar tanto la CMB como CMI. Los resultados demostraron un efecto inhibitorio del zumo de Vaccinium Corymbosum sobre Escherichia Coli por manifestar menor turbidez del medio que contuvo a Escherichia Coli en 50uL al 100% y para CMB se evidencia que el zumo de Vaccinium Corymbosum se difunde sobre Escherichia Coli a concentración de 100% evidenciando un halo de 4mm concluyendo de esta forma efecto antibacteriano.²⁴

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Enfermedad Periodontal

Es una enfermedad irreversible crónica generalmente indolora hasta que su progreso puede causar movilidad dentaria, posterior pérdida de piezas dentarias comprometidas, como también se puede exponer el epitelio ulcerado del saco. Este tipo de enfermedad que se manifiesta en la cavidad oral afecta a los tejidos de soporte dentario (hueso alveolar, cemento radicular y ligamento periodontal).²⁵

Es la patología odontológica más prevalente en adultos mayores, siendo una de las patologías más comunes a nivel mundial.²⁶

2.2.1.1. Patogenia

Es de la interacción del biofilm predominante anaerobio gram (-); especies que para sobrevivir en la microflora requieren muy poca cantidad de oxígeno y el sistema inmune del huésped.²⁵

2.2.1.2. Etiopatogenia

Las bacterias producen factores de virulencia y cuando estos entran en contacto con las células del epitelio del surco en especial las del epitelio de unión ahí es cuando empieza el desarrollo de la enfermedad periodontal.²⁷

Las células del epitelio de unión como las defensinas son aquellos péptidos antimicrobianos que afectan la superficie de las bacterias permitiendo así su eliminación. Pero es de gran relevancia la producción de IL-1 y TNF, que generan cambios a nivel vascular; siendo de esta forma que incrementan los vasos

sanguíneos en calibre induciendo la adhesión celular en la expresión de proteínas.²⁷

A medida que va progresando el proceso inflamatorio comienzan a degradarse los tejidos de soporte obteniéndose como resultado la manifestación del saco periodontal “signo patognomónico”, pérdida clínica de inserción como también pérdida ósea.²⁷

2.2.1.3. Clasificación de salud periodontal, enfermedades/condiciones gingivales

1. Salud periodontal y gingival:

a. Salud gingival clínica en un periodonto intacto.

b. Salud gingival clínica en un periodonto reducido.

- Paciente con periodontitis estable.

- Paciente sin periodontitis.²⁸

2. Enfermedades gingivales inducida por biopelícula dental:

a. Asociada solamente con biopelícula dental.

b. Producida por factores de riesgo sistémico o locales.

c. Agrandamiento gingival inducido por medicamentos.²⁸

3. Enfermedades gingivales no inducidas por biopelícula dental:

a. Trastornos genéticos y del desarrollo.

b. Infecciones específicas.

- c. Condiciones inflamatorias e inmunes.
- d. Procesos reactivos.
- e. Neoplasias.
- f. Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas.
- g. Lesiones traumáticas.
- h. Pigmentación gingival.²⁸

Formas de periodontitis

1. Enfermedades periodontales necrosantes:

- a. GUN.
- b. PUN.
- c. Estomatitis necrosante.²⁸

2. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas

3. Periodontitis:

a. Estadíos: Basados en severidad y complejidad:

- I: Periodontitis inicial.
- II: Periodontitis moderada.
- III: Periodontitis severa con evidente pérdida dental adicional.
- IV: Periodontitis severa con evidente pérdida de la dentición.²⁸

b. Extensión y distribución: Localizada, generalizada; distribución molar-incisivo.

c. Grados: Evidencia de progresión rápida, respuesta anticipada al tratamiento:

- A: Tasa lenta de progresión.
- B: Tasa moderada de progresión.
- C: Tasa rápida de progresión.²⁸

Manifestaciones periodontales de las enfermedades sistémicas y condiciones del desarrollo y adquiridas

1. Enfermedades sistémicas y condiciones que afectan tejidos de sostén periodontal.

2. Otras condiciones periodontales:

a. Abscesos periodontales.

b. Lesiones endo-periodontales.²⁸

3. Deformidades mucogingivales y condiciones alrededor de los dientes:

a. Fenotipo gingival.

b. Recesión gingival y de tejido blando.

c. Falta de encía.

d. Profundidad vestibular reducida.

e. Frenillo aberrante/posición del músculo.

f. Exceso gingival.

g. Color anormal.

h. Condición de la superficie radicular expuesta.²⁸

4. Fuerzas oclusales traumáticas:

a. Trauma oclusal primario.

b. Trauma oclusal secundario.

c. Fuerzas ortodóncicas.²⁸

5. Factores protésicos y dentales que modifican a las enfermedades gingivales/periodontales inducidas por placa:

a. Factores localizados relacionados con dientes.

b. Factores localizados relacionados con prótesis dentales.²⁸

Enfermedades y condiciones periimplantarias

1. Salud periimplantaria.

2. Mucositis periimplantaria.

3. Periimplantitis.

4. Deficiencias de tejidos blandos y duros periimplantarios.²⁸

2.2.1.4. Factores de riesgo

Los que predominan provocando primero manifestaciones gingivales como gingivitis y posteriormente el desarrollo de la enfermedad periodontal en sí son el consumo de alcohol y tabaco, siendo uno más el consumo de ciertos medicamentos o fármacos.²⁶

El gran efecto negativo del humo de tabaco en el periodonto es principalmente debido a los efectos sobre la higiene oral y la acumulación de factores locales, sistémicos como también cambian la susceptibilidad del individuo al desarrollo

de la enfermedad. Por lo tanto, se espera o es justificado que los fumadores presenten destrucción periodontal más grave tanto de soporte como de protección, ya que también presentan una mayor cantidad de factores locales, como placa bacteriana blanda y calcificada.²⁶

Factores de riesgo como el estrés, bruxismo, factor socioeconómico, nivel de instrucción, sexo, edad, y otros como los niveles séricos elevados de la proteína C reactiva (PCR) en sangre interactuando entre sí, se asocian con el origen, desarrollo y evolución de las enfermedades periodontales.²⁹

2.2.1.5. Principales características de enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal se caracteriza por presentar:

- Bolsa periodontal: Es la profundización anormal patológica del surco gingivo dentario que consta de pared blanda y pared dura.
- Pérdida ósea vertical o angular y horizontal.
- Signos clínicos de inflamación.
- Pérdida de inserción clínica.
- Presencia de placa bacteriana blanda y calcificada.
- En etapa avanzada puede presentar compromiso de furca grado II y III al igual de movilidad dentaria grado II y III.
- Predominio de bacterias anaerobias estrictas gram negativas como *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium Nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides Forsythus* y *Prevotella Intermedia*.³⁰

2.2.2. Vaccinium Corymbosum

Vaccinium Corymbosum también conocido como arándano blueberry es un arbusto de un metro a metro y medio predominando su hábitat en regiones frías de Norteamérica, teniendo también especies tropicales que son aproximadamente 450 especies pertenecientes a la familia ericaceae. Este Vaccinium presenta un elevado valor nutricional y medicinal siendo sus frutos bayas de color oscuro, azuladas ricos en antocianos y minerales, presentando propiedades antibacterianas, antioxidantes, antiinflamatorias y antiadhesivas.³¹

2.2.2.1. Presentaciones y concentraciones

Las presentaciones del Vaccinium Corymbosum son las siguientes:

- Arándano en fruto maduro y desecado.
- Postres de arándano.
- Yogurt de arándano.
- Mermelada de arándano.
- Jugo o zumo de arándano de 555 ml y de 7,5° Brix (100 g).
- Cápsulas vegetales que contienen 60 cápsulas vegetales que contienen 440 mg cada cápsula.³²

2.2.2.2. Indicaciones

- En la estimulación de la actividad renal.
- Como diurético.³²
- Prevención de infecciones del tracto urinario e infecciones gastrointestinales por Escherichia Coli e infecciones gástricas producidas por H. Pylori.
- En úlceras, diarreas, diabetes y problemas hepáticos.³⁴

2.2.2.3. Mecanismo de acción

Este tipo de arándano actúa a través de sus principales componentes proantocianidinas de tipo A y antocianos que son polímeros flavonoides que crean una barrera antiadhesiva haciendo que las fimbrias de las bacterias no se adhieran permitiendo de esta forma que las bacterias se inhiban y no colonicen, actúan de esta forma tanto en el tracto urinario y gástrico donde predomina la *Escherichia Coli*, como digestivo donde puede predominar el *Helicobacter Pylori*.³³

2.2.2.4. Composición

Presenta componentes inorgánicos que son principalmente agua, sales minerales como el manganeso y el yodo; presenta otros de origen orgánico como la fructosa, glucosa, ceras, proteínas, vitaminas C y A, pectina y como principales compuestos poli fenólicos que son: Proantocianidinas, cianidinas, agentes antioxidantes, flavonoides; siendo como últimos componentes ácidos orgánicos como: Málico, químico, cítrico y benzoico.³⁵

2.2.2.5. Variedades

El presente género *Vaccinium* presenta cerca de 450 especies. Presentando los blueberry solo dos especies que son: Arándanos cultivados conocidos por "Highbush Blueberries" que son de porte alto y arándanos silvestres que son pequeños arbustos llamados "Lowbush Blueberries" que son de porte bajo; siendo estos dos los más populares en nuestro país "Perú".³²

2.2.2.6. Taxonomía

Fue descrito por Carlos Linneo y publicado en *Especies Plantarum*.

Angiospermae

Dicotyledonae

Ericales

Ericaceae.³⁶

Etimología

Vaccinium: Nombre genérico usado para un tipo de baya.

Corymbosum: Término que significa “con corimbos”.³⁷

2.2.3. Clorhexidina

Es un antiséptico oral de uso muy común en odontología perteneciente al grupo de las biguanidas encontrándose en la lista de sustancias permitidas por la organización mundial de salud. Aunque este componente se puede encontrar en diversos productos por sus grandes beneficios siendo uno de ellos que es bactericida se debe administrar precavidamente.³⁸

2.2.3.1. Indicaciones

Para el mantenimiento o tratamiento de enfermedades periodontales que involucra: Gingivitis y periodontitis; está indicado por inhibir la proliferación bacteriana que se encuentran en tejidos vivos de cavidad bucal ya que no daña la superficie donde se aplica, prevención de infecciones que se pueden dar en cirugía bucal como también tratar lesiones que se presentan en tejidos blandos de cavidad bucal.³⁸

2.2.3.2. Contraindicaciones

Está contraindicado por pigmentar permanentemente la estructura dentaria en piezas restauradas como no restauradas, aunque su uso en tratamiento de enfermedades orales debe ser minuciosamente evaluado.³⁹

2.2.3.3. Efectos adversos

Tenemos como principales la pigmentación en superficies dentarias y gingiva hasta incluso puede provocar cambios en el sentido del gusto. Como otro efecto adverso está la parotiditis destacando mayormente en niños de diez a dieciocho años que son sometidos a enjuagues orales y por último puede provocar irritación lingual.³⁹

2.2.3.4. Mecanismo de acción

Actúa desestabilizando y penetrando la pared celular de las bacterias, siendo la precipitación del citoplasma y la disfunción de la membrana que hacen que se inhiba la utilización de oxígeno ocasionando a distintos niveles lisis celular.³⁹

2.2.3.5. Presentaciones y porcentajes

Se presenta como colutorio bucal al 0,2, 0,12, 1 y al 2%, también como crema o gel al 0.5%, y en solución acuosa al 4% y 5%.⁴⁰

2.2.4. Prevotella Intermedia

Es una bacteria anaerobia gram negativa estricta siendo una de las principales bacterias que producen la enfermedad periodontal, tiene gran capacidad destructiva al interactuar con factores de riesgo local o sistémico. Se le atribuye

a que también se encuentra en la gingivitis ulcerativa necrosante aguda. Se cree que este tipo de bacteria prevalece más en personas con noma conocido también como cancrum oris.⁴¹

2.2.4.1. Tipo de bacteria

Anaerobia estricta gram (-) en forma de bacilo o bastoncillo que no forma esporas y son rectos, helicoidales o curvados que pueden tener movilidad o no.⁴²

2.2.4.2. Hábitat común

Comúnmente a este microorganismo se le encuentra en la microbiota subgingival de personas afectadas, en niños y adolescentes sanos no suelen manifestarlo en este determinado lugar.⁴²

2.2.4.3. Factores de virulencia

- Fimbrias.
- Adhesinas.
- Actividad fibrinolítica.
- Efecto inhibitorio de síntesis de anticuerpos.
- Efecto inhibitorio de la proliferación de linfocitos B.
- Degrada inmunoglobulinas.⁴³

2.2.4.4. Medio de cultivo para crecimiento de Prevotella Intermedia

En cuanto a los requerimientos exigentes para crecimiento bacteriano anaerobio se requiere de un medio enriquecido que generalmente se puede cubrir añadiendo sangre para medios sólidos, vitamina K actuando como un aislante para evitar que otras bacterias ingresen al medio de cultivo, extracto de levadura, hemina e un hidrato de carbono que sea fermentable para el medio basal,

caseína enzimática hidrolizada, peptona proteosa, peptona de soya, dextrosa, cloruro de sodio. Siendo el medio de cultivo ideal Agar Schaedler indicado para todo tipo de bacterias anaerobias sean estrictas o facultativas.⁴²

2.2.5. Método de Kirby Bauer

Es un test in vitro de difusión en agar en disco usado para evaluar bacterias de crecimiento rápido y bacterias patógenas de difícil crecimiento. A través de este método se determina la sensibilidad del agente microbiano frente a un antibiótico o sustancia terapéutica.⁴⁴

2.2.5.1. Indicaciones

- Para apoyar la quimioterapia antimicrobiana de tratamiento en procesos infecciosos por bacterias en las que la identidad del microorganismo no es suficiente para predecir en forma confiable su susceptibilidad.
- Cuando se cree que el microorganismo causante pertenece a una especie capaz de mostrar resistencia a agentes antimicrobianos.
- En estudios epidemiológicos de resistencia.
- En estudios de nuevos agentes antimicrobianos.⁴⁴

2.2.5.2. Selección de sensi discos e informe

Es la más aprobada para poder probar e informar la selección del antimicrobiano que depende de la decisión de diferentes laboratorios clínicos, los adecuados discos deben ser de papel absorbente que permitan la absorción adecuada y homogénea de determinada sustancia antimicrobiana o antibacteriana.⁴⁴

2.2.5.3. Discos para antibiograma

Son aquellos que contienen una concentración definida que permite una correlación más o menos precisa con concentración mínima inhibitoria que cuyo antibiótico alcanza in vitro resultados de resistencia y susceptibilidad. Mediante el cual solo deben usarse discos con nombre genérico del antimicrobiano. La preservación de discos es crítica ya que depende de la confiabilidad de los resultados. Los recipientes que mantienen discos deben conservarse refrigerados de 4 a 5 °C o a menos 20 °C hasta que sean empleados; aquellos discos que contengan cefalosporinas o penicilinas deberán conservarse siempre congelados a excepción de una pequeña cantidad de discos utilizados para trabajo diario, lo cual podrían mantenerse refrigerados hasta por una semana. Los recipientes nuevos con discos de sensibilidad deberán colocarse a temperatura ambiente antes de abrirlos.⁴⁵

2.2.5.4. Procedimiento para preparación del inóculo y poder desarrollar el antibiograma

Se selecciona un promedio de 4 a 5 colonias del microorganismo estudiado. No emplear cultivos de más de 24 horas. Se procede a transferir las colonias tocando la parte superior con un asa bacteriológica a un tubo conteniendo de 3 a 5 cc de medio de cultivo estéril Mueller Hinton. Se incuba este respectivo medio a 37 °C por el tiempo de dos a ocho horas hasta lograr un moderado crecimiento. Se procede a diluir el cultivo en solución salina hasta lograr una turbidez equivalente al tubo 0.5 de escala de Mc Farland que corresponde a 10 microorganismos por ml. Se permite que la superficie del medio se seque

mediante a 5 a 20 minutos manteniendo la tapa cerrada. Luego se colocan los discos en superficie del agar con pinza estéril, presionando los discos sobre el agar para crear un uniforme contacto. Se colocan seis discos periféricamente y un solo disco en la parte central, entre cada disco debe haber un espacio de dos centímetros evitando que la zonas de inhibición queden onduladas. Se procede a colocar antibióticos en parte externa e interna (central). Se incuban las cajas en posteriores a treinta minutos a 37 °C, preferiblemente no incubar en cámara de CO₂. Por último se leen los resultados a 18 a 24 horas posteriores, midiendo zonas de inhibición de discos respectivos sobre una superficie oscura de luz reflejada, midiendo el diámetro de la zona con una regla sobre la placa Petri, esta medida incluye los 6mm del disco.⁴⁵

Si para la respectiva prueba se ha utilizado Agar Sangre se procede a medir la zona de inhibición sobre la superficie removiendo la tapa de la placa.⁴⁵

Siendo que el punto final completo de inhibición de crecimiento bacteriano se determina a simple vista, con excepciones de algunos antimicrobianos como las sulfonamidas y algunas especies como *Proteus*. Siendo que las cepas de *Proteus Vulgaris* y *Proteus Mirabilis* pueden tener crecimiento dentro de sus respectivos halos de inhibición alrededor de ciertos agentes antimicrobianos o antibacterianos. Sin embargo el área de inhibición está comúnmente bien delimitada y este tipo de crecimiento debe ser ignorado en el respectivo procedimiento.⁴⁵

2.2.5.5. Interpretación de resultados de antibiograma según método de Kirby Bauer

En la interpretación de resultados es necesario tomar en consideración lo siguiente: Diámetro de las zonas obtenido con amino glucósidos que depende del medio utilizado de acuerdo a la variación del contenido y depende de la calidad del medio de Mueller Hinton que ofrecen las casas comerciales.⁴⁵

Algunos microorganismos como bacilos gram negativos que pueden ocasionar infecciones sistémicas responden a altas dosis de penicilina G.⁴⁵

Determinándose según las mediciones en milímetros la resistencia, intermedio y sensibilidad; siendo la primera de cero a diez milímetros, la segunda más de 10 a diecinueve milímetros y la última de más de diecinueve milímetros a más.⁴⁵

2.2.5.6. Fuentes de error en antibiograma por disco

Usualmente se presentan algunos errores de tipo técnico que pueden comprometer confiabilidad y seguridad del antibiograma por discos inhabilitando el procedimiento.⁴⁵

Procediendo a incluir la siguiente lista de errores más comunes que el laboratorio de microbiología debe evitar:

- Uso de un medio diferente al de Mueller Hinton.
- Preparación inadecuada del medio de Mueller Hinton, particularmente a lo que se refiere en determinación del ph.
- Uso de medios incorrectamente almacenados o medios con fecha de expiración vencida.

- Almacenamiento inadecuado de estándar de turbidez y preparación incorrecta.
- Almacenamiento incorrecto de discos.
- Inadecuada estandarización de concentración del inóculo.
- Omisión de eliminar exceso de cultivo contenido en aplicador antes de inocular el medio sólido.
- Demora excesiva en estandarización del cultivo o en inoculación del medio sólido.
- Excesiva demora en aplicación de los discos después de haber realizado la inoculación en medio sólido.
- Excesiva demora en incubación del medio después de haber colocado los discos.
- Incubación a temperatura diferente de 37 °C o incubación a atmósfera de CO₂.
- Lectura prematura de resultados antes del periodo de incubación respectivo de 16 a 18 horas.
- Lectura errónea en medición de los halos de inhibición por inadecuada iluminación.
- Lecturas realizadas sin regla milimetrada de medición.
- Pruebas realizadas con cultivos mixtos.
- Realización de antibiogramas con bacterias de crecimiento lento.
- Omitir los controles de calidad con cepas control y omisión de anotar resultados de estas cepas control.
- Error en transcripción de los resultados en las pruebas individuales.⁴⁵

2.3. Definición de términos básicos

Microorganismo Anaerobio

Especie o especies bacterianas capaces de vivir en condiciones sin oxígeno para que de esta forma se puedan desarrollar y puedan producir factores de virulencia hacia determinados tejidos blandos y duros.⁴⁶

Péptidos

Son moléculas que resultan de la unión de dos o más aminoácidos mediante enlaces de amida.⁴⁷

Antocianos

Compuestos que se encuentran de forma natural en la naturaleza y que otorgan el color azulado a hojas, flores o frutos; con propiedades naturales como fungicida, antibacteriana y antiadherente.⁴⁸

Proantocianidinas

Son polímeros flavonoides con grandes propiedades antioxidantes y antibacterianas que se encuentran en concentraciones elevadas de arándanos, uvas y semillas. Constituye el producto final de los flavonoides y se metabolizan a antocianinas de la misma forma que los polisacáridos se metabolizan en unidades más simples de azúcares.⁴⁹

Flavonoides

Son compuestos fenólicos conocidos como metabolitos secundarios que se encuentran en frutos o plantas de color resaltante oscuro, que proporcionan

grandes propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antiadhesivas.⁵⁰

Virulencia

Es aquella medida cuantitativa de grado de Patogenicidad y se mide por el número de microorganismos necesarios para causar una determinada enfermedad.⁵¹

Fimbrias

Son apéndices que constituyen subunidades de proteínas que se encuentran ancladas a la membrana externa de bacterias gram negativas. Tienen como función principal de servir como soporte de las adhesinas.⁵¹

Adhesinas

Son proteínas que tienen gran afinidad por los azúcares, teniendo como función la adherencia. La mayor cantidad de bacterias pueden expresar más de un tipo de adhesinas y estar ubicadas en distintas estructuras de superficie microbiana.⁵¹

Efecto bacteriostático

Es aquel que inhibe el crecimiento y multiplicación de bacterias, pero no causan lisis, por lo que al retirar el agente su efecto es reversible.⁵²

Efecto bactericida

Es aquel que provoca la muerte bacteriana o lisis bacteriana y el proceso es irreversible.⁵²

Susceptibilidad microbiana

Característica del propio microorganismo a ser inhibida en su totalidad o parcialmente frente a un determinado principio activo aplicado sobre dichos microorganismos. De esta forma dichos microorganismos demuestran si son resistentes, intermedios o sensibles.⁵³

Antibiograma

Es la prueba microbiológica mediante la cual se determina mediante medios de cultivo y discos antibióticos efectividad antibacteriana siendo sensible, o resistente o intermedio hacia una determinada bacteria o hacia una determinada colonización bacteriana.⁵⁴

Halos de inhibición

Son aquellos que se forman al estar en contacto con un determinado antibiótico, el cual produce que el respectivo microorganismo se inhiba parcial o totalmente.⁵⁵

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Formulación de hipótesis

3.1.1. Hipótesis principal

El *Vaccinium Corymbosum* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia*.

3.1.2. Hipótesis derivadas

- El *Vaccinium Corymbosum* al 25% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 50% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 75% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 100% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia* a las 12, 18 y 24 horas.

3.2. Variables; definición conceptual y operacional

Variable dependiente: Prevotella Intermedia

Definición conceptual

Prevotella Intermedia: Es una bacteria anaerobia estricta gram negativa, siendo una de las principales bacterias que producen la enfermedad periodontal, presenta gran capacidad destructiva al interactuar con factores de riesgo local o sistémico.⁴¹

Variable Independiente: Efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum

Definición conceptual

Efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum: Es la propiedad del Vaccinium Corymbosum para eliminar agentes bacterianos o inhibir crecimiento o proliferación a través de las proantocianidinas tipo A y antocianos.³

3.2.1. Operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALORES
Efecto antibacteriano del <i>Vaccinium Corymbosum</i> (Variable Independiente)	- Presencia de halos de inhibición de crecimiento bacteriano.	- Medición de halos de inhibición de crecimiento bacteriano (Método de Kirby Bauer).	Cuantitativo	Razón	- 0-10mm: Resistente. - + de 10 a 19mm: Intermedio. - + de 19 a +mm: Sensible.
Prevotella Intermedia (Variable Dependiente)	- Identificación de la Prevotella Intermedia.	- Crecimiento bacteriano.	Cualitativo	NOMINAL	- Si - No

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Diseño metodológico

4.1.1. Diseño de Investigación

Experimental: Porque se pretendió determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium Corymbosum* a distintas concentraciones como al 25%, 50%, 75% y 100% frente a bacteria anaerobia estricta gram negativa prevalente en enfermedad periodontal.⁵⁶

4.1.2. Tipo de Investigación

Prospectivo: Porque es un estudio que comienza a realizarse en el presente pero los datos se van analizar transcurrido un tiempo determinado.⁵⁷

In vitro: Porque el trabajo fue realizado de forma experimental fuera del organismo humano a través de cultivos en placas Petri y el procedimiento se llevó a cabo en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la salud de la Universidad Alas Peruanas.⁵⁷

Longitudinal: Porque se recolectan los resultados en diferentes tiempos que pueden ser a corto, medio y largo plazo.⁵⁷

4.1.3. Nivel de Investigación

Cuantitativo: Porque es el procedimiento donde utilizó magnitudes numéricas que pudieron ser tratadas mediante herramientas del campo estadístico, y se midieron con precisión las variables de estudio.⁵⁷

4.1.4. Procedimiento de secuencia de operaciones

4.1.4.1. Obtención del Vaccinium Corymbosum

Los frutos maduros de Vaccinium Corymbosum “Arándano azul” se obtuvieron de la Provincia de Cañete; frutos que venden los habitantes de la zona.

4.1.4.2. Obtención de certificado de estudio taxonómico

El arándano azul una vez obtenido tanto en planta como en frutos maduros se procedió a llevar al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde la jefa del herbario de la Universidad San Marcos lo recibió y le realizó la clasificación taxonómica. **(Ver Anexo N° 05)**

4.1.4.3. Obtención de marcha fitoquímica y extracto etanólico

Una vez obtenido el fruto de Vaccinium Corymbosum “Arándano azul” se llevó el fruto a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para poder obtener los certificados de marcha fitoquímica y extracto etanólico a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% **(Ver Anexo N° 6 y 7)**, donde se lavó el fruto con agua destilada, se trituró el fruto en un mortero con la finalidad de obtener una mayor extracción. Se pesaron 2500 gramos de la muestra recolectada y se midió en una probeta 1250 ml de alcohol etílico de 96°, se agregó en frascos ámbar y se almacenó por 5 días. Una vez pasado los 5 días se realizó el filtrado por bomba al vacío del extracto y se vierte en platos de secado. Se hizo la concentración de la misma en estufa a 40 °C por 4 días para realizar la marcha fitoquímica y dilución de las mismas. En la marcha fitoquímica se identificó los flavonoides mediante el ensayo de Shinoda, se evaluó las

antocianinas, lactonas mediante el ensayo de Baljet, alcaloides mediante el ensayo de Dragendorff, de Mayer y de Wagner, cardenólidos mediante prueba de Kedde, esteroides por la prueba de Liebermann-Burchard, saponinas, taninos, fenoles, aminoácidos mediante prueba de Ninhidrina, triterpenos por la prueba de Liebermann-Burchard, azúcares reductores por prueba de Fehling. Las diluciones al 100% fue muestra tal cual, la de 75% se obtuvo utilizando 37.5 ml de la muestra al 100% y se enrazó a 50 ml con alcohol de 96°, la de 50% se obtuvo utilizando 25 ml de la muestra al 100% y se enrazó a 50 ml con alcohol de 96°, la de 25% se obtiene utilizando 12.5 ml de la muestra al 100% y se enrazó a 50 ml con alcohol de 96°.

4.1.4.4. Activación de la cepa bacteriana e identificación microscópica

Se procedió a activar la respectiva cepa bacteriana *Prevotella Intermedia* ATCC® 25611 manteniéndola en condiciones de 2 a 8 °C desde que se adquirió hasta la activación en el laboratorio microbiológico de la Universidad Alas Peruanas. La cepa de *Prevotella Intermedia* se encuentra contenida en su respectivo envase de Kwik Stik siendo retirada de aquél siguiendo respectivas indicaciones; primero que se adapte a temperatura ambiente procediendo a abrir la bolsa a nivel de la muesca, se retiró la porción de la etiqueta de la parte central, luego se presionó una vez la parte superior de la ampolla Kwik Stik para liberar el líquido hidratante, manteniéndola verticalmente para que fluya el líquido hidratante hacia la parte inferior donde está contenido el gránulo de la bacteria, luego se presiona la parte inferior para disolver el gránulo con el líquido hidratante para homogenizar la suspensión, inmediatamente se retira el hisopo con todo el material hidratado, para posteriormente realizar movimientos de

hisopado en toda la placa Petri que contiene el medio de cultivo agar Schaedler certificado (**Ver anexo N° 09**) con sangre de oveja desfibrinada estéril certificada (**Ver anexo N° 10**), para posteriormente calentar la punta de cohl de una asa de siembra y hacer estrías para aislar las colonias, se descartó el envase y se incubó los medios a 37 °C por cinco días, todo el procedimiento se realizó en un tiempo de no mayor o igual a 5 minutos.⁴⁵

Luego se retiró los medios activados con la respectiva bacteria *Prevotella Intermedia* y se realizó la tinción gram para identificación de la bacteria que por su forma y coloración son bacilos gram negativos.

4.1.4.5. Preparación del medio de cultivo, escala de Mc Farland, determinación de grupos de estudio y procedimiento para resultados (antibiograma)

Se pesó en una balanza analítica de precisión 11.04 gr de agar Müller Hinton colocándolo en un matraz de 500 ml para proceder a medir en una probeta 300 ml de agua destilada también añadiéndolo en el respectivo matraz equivalente a 15 placas Petri con casi 10mm de grosor del medio, se agitó frecuentemente con fuerza moderada para disolver todo el polvo de agar Müller Hinton, se calienta a ebullición con agitación hasta lograr una moderada translucidez. Una vez alcanzada la respectiva ebullición se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión (121 °C) durante 15 minutos. Se enfría el medio a 45-50 °C. Posteriormente se empezó a realizar el procedimiento de plaqueo junto a la flama de un mechero, esperando que solidifique; siendo que en cada placa hay un grosor de casi 10 mm de agar Müller Hinton.

Se dio inicio a la escala de Mc Farland optima de 0.5 la cual tiene como absorbancia 0.08 en cual se utilizó una cubeta de cuarzo para hacer la lectura de absorbancia, la preparación se realizó con un tubo de 13 por 100 conteniendo solución salina (3 ml) donde se empezó a suspender la bacteria *Prevotella Intermedia* para dar inicio al antibiograma.

Para realizar el antibiograma se determinó dividir en grupos, experimental a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, tres placas Petri por concentración, y control con gluconato de Clorhexidina al 0.12% también tres placas en el respectivo grupo, rotulándolas respectivamente. Se transfirió la cepa *Prevotella Intermedia* de acuerdo a la respectiva escala de Mc Farland de 0.5 en las 15 placas Petri tanto experimental como control por medio de la técnica de hisopado con movimientos lineales y circulares de 60° en cada placa para inmediatamente colocar los 4 discos por placa embebidos de acuerdo a sus debidas concentraciones del grupo experimental y del control, teniendo una separación entre discos de un poco más de 2 centímetros y separación del borde la placa de 15 milímetros, para posteriormente luego de un tiempo de 10 minutos empezar a invertir las placas y ha incubarlas a 37 °C realizando la primera lectura de formación o no formación de halos de inhibición luego de 12 horas, la segunda a las 18 horas y la última a las 24 horas, utilizando para estas lecturas la técnica de observación directa. Para las lecturas se midió cada formación de halo utilizando un calibrador de Vernier, considerando dentro de la medida los 6 mm de diámetro del disco. Procediendo a anotar todo resultado obtenido en respectivas fichas microbiológicas después del tiempo determinado (ficha de recolección de datos).

4.1.4.6. Secuencia de medición de halos de inhibición y descripción

Se procede a medir los halos de inhibición formados los cuáles se determinan en resistente de 0 a 10mm: Va presentar nada de halo o muy poco; intermedio de + de 10 a 19mm: Halo de inhibición más reducido; y sensible de + de 19 a + mm: El microorganismo presenta gran área de inhibición.⁵⁸

4.2. Diseño muestral

4.2.1. Población

Prevotella Intermedia: Bacteria anaerobia estricta gram negativa prevalente en enfermedad periodontal.

4.2.2. Muestra

n = 60 casos; divididos en 5 grupos: 4 experimental de *Vaccinium Corymbosum* al 25%, 50%, 75%, 100% y 1 control con Clorhexidina al 0.12%. Se utilizó 3 placas Petri por cada grupo; 4 grupos experimentales de 4 discos por placa en cada concentración y 4 discos por placa en 1 grupo control.

$5 \times 3 = 15$ muestra en placas por un total de grupo experimental y control.

5 grupos a examinar.

$15 \times 4 = 60$ muestras a examinar.

4.2.2.1. Procedimiento que se utilizó para el cálculo del tamaño y selección de la muestra

Se realizó el cálculo del tamaño de la muestra de Prevotella Intermedia. Se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z^2(p \cdot q)}{e^2 + \frac{z^2(p \cdot q)}{N}}$$

Total de población	N (50 muestra establecida y utilizada en antecedentes)
Nivel de confianza	Z (1.96) dato establecido por el 95 %
Proporción esperada	p (0,95)
1-p	q (5%)
Error de muestra aceptable	e (0.05)

4.2.2.2. Tipo de muestreo

Muestreo probabilístico: Porque se empleó la técnica de muestreo en virtud de la cual las muestras fueron recogidas en el proceso que se brindó a toda la población las mismas oportunidades a ser seleccionadas.⁵⁹

4.2.2.3. Unidad de análisis

Cepa bacteriana anaerobia estricta gram negativa (Cepa ATCC® 25611): Prevotella Intermedia identificada en género y especie.

4.2.3. Criterios de inclusión

- Cepa bacteriana completamente identificada *Prevotella Intermedia* ATCC® 25611.
- Microorganismo propio de la cavidad oral.
- Cepa cultivable en los medios de cultivo de la investigación.
- Uso de escala de Mc Farland para determinar Unidades Formadoras de Colonias.

4.2.4. Criterios de exclusión

- Placa Petri en mal estado.
- Cepa bacteriana contaminada.
- Distintas presentaciones al extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum*.

4.3. Técnica y ficha de recolección de datos

En el presente trabajo de investigación in vitro y diseño experimental se utilizó la técnica de observación directa a distintas horas por parte del investigador y asesor en el Laboratorio Microbiológico de la Universidad Alas Peruanas para poder determinar el efecto antibacteriano in vitro en grupo experimental con extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum* a distintas concentraciones como al 25%, 50%, 75% y 100% y grupo control de gluconato de Clorhexidina al 0.12% sobre la *Prevotella Intermedia* en las respectivas placas Petri donde se encuentra la respectiva bacteria anaerobia estricta gram negativa.

Se empleó como ficha de recolección de datos fichas microbiológicas correspondientes al Minsa donde se registraron resultados obtenidos tanto en grupo experimental como control de la *Prevotella Intermedia* y de esa forma se determinó el efecto antibacteriano midiendo los halos de inhibición que se formaron respecto a los componentes aplicados tanto en experimental y control, donde se utilizó el respectivo calibrador de Vernier.

A la vez se determinó a través de las respectivas fichas microbiológicas de los datos obtenidos, de que concentración fue la más efectiva en variación a horas de estudio.

4.4. Técnicas de procesamiento de la información

En el presente trabajo de investigación se utilizó como técnica de procesamiento de información el sistema "SPSS" versión 23 elaborando tablas y gráficos numéricos.

La selección del paquete estadístico es de acuerdo a la variable cuantitativa y cualitativa del presente trabajo de investigación ya que dependiendo de ellas se aplicaron técnicas determinadas las cuales fueron escogidas ante otro gran grupo de pruebas, ya que las escogidas me permitieron un mejor análisis tanto en grupos experimental y control.

El programa SPSS permitió estimar la asociación entre las dos variables de estudio; determinándose entre ambas si existió o no relación; donde se procedió a aplicar la prueba de contraste de hipótesis.

4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información

En el presente trabajo de investigación in vitro y diseño experimental se aplicó la prueba estadística paramétrica Anova One Way en ambos grupos experimental y control, donde se estudió las medias: Que es la medida de tendencia central que resulta al efectuarse una serie de operaciones con conjunto de números, que en determinadas ocasiones representa a todo el conjunto, la varianza: Que viene a ser la medida de dispersión definida como la esperanza del cuadrado de la desviación de la respectiva variable respecto a la media, desviación estándar: Que es la medida de dispersión para determinadas variables como la de razón siendo cuantitativa; y donde se estableció la diferencia entre cada concentración de estudio en periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas tanto experimental con aplicación de extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum* sobre la *Prevotella Intermedia* a distintas concentraciones como al 25%, 50%, 75%, 100% y control con aplicación de gluconato de Clorhexidina al 0.12% sobre la misma bacteria.

4.6. Aspectos éticos contemplados

El presente trabajo de investigación in vitro contó con permisos respectivos de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas.

Se solicitó a través de una carta de presentación “autorización” dirigida adecuadamente a la directora de la Escuela Profesional de Estomatología y a la jefa del respectivo Laboratorio Central de Microbiología de la Universidad Alas Peruanas para la elaboración del respectivo trabajo de investigación in vitro y

diseño experimental, respetando profesionalmente las condiciones de bioseguridad respectivas en el área del servicio del respectivo laboratorio.

El estudio fue realizado de acuerdo a las normas sociales y éticas nacionales e internacionales, con modificación de Edimburgo del año 2000, en la declaración de Helsinki siguiendo los principios básicos, éticos y legales.

La respectiva participación a realizar el presente trabajo experimental fue de forma voluntaria, manejando información experimental de manera confidencial usándola para fines de la misma investigación.

Valores éticos demostrados en el transcurso de formación académica estomatológica dan conformidad que dichos resultados que se obtuvieron en la presente investigación van a ser publicados de forma científica y no por conveniencia aumentando conocimientos propios académicos relacionados a dicha investigación de acuerdo a las normas de publicación de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud; Escuela Profesional de Estomatología Universidad Alas Peruanas sin alterar o modificar ninguna norma establecida por el comité de ética.

Demostrando de esta forma que se han respetado todos los aspectos éticos destinados al presente estudio tanto en desarrollo como fin del mismo y en su respectiva publicación.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

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

Estadística Descriptiva

Tabla N° 1

Distribución de las sustancias antibacterianas del *Vaccinium Corymbosum* y clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*

Tabla cruzada CONCENTRACIONES*SUSTANCIAS ANTIBACTERIANAS					
			SUSTANCIAS ANTIBACTERIANAS		Total
			Vaccinium Corymbosum	clorhexidina	
			Recuento	%	
sustancias	0,12%	Recuento	0	12	12
	clorhexidina	%	0,0%	20,0%	20,0%
	25%	Recuento	12	0	12
	Vaccinium Corymbosum	%	20,0%	0,0%	20,0%
	50%	Recuento	12	0	12
	Vaccinium Corymbosum	%	20,0%	0,0%	20,0%
	75%	Recuento	12	0	12
	Vaccinium Corymbosum	%	20,0%	0,0%	20,0%
	100%	Recuento	12	0	12
	Vaccinium Corymbosum	%	20,0%	0,0%	20,0%
Total		Recuento	48	12	60
		%	80,0%	20,0%	100,0%

Fuente: Propia del investigador

Se observa la distribución en el estudio con un total de 60 discos a examinar conformado por grupos de 12 discos, con Clorhexidina 0,12%, Vaccinium Corymbosum 25%, 50%, 75% y 100%.

Gráfico N° 1

Distribución de las sustancias antibacterianas del *Vaccinium Corymbosum* y clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella intermedia*

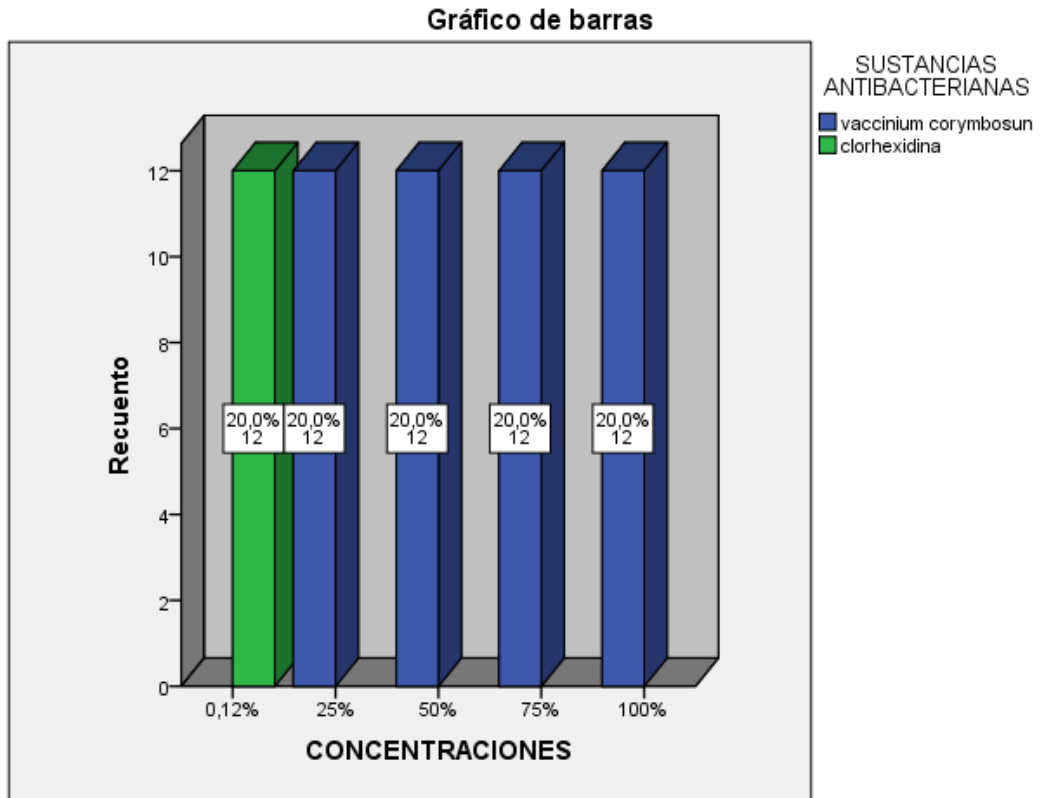


Tabla N° 2

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 25% sobre la *Prevotella Intermedia*

		Estadísticos		
		12 HORAS	18 HORAS	24 HORAS
N	Válido	12	12	12
	Perdidos	0	0	0
Media		6,000	6,000	6,000
Desviación estándar		,0000	,0000	,0000
Varianza		,000	,000	,000
Mínimo		6,0	6,0	6,0
Máximo		6,0	6,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa los halos de inhibición del *Vaccinium Corymbosum* al 25% sobre la *Prevotella Intermedia*.

- 12 horas: Un promedio de $6 \pm 0\text{mm}$, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.
- 18 horas: Un promedio de $6 \pm 0\text{mm}$, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.
- 24 horas: Un promedio de $6 \pm 0\text{mm}$, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.

Gráfico N° 2

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 25% sobre *Prevotella Intermedia*

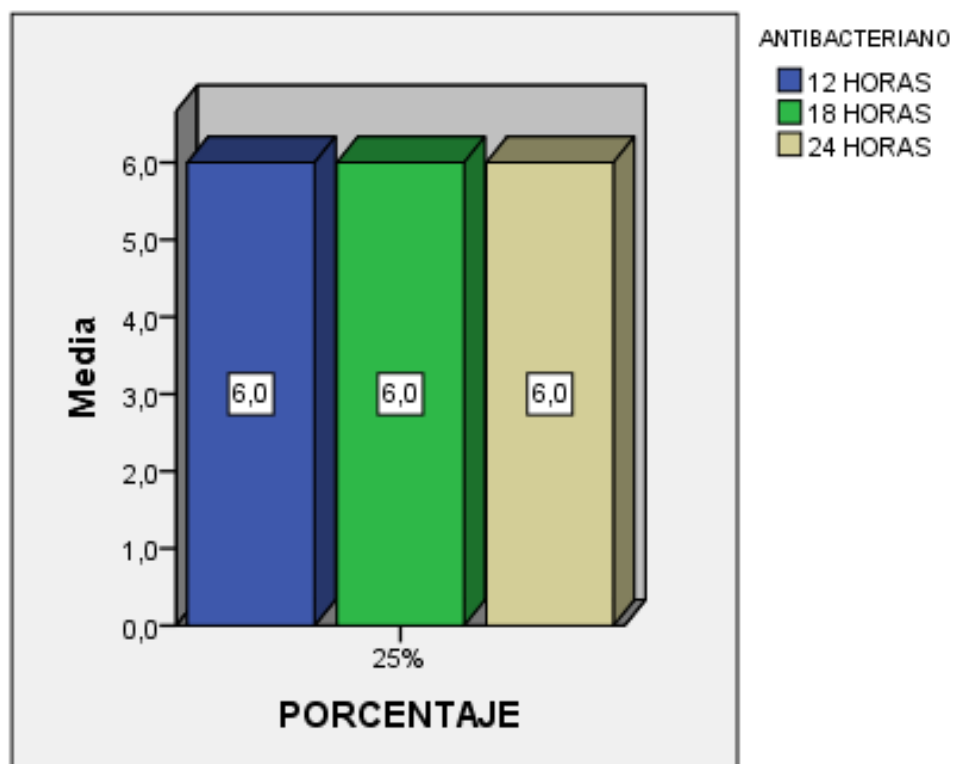


Tabla N° 3

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 50% sobre la *Prevotella Intermedia*

		Estadísticos		
		12 HORAS	18 HORAS	24 HORAS
N	Válido	12	12	12
	Perdidos	0	0	0
Media		6,000	6,000	6,000
Desviación estándar		,0000	,0000	,0000
Varianza		,000	,000	,000
Mínimo		6,0	6,0	6,0
Máximo		6,0	6,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa los halos de inhibición del *Vaccinium Corymbosum* al 50% sobre la *Prevotella Intermedia*.

- 12 horas: Un promedio de 6 ± 0 mm, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.
- 18 horas: Un promedio de 6 ± 0 mm, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.
- 24 horas: Un promedio de 6 ± 0 mm, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 6mm.

Gráfico N° 3

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 50% sobre la *Prevotella Intermedia*

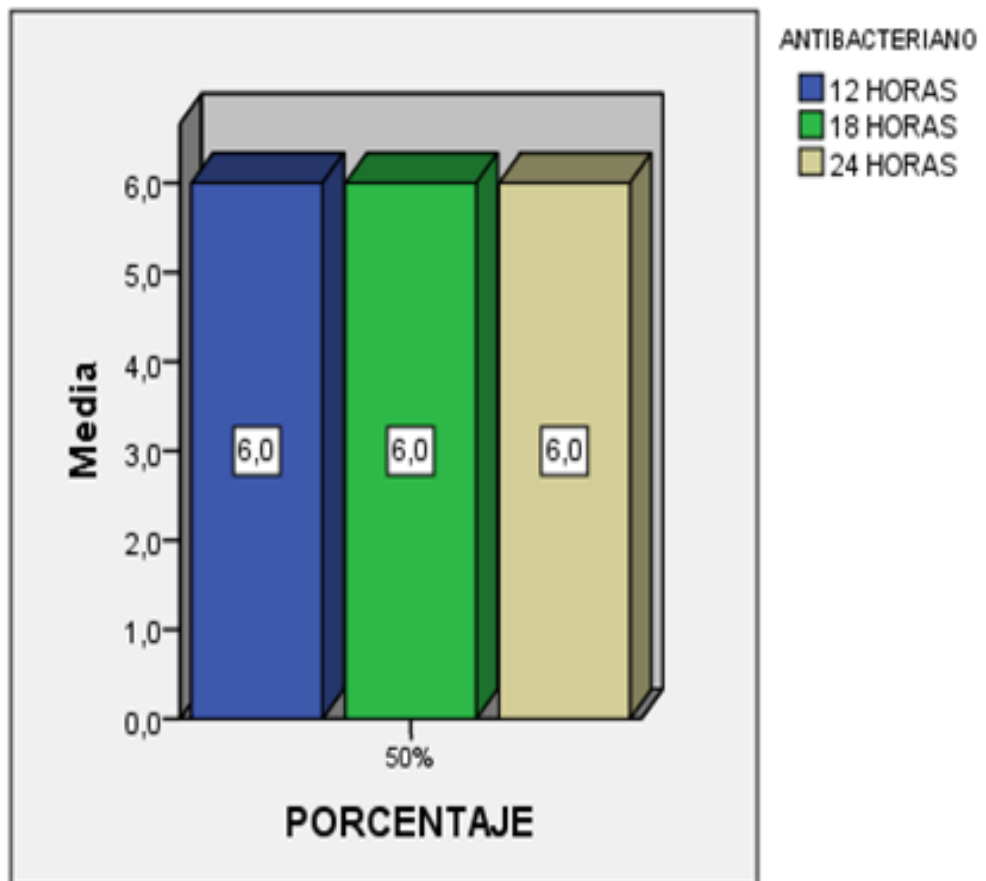


Tabla N° 4

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 75% sobre la *Prevotella Intermedia*

		Estadísticos		
		12 HORAS	18 HORAS	24 HORAS
N	Válido	12	12	12
	Perdidos	0	0	0
Media		11,417	10,375	6,000
Desviación estándar		1,2216	,7724	,0000
Varianza		1,492	,597	,000
Mínimo		10,5	8,5	6,0
Máximo		15,0	11,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa los halos de inhibición del *Vaccinium Corymbosum* al 75% sobre la *Prevotella Intermedia*.

- 12 horas: Un promedio de $11,41 \pm 1,22$ mm, un mínimo diámetro de 10,5mm y máximo 15mm.
- 18 horas: Un promedio de $10,37 \pm 0,77$ mm, un mínimo diámetro de 8,5mm y máximo 11mm.
- 24 horas: Un promedio de 6 ± 0 mm, un mínimo diámetro de 6 mm y máximo 6mm.

Gráfico N° 4

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 75% sobre la *Prevotella Intermedia*

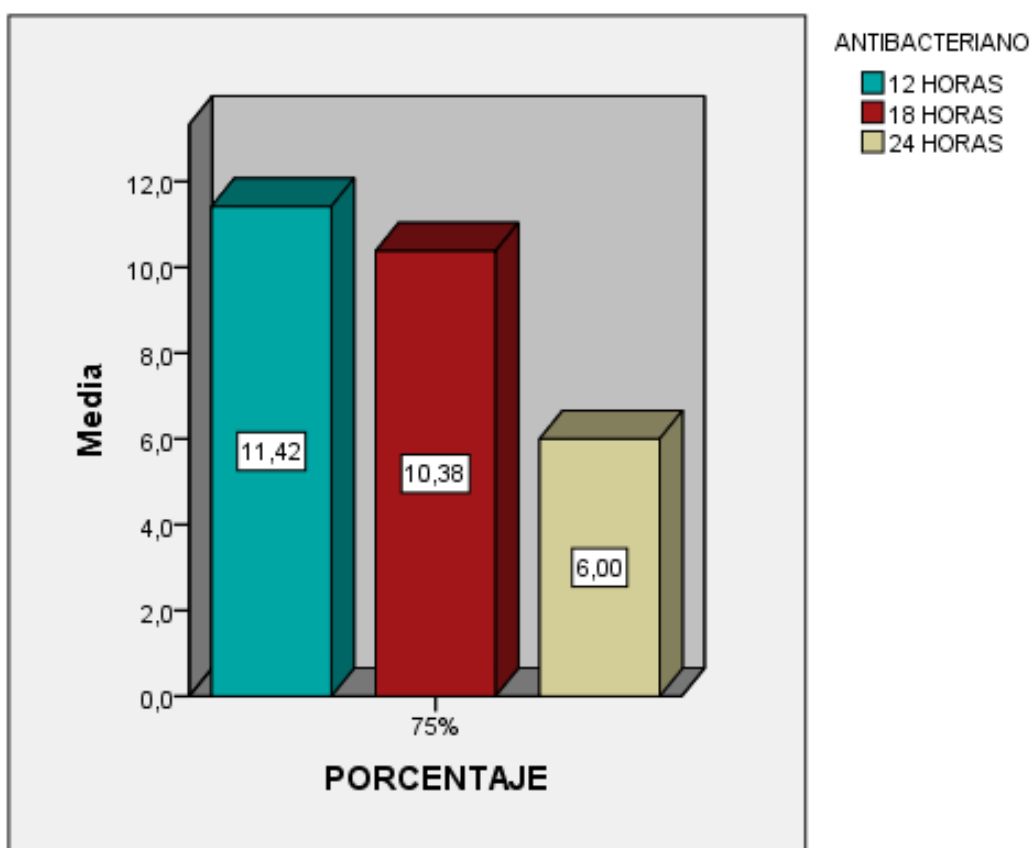


Tabla N° 5

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 100% sobre la *Prevotella Intermedia*

		Estadísticos		
		12 HORAS	18 HORAS	24 HORAS
N	Válido	12	12	12
	Perdidos	0	0	0
Media		11,375	10,875	6,000
Desviación estándar		1,1894	,8561	,0000
Varianza		1,415	,733	,000
Mínimo		10,0	10,0	6,0
Máximo		14,0	12,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa los halos de inhibición del *Vaccinium Corymbosum* al 100% sobre la *Prevotella Intermedia*.

- 12 horas: Un promedio de $11,37 \pm 1,18$ mm, un mínimo diámetro de 10mm y máximo 14mm.
- 18 horas: Un promedio de $10,87 \pm 0,85$ mm, un mínimo diámetro de 10mm y máximo 12mm.
- 24 horas: Un promedio de 6 ± 0 mm, un mínimo diámetro de 6 mm y máximo 6mm.

Gráfico N° 5

Evaluación de la inhibición del *Vaccinium Corymbosum* 100% sobre la *Prevotella Intermedia*

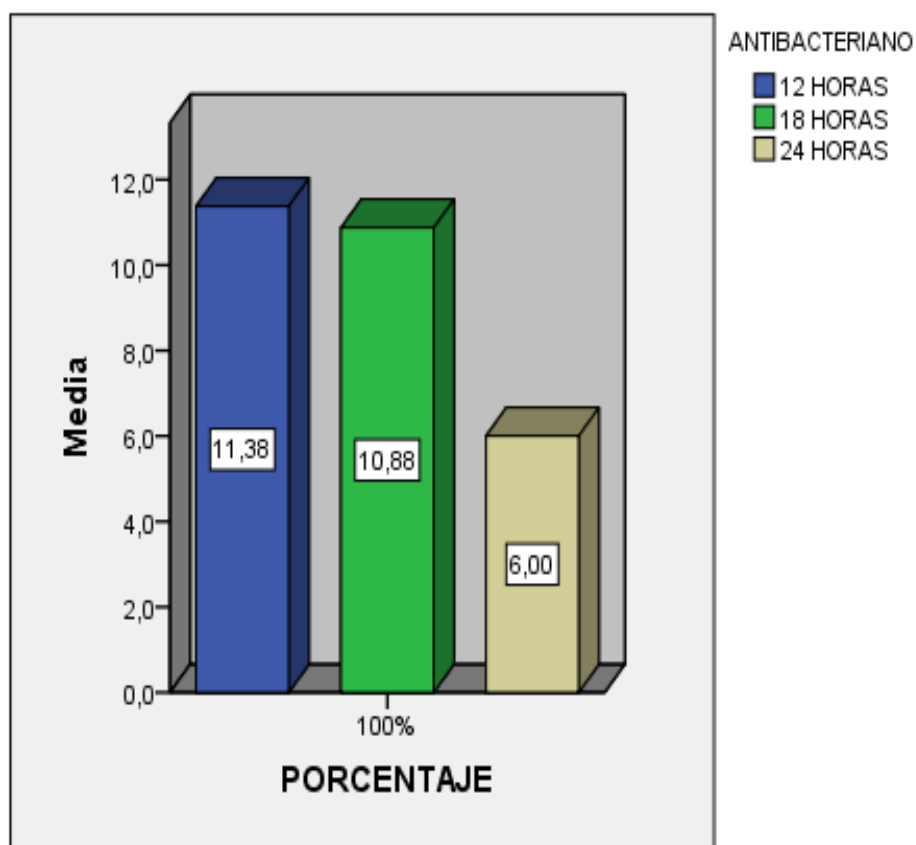


Tabla N° 6

Evaluación de la inhibición de la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*

		Estadística descriptiva		
		12 HORAS	18 HORAS	24 HORAS
N	Válido	12	12	12
	Perdidos	0	0	0
Media		19,833	18,917	9,208
Desviación estándar		1,0731	,8483	1,5877
Varianza		1,152	,720	2,521
Mínimo		18,5	18,0	6,0
Máximo		22,0	21,0	12,0

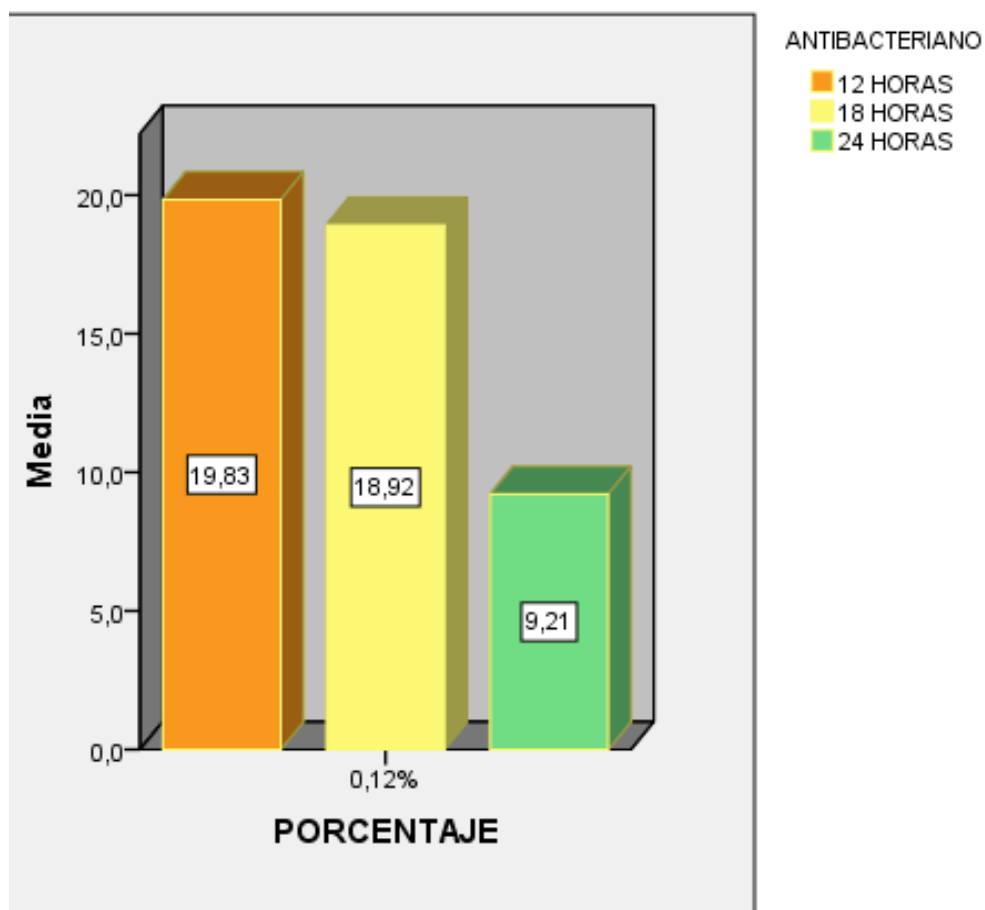
Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa los halos de inhibición de la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*.

- 12 horas: Un promedio de $19,83 \pm 1,07$ mm, un mínimo diámetro de 18,5mm y máximo 22mm.
- 18 horas: Un promedio de $18,91 \pm 0,84$ mm, un mínimo diámetro de 18mm y máximo 21mm.
- 24 horas: Un promedio de $9,20 \pm 1,58$ mm, un mínimo diámetro de 6mm y máximo 12mm.

Gráfico N° 6

Evaluación de la inhibición de la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*



5.2. Análisis inferencial, prueba estadística paramétrica

Análisis inferencial

Tabla N° 7

Efecto antibacteriano a las 12 horas del *Vaccinium Corymbosum* y la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*

Tabla cruzada CONCENTRACIONES*efecto antibacteriano 12 HORAS						
			efecto antibacteriano 12 HORAS			Total
			RESISTEN TE	INTERME DIO	SENSIB LE	
sustancias	0,12 %	Recuento %	0 0,0%	4 33,3%	8 66,7%	12 100,0 %
	25%	Recuento %	12 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	12 100,0 %
	50%	Recuento %	12 100,0%	0 0,0%	0 0,0%	12 100,0 %
	75%	Recuento %	0 0,0%	12 100,0%	0 0,0%	12 100,0 %
	100 %	Recuento %	1 8,3%	11 91,7%	0 0,0%	12 100,0 %
Total		Recuento %	25 41,7%	27 45,0%	8 13,3%	60 100,0 %

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa el efecto antibacteriano de las sustancias en el periodo de 12 horas:

- Clorhexidina 0,12% presenta un efecto antibacteriano con 8 discos (66,7%) sensible y 4 discos (33,3%) intermedio.

- *Vaccinium Corymbosum* 25% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.
- *Vaccinium Corymbosum* 50% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.
- *Vaccinium Corymbosum* 75% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) intermedio.
- *Vaccinium Corymbosum* 100% presenta un efecto antibacteriano con 11 discos (91,7%) intermedio y 1 disco (8,3%) resistente.

Gráfico N° 7

Efecto antibacteriano a las 12 horas del Vaccinium Corymbosum y de la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia

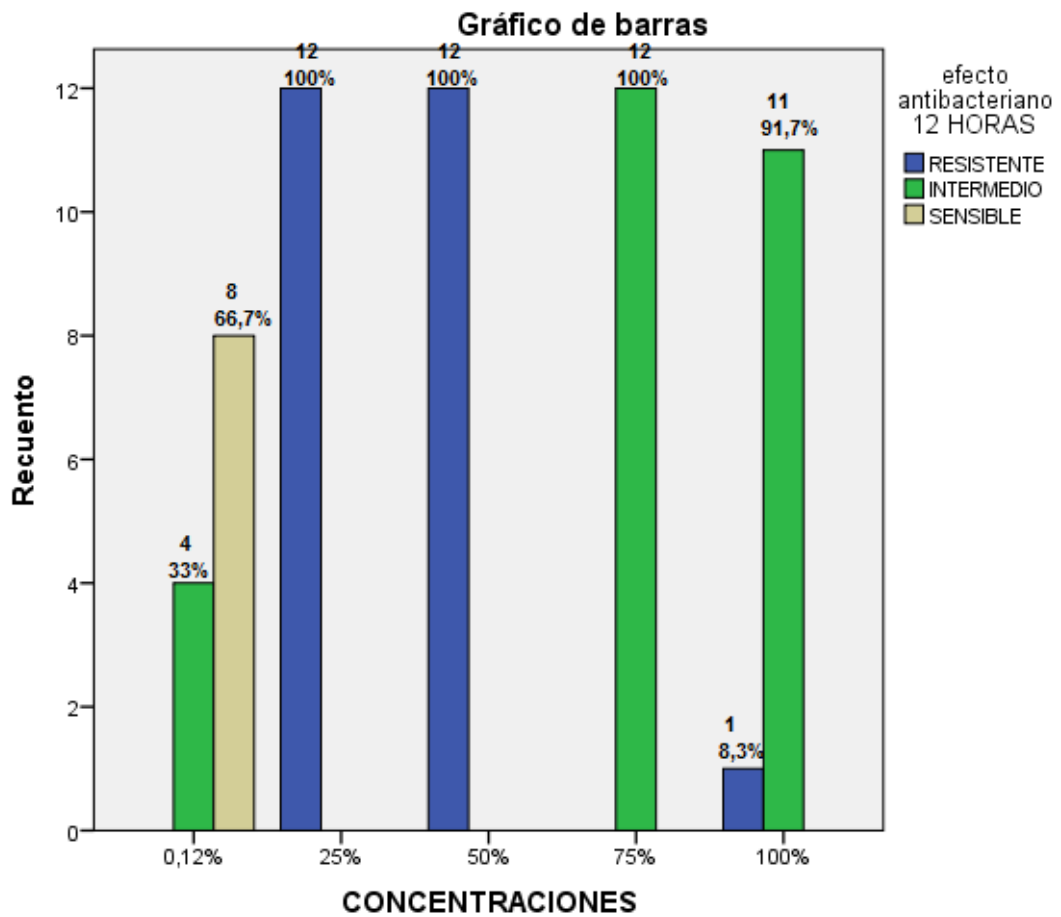


Tabla N° 8

Efecto antibacteriano a las 18 horas del Vaccinium Corymbosum y la clorhexidina 0,12% sobre la Prevotella Intermedia

		Tabla cruzada CONCENTRACIONES*efecto antibacteriano 18 HORAS				
		efecto antibacteriano 18 HORAS			Total	
		RESISTEN	INTERME	SENSIB		
		TE	DIO	LE		
sustancias	0,12	Recuento	0	9	3	12
	%	%	0,0%	75,0%	25,0%	100,0%
	25%	Recuento	12	0	0	12
		%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	50%	Recuento	12	0	0	12
		%	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	75%	Recuento	6	6	0	12
		%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	100	Recuento	5	7	0	12
	%	%	41,7%	58,3%	0,0%	100,0%
Total		Recuento	35	22	3	60
		%	58,3%	36,7%	5,0%	100,0%

Fuente: Propia del investigador

En el estudio se observa el efecto antibacteriano de las sustancias en el periodo de 18 horas:

- Clorhexidina 0,12% presenta un efecto antibacteriano con 9 discos (75%) intermedio y 3 discos (25%) sensible.
- Vaccinium Corymbosum 25% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.

- *Vaccinium Corymbosum* 50% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.
- *Vaccinium Corymbosum* 75% presenta un efecto antibacteriano con 6 discos (50%) intermedio y 6 discos (50%) resistente.
- *Vaccinium Corymbosum* 100% presenta un efecto antibacteriano con 7 discos (58,3%) intermedio y 5 discos (41,7%) resistente.

Gráfico N° 8

Efecto antibacteriano a las 18 horas del *Vaccinium Corymbosum* y de la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*

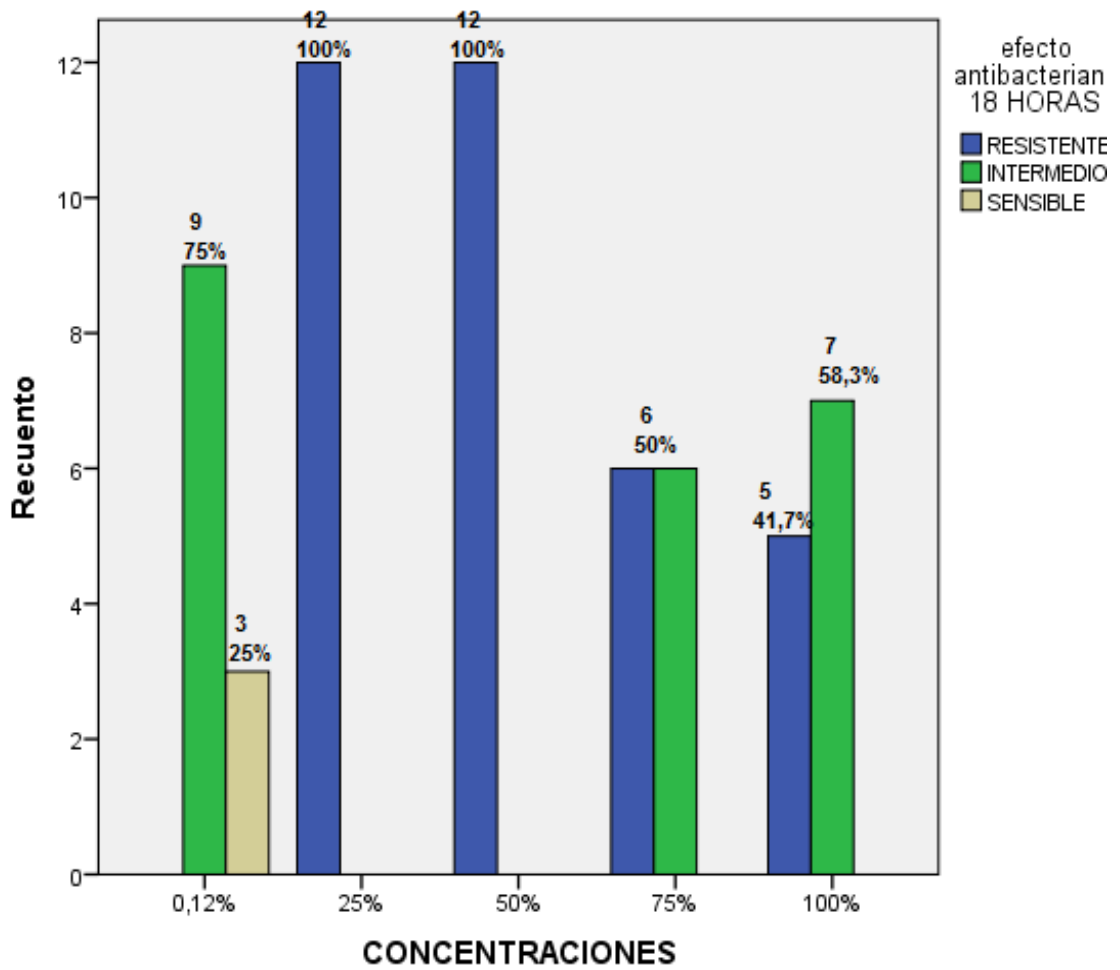


Tabla N° 9

Efecto antibacteriano a las 24 horas del Vaccinium Corymbosum y la clorhexidina 0,12 % sobre la Prevotella Intermedia

Tabla cruzada CONCENTRACIONES*efecto antibacteriano 24HORAS					
		<u>efecto antibacteriano 24HORAS</u>		Total	
		RESISTENTE	INTERMEDIO		
sustancias	0,12%	Recuento	10	2	12
		%	83,3%	16,7%	100,0%
	25%	Recuento	12	0	12
		%	100,0%	0,0%	100,0%
	50%	Recuento	12	0	12
		%	100,0%	0,0%	100,0%
	75%	Recuento	12	0	12
		%	100,0%	0,0%	100,0%
	100%	Recuento	12	0	12
		%	100,0%	0,0%	100,0%
Total		Recuento	58	2	60
		%	96,7%	3,3%	100,0%

Fuente: Propia del investigador

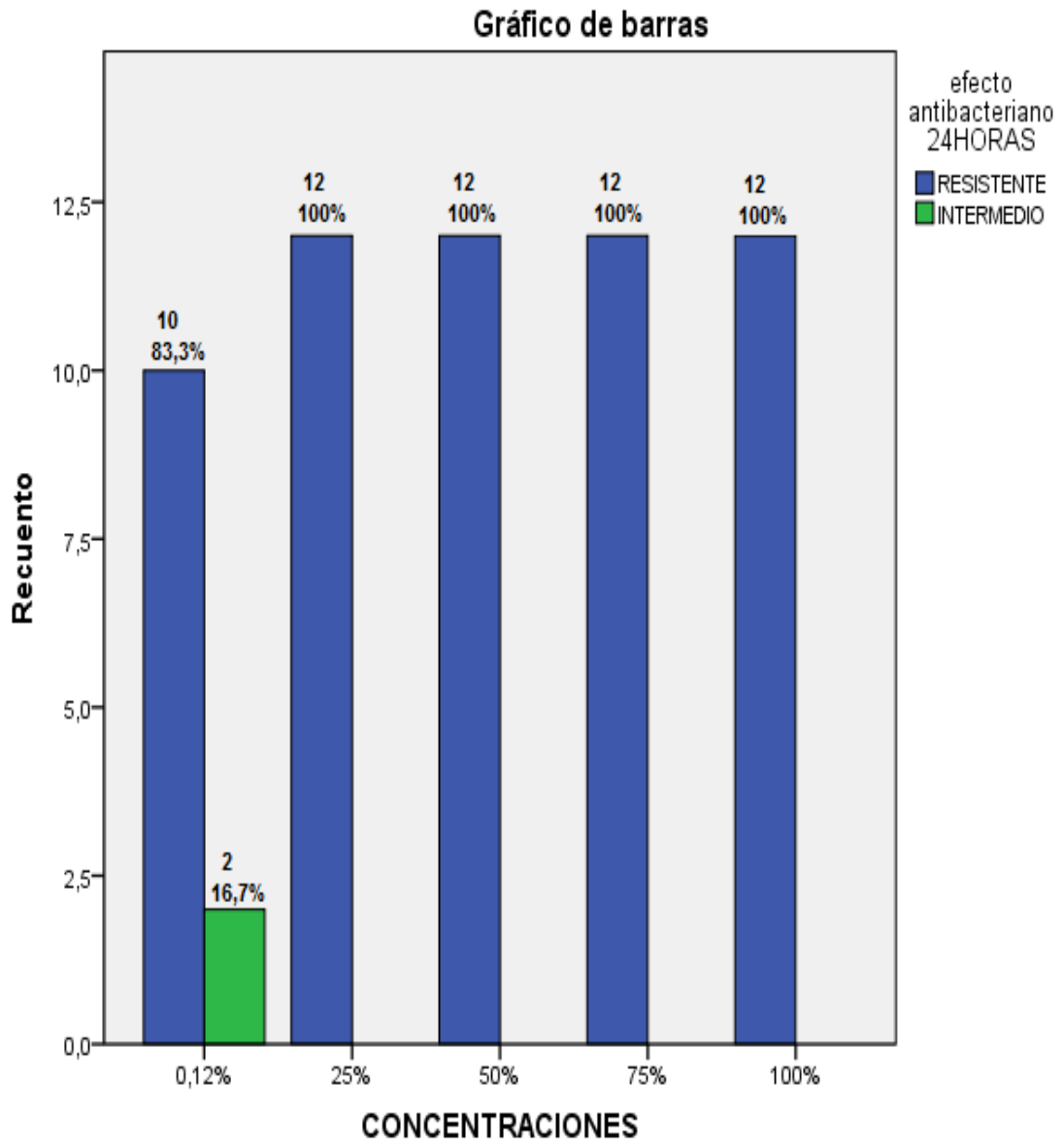
En el estudio se observa el efecto antibacteriano de las sustancias en el periodo de 24 horas:

- Clorhexidina 0,12% presenta un efecto antibacteriano con 10 discos (83,3%) resistente y 2 discos (16,7%) intermedio.
- Vaccinium Corymbosum 25% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.
- Vaccinium Corymbosum 50% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.

- *Vaccinium Corymbosum* 75% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.
- *Vaccinium Corymbosum* 100% presenta un efecto antibacteriano con 12 discos (100%) resistente.

Gráfico N° 9

Efecto antibacteriano a las 24 horas del *Vaccinium Corymbosum* y de la clorhexidina 0,12% sobre la *Prevotella Intermedia*



5.3. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

Comprobación de hipótesis

Tabla N° 10

Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 25% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
12HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
18HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
24HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
Total	36	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	2	,095	.	.095
Dentro de grupos	,000	33	,095		
Total	,000	35			

Fuente: Propia del investigador

Se obtuvo según la prueba estadística de ANOVA $P=0,095$ siendo mayor a $P=0.05$ el cual se concluye que no existe diferencia estadística significativa.

H0: No existe una diferencia estadística significativa en el efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum 25% en los periodos de 12 ,18 ,24 horas.

Gráfico N° 10

Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 25% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas

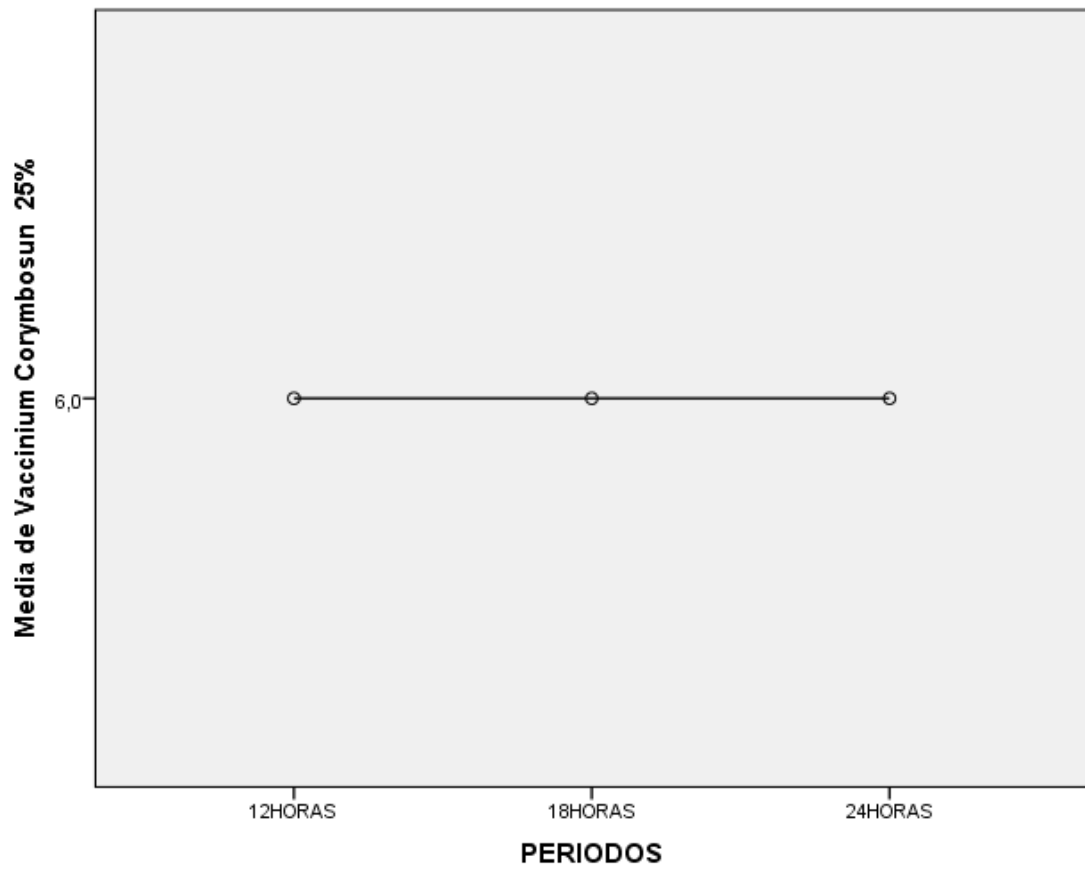


Tabla N° 11

Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 50% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas

Descriptivos						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
12 HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
18HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
24 HORAS	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
Total	36	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0

Fuente: Propia del investigador

ANOVA						
Vaccinium Corymbosum 50%						
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Entre grupos	,000	2	,095	.00	.095	
Dentro de grupos	,000	33	,095			
Total	,000	35				

Fuente: Propia del investigador

Se obtuvo según la prueba estadística de ANOVA $P=0,095$ siendo mayor a $P=0.05$ el cual se concluye que no existe diferencia estadística significativa.

H_0 : No existe una diferencia estadística significativa en el efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum 50% en los periodos de 12 ,18 ,24 horas.

Gráfico N° 11

Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 50% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas

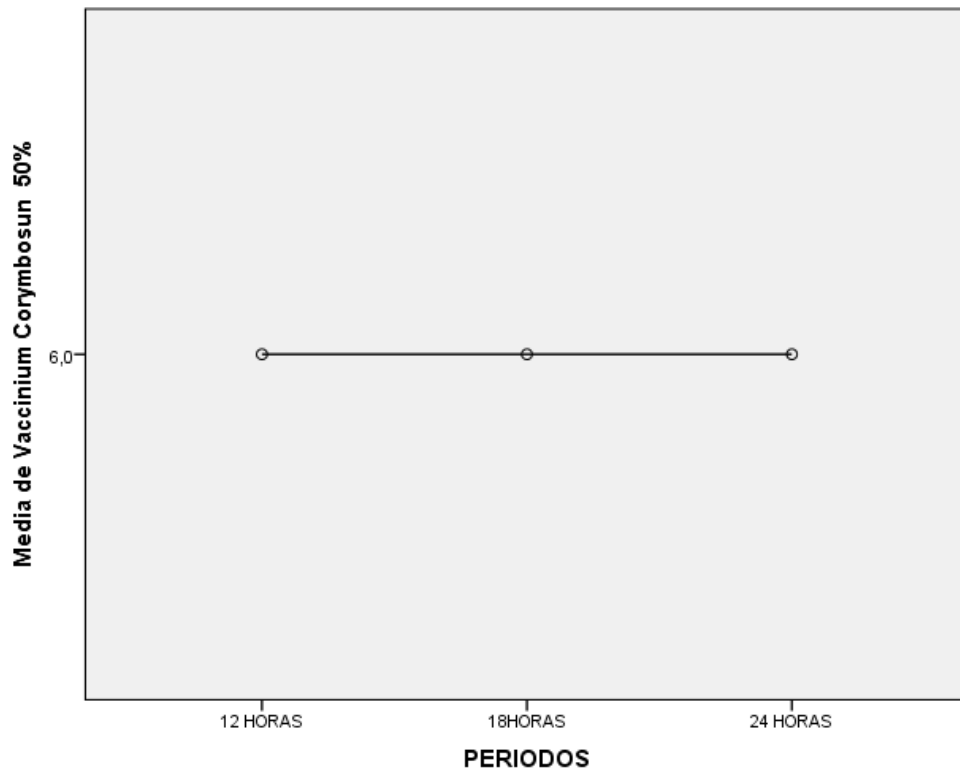


Tabla N° 12

Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 75% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas

Descriptivos						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
12HORA S	12	11,417	1,2216	,3527	10,5	15,0
18HORA S	12	10,375	,7724	,2230	8,5	11,0
24HORA S	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
Total	36	9,264	2,5142	,4190	6,0	15,0

Fuente: Propia del investigador

ANOVA					
Vaccinium Corymbosum 75%					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	198,264	2	99,132	142,362	,000
Dentro de grupos	22,979	33	,696		
Total	221,243	35			

Fuente: Propia del investigador

Se obtuvo según la prueba estadística de ANOVA $P=0,00$ siendo menor a $P=0,05$ el cual se concluye que existe diferencia estadística significativa.

H1: Existe una diferencia estadística significativa en el efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum 75% en los periodos de 12 ,18 ,24 horas.

Tabla N° 13

Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo del Vaccinium Corymbosum 75%

Comparaciones múltiples				
Vaccinium Corymbosum 75%				
(I) PERIODOS	(J) PERIODOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
12HORAS	18HORAS	1,0417*	,3407	,000
	24HORAS	5,4167*	,3407	,000
18HORAS	12HORAS	-1,0417*	,3407	,000
	24HORAS	4,3750*	,3407	,060
24HORAS	12HORAS	-5,4167*	,3407	,000
	18HORAS	-4,3750*	,3407	,060

Fuente: Propia del investigador

12 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 75% presentado a las 18 horas.
- Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 75% presentado a las 24 horas.

18 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 75% presentado a las 12 horas.
- No Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 75% presentado a las 24 horas.

24 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el *Vaccinium Corymbosum* 75% presentado a las 12 horas.
- No existe una diferencia estadística significativa con el *Vaccinium Corymbosum* 75% presentado a las 18 horas.

Gráfico N° 12

Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 75% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas

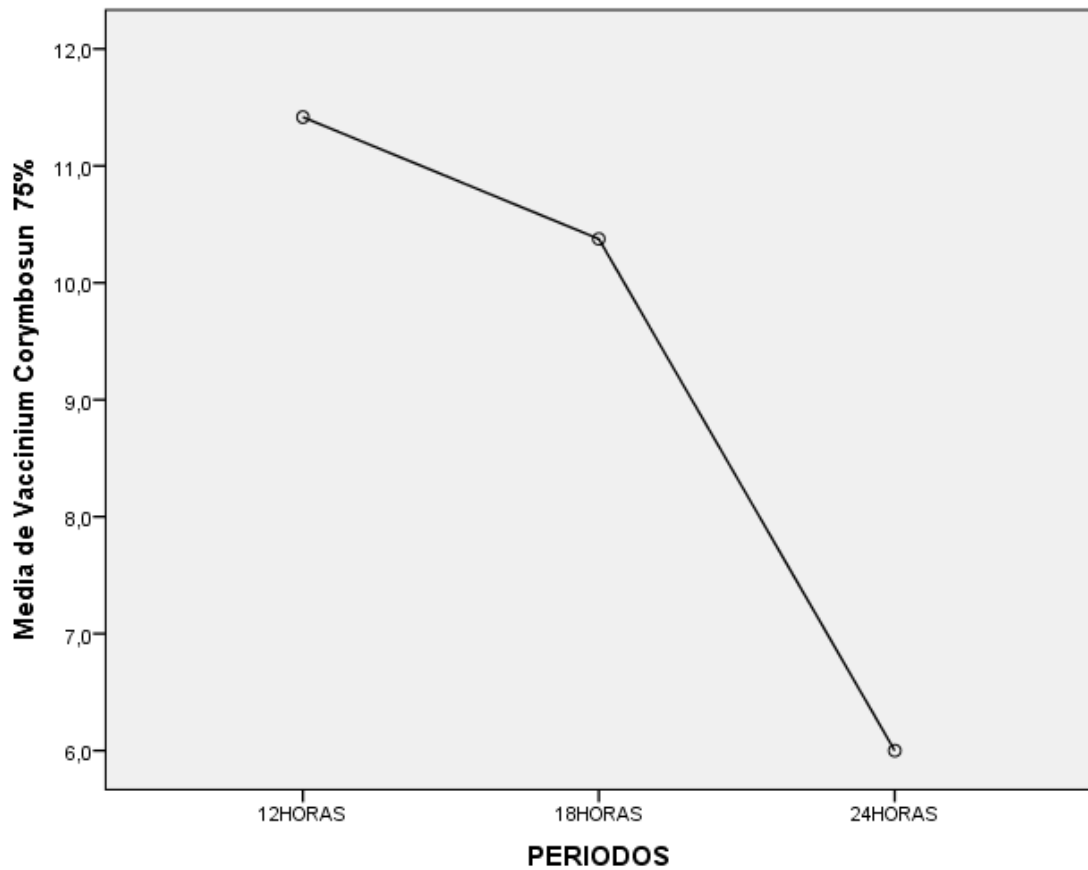


Tabla N° 14

Prueba ANOVA Vaccinium Corymbosum 100% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas

Descriptivos						
Vaccinium Corymbosum 100%						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
12HORA S	12	11,375	1,1894	,3434	10,0	14,0
18HORA S	12	10,875	,8561	,2471	10,0	12,0
24HORA S	12	6,000	,0000	,0000	6,0	6,0
Total	36	9,417	2,5926	,4321	6,0	14,0

Fuente: Propia del investigador

ANOVA					
Vaccinium Corymbosum 100%					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	211,625	2	105,813	147,802	,000
Dentro de grupos	23,625	33	,716		
Total	235,250	35			

Fuente: Propia del investigador

Se obtuvo según la prueba estadística de ANOVA $P=0,00$ siendo menor a $P=0,05$ el cual se concluye que existe diferencia estadística significativa.

H1: Existe una diferencia estadístico significativa en el efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum 100% en los periodos de 12 ,18 ,24 horas.

Tabla N° 15

Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo del Vaccinium Corymbosum 100%

Comparaciones múltiples				
Vaccinium Corymbosum 100%				
(I) PERIODOS	(J) PERIODOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
12HORAS	18HORAS	,5000	,3454	,000
	24HORAS	5,3750 [*]	,3454	,329
18HORAS	12HORAS	-,5000	,3454	,000
	24HORAS	4,8750 [*]	,3454	,329
24HORAS	12HORAS	-5,3750 [*]	,3454	,000
	18HORAS	-4,8750 [*]	,3454	,329

Fuente: Propia del investigador

12 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 100% presentado a las 18 horas.
- No existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 100% presentado a las 24 horas.

18 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 100% presentado a las 12 horas.
- No Existe una diferencia estadística significativa con el Vaccinium Corymbosum 100% presentado a las 24 horas.

24 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con el *Vaccinium Corymbosum* 100% presentado a las 12 horas.
- No existe una diferencia estadística significativa con el *Vaccinium Corymbosum* 100% presentado a las 18 horas.

Gráfico N° 13

Gráfico de medias ANOVA Vaccinium Corymbosum 100% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas

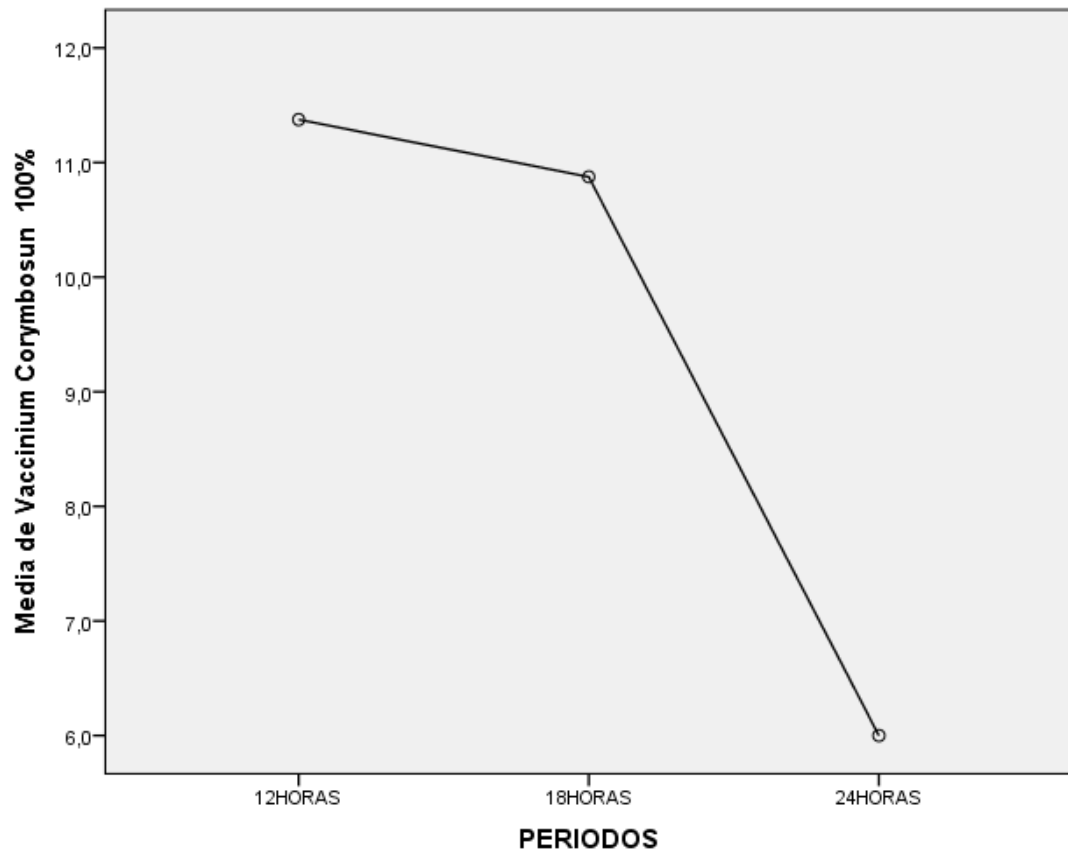


Tabla N° 16

Prueba ANOVA clorhexidina 0,12% en periodo de tiempo de 12, 18 y 24 horas

Descriptivos						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Mínimo	Máximo
12HORA S	12	19,833	1,0731	,3098	18,5	22,0
18HORA S	12	18,917	,8483	,2449	18,0	21,0
24HORA S	12	9,208	1,5877	,4583	6,0	12,0
Total	36	15,986	5,0150	,8358	6,0	22,0

Fuente: Propia del investigador

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	831,931	2	415,965	284,126	,000
Dentro de grupos	48,313	33	1,464		
Total	880,243	35			

Fuente: Propia del investigador

Se obtuvo según la prueba estadística de ANOVA $P=0,00$ siendo menor a $P=0,05$; el cual se concluye que existe diferencia estadística significativa.

H1: Existe una diferencia estadística significativa en el efecto antibacteriano de la clorhexidina 0,12% en los periodos de 12 ,18 ,24 horas.

Tabla N° 17

Prueba ANOVA comparaciones múltiples de los periodos de tiempo de la clorhexidina 0,12%

Comparaciones múltiples				
(I) PERIODOS	(J) PERIODOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.
12HORAS	18HORAS	,9167	,4940	,168
	24HORAS	10,6250*	,4940	,000
18HORAS	12HORAS	-,9167	,4940	,168
	24HORAS	9,7083*	,4940	,000
24HORAS	12HORAS	-10,6250*	,4940	,000
	18HORAS	-9,7083*	,4940	,000

Fuente: Propia del investigador

12 horas:

- No existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 18 horas.
- Existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 24 horas.

18 horas:

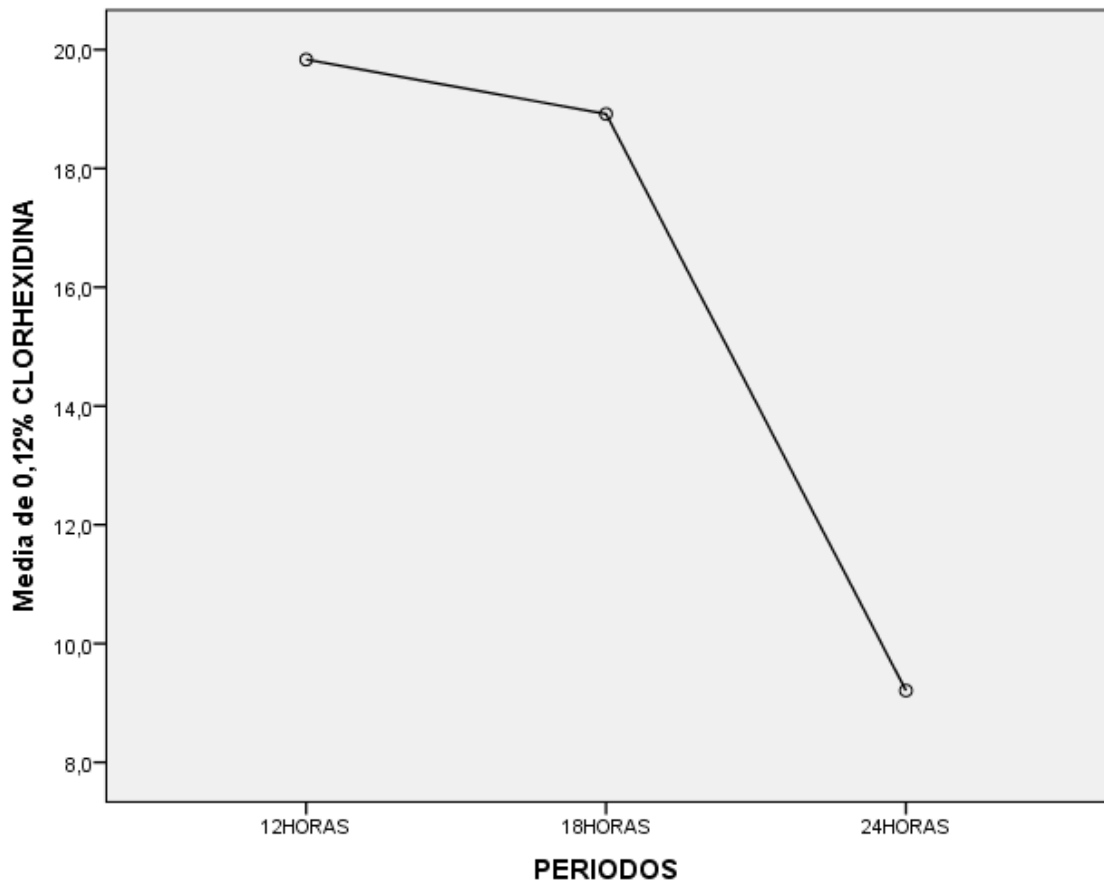
- No existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 12 horas.
- Existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 24 horas.

24 horas:

- Existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 12 horas.
- Existe una diferencia estadística significativa con la clorhexidina 0,12% presentado a las 18 horas.

Gráfico N° 14

Gráfico de medias ANOVA clorhexidina 0,12% en los periodos de tiempo de 12, 18 y 24 horas



5.4. Discusión

De los resultados obtenidos de manera general se evidencia que el extracto etanólico de *Vaccinium Corymbosum* presenta un efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento de *Prevotella Intermedia* ATCCR 25611 en periodos de tiempo de 12 y 18 horas a concentraciones de 75% (Gráfico N° 4) y 100% (Gráfico N° 5) a diferencia de una investigación realizada por **Ángel JS (2015)**⁷ donde demuestra como resultado que en periodo de tiempo de 18 horas la concentración de 100% presentó mayor efecto antibacteriano in vitro con una media de 11.90 sobre *Escherichia Coli* y una media de 14,29 sobre la bacteria *Staphylococcus Aureus* a diferencia de concentraciones de 75% y 50%; estableciendo paralelamente en ambos trabajos de investigación que el *Vaccinium Corymbosum* va perdiendo su efectividad mediante el paso de transcurso de tiempo de forma in vitro y mientras menores son las concentraciones aplicadas del respectivo fruto *Vaccinium Corymbosum*.

Según **Ben A, Dudonné S, Desjardins Y, Grenier D (2015)**¹⁵ manifiestan como resultados que el *Vaccinium Angustifolium* Ait demuestra efecto antibacteriano sobre la bacteria anaerobia estricta gram negativa *Fusobacterium Nucleatum* inhibiendo su biofilm en un 87.5 +- 2.3%, realizando su estudio evaluando el respectivo arándano por los componentes presentes como los flavonoides asociados a efectos beneficiosos para la salud, relacionando efecto también a otros componentes como ácidos fenólicos, flavonoides en general, cianidinas constituyendo el 16,6%, el 12,9% y el 2,7% del extracto de arándano. Así mismo concluyo de esta forma que evidentemente este respectivo arándano demuestra mejor comportamiento clínico sobre bacteria prevalente en enfermedad

periodontal a comparación de los resultados obtenidos en el presente estudio donde el efecto antibacteriano del *Vaccinium Corymbosum* es menor inhibiendo de manera intermedia la respectiva bacteria *Prevotella Intermedia* donde el efecto se ve limitado a comparación del anterior *Vaccinium*.

Igualmente, **Atencio EK (2015)**²³ obtiene en sus resultados una importante inhibición bacteriana por parte del *Vaccinium Corymbosum* a la concentración de 75% sobre el *Streptococcus mutans* con diámetro de 6mm, donde el grupo control de clorhexidina al 0.12% demostró mayor efecto antibacteriano en respectivos pozos. La respectiva bacteria de estudio es anaerobia gram positiva facultativa siendo que por sus características estructurales presenta inhibición ante este *Vaccinium* por sus altos componentes de proantocianidinas tipo A y antocianos, donde a mi opinión este tipo de bacteria es más susceptible a los componentes del arándano azul siendo evidentemente manifestado lo contrario hacia la bacteria prevalente de enfermedad periodontal *Prevotella Intermedia* donde no produce un efecto de susceptibilidad total sino parcial por ser esta cada vez más resistente a distintos tipos de antibacterianos.

De esta forma **Lalaleo MD (2016)**¹⁷ brinda como resultados de su estudio que la concentración de 25% del extracto alcohólico de *Vaccinium Floribundum* Kunt es efectivo sobre el *Streptococcus Mutans* dando un halo de inhibición en promedio de 13,11mm obtenido luego de evaluarse las otras concentraciones de 50%, 75% y 100% donde para dicho estudio emplearon agar sangre para un total de nueve placas Petri con respectivos controles positivos (clorhexidina al 2%) y negativos con solución salina realizándolo de forma in vitro, teniendo como conocimiento que este tipo de bacteria es prevalente de enfermedad de la caries

siendo anaerobia y causante de pérdida dentaria en etapas severas. Concluyo que los resultados del estudio previo y del actual con media de 11,41 a las 12 horas para concentración de 75% y 11,37 a las 12 horas para concentración de 100% son congruentes de acuerdo al efecto antibacteriano intermedio que presentan, donde el *Vaccinium Corymbosum* podría demostrar reducción de su efecto en variación de horas sobre esta bacteria de estudio siendo hacia la periodontal que demuestra esa reducción de efecto, determinándose de esta forma que ambos *Vaccinium* pueden ser mayormente efectivos sobre bacterias gram positivas facultativas a diferencia de bacterias gram negativas estrictas.

Así mismo, **Adrianzen JJ, Chiroque JA (2017)**²⁴ mencionan en sus resultados que la concentración mínima bactericida de *Escherichia Coli* produjo una eliminación bacteriana de 99,9% por el *Vaccinium Corymbosum* y una concentración mínima inhibitoria a concentración de 100% ambas a 24 horas. Siendo este tipo de bacteria gram negativa causante de enfermedades del tracto urinario donde coloniza y produce factores de virulencia, su forma constituye la de un bacilo atribuyendo también a producir enfermedad del tracto gastrointestinal, siendo contrarrestada por el efecto del *Vaccinium* de estudio demostrado en estudios paralelos. Otorgando como opinión que este tipo de bacteria *E. Coli* es sensible a los componentes del arándano manifestado en otros estudios donde concluyo que ciertas bacterias anaerobias gram negativas son susceptibles a la aplicación de este compuesto demostrando lo contrario a bacteria *Prevotella Intermedia* presente en cavidad oral por manifestar efecto intermedio en 12 y 18 horas a no efecto en 24 horas (Gráfico N° 7, 8 y 9).

Consecuentemente, **Ben A, LeBel G, Grenier D (2018)**²² obtuvieron como resultados una reducción de crecimiento de un 62.5% del *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* por parte del *Vaccinium Corymbosum* donde se evidenció la alteración de la membrana citoplasmática bacteriana a través de microscopía de barrido y posteriormente la lisis bacteriana por el efecto de las proantocianidinas, siendo esta especie bacteriana la principal bacteria causante de enfermedad periodontal siendo esta irreversible y causante de gran pérdida de soporte como daño en tejido de protección causando irreparablemente la pérdida dentaria, de esta forma afirmo en comparación de ambos estudios que el *Vaccinium Corymbosum* es capaz de contrarrestar especies bacterianas periodontales muy dependiente del tipo de estudio y técnica empleada como también los componentes presentes en cuyo *Vaccinium*.

CONCLUSIONES

- El *Vaccinium Corymbosum* al 75% y 100% demuestran efecto antibacteriano in vitro intermedio sobre la *Prevotella Intermedia* en periodo de tiempo de 12 y 18 horas, demostrando no efecto antibacteriano in vitro (resistente) a las 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 25% demuestra no tener efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia*, siendo completamente resistente en periodos de tiempo de evaluación de 12, 18 y 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 50% demuestra no tener efecto antibacteriano in vitro sobre la *Prevotella Intermedia*, siendo completamente resistente en periodos de tiempo de evaluación de 12, 18 y 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 75% demuestra tener efecto antibacteriano in vitro intermedio sobre la *Prevotella Intermedia* en un 100% a las 12 horas, posteriormente en un 50% intermedio a las 18 horas para posteriormente demostrar 100% resistencia antibacteriana a las 24 horas.
- El *Vaccinium Corymbosum* al 100% demuestra tener efecto antibacteriano in vitro intermedio sobre la *Prevotella Intermedia* en un 91,7% a las 12 horas, para posteriormente continuar manteniendo su efecto de intermedio en un 58,3% a las 18 horas y perder su efecto antibacteriano total; siendo resistente en un 100% a las 24 horas.

RECOMENDACIONES

- Estudiar otros posibles componentes activos del *Vaccinium Corymbosum* mediante distintos tipos de pruebas fitoquímicas cualitativas y cuantitativas que pueden influenciar en su efecto antibacteriano ante determinadas bacterias presentes en cavidad oral.
- Realizar nuevas comparaciones de efecto antibacteriano del *Vaccinium Corymbosum* pero a concentraciones distintas de las del presente trabajo in vitro y utilizando posteriormente otra sustancia control para visualizar mayor significancia de resultados.
- Seguir investigando en la literatura sobre otras sustancias naturales con probables efectos antibacterianos para poder combatir las principales bacterias causantes de enfermedad periodontal entre una de ellas la de estudio "Prevotella Intermedia".
- Considerar al *Vaccinium Corymbosum* como medicina alternativa para combatir distintos tipos de enfermedades de cavidad oral.
- En trabajos paralelos al presente estudio evaluar las muestras realizadas a menor tiempo de lectura de resultados sobre todo en estudios donde se avalúen efecto antibacteriano sobre grupos de bacterias anaerobias gram negativas estrictas presentes en enfermedad periodontal.

- Seguir valorando susceptibilidad bacteriana mediante el método de Kirby Bauer para poder determinar en sí que otras bacterias pueden ser sensibles, intermedio o resistentes al *Vaccinium Corymbosum* en periodos de tiempo.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ministerio de Salud del Perú. Situación de la Salud bucal en el Perú [Internet]. Perú: Minsa; 2014 [consultado 10 Dic 2018]. Disponible en: <https://odontologiapreventivapops.files.wordpress.com/2014/07/presentacion-situacion-de-salud-bucal-en-el-paids-dr-marco-calle-minsa-2014.pdf>.
2. Pérez J, Isaza G, Acosta S. Actividad antibacteriana de extractos de *Phenax* y *Tabebuia chrysantha*. BVS [Internet] 2007 [consultado 10 Dic 2018]; (6): 59-68. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-492626>.
3. Pérez D, Mazzone L. Arándano, Mercados internacionales Comercio argentino Aspectos económicos y productivos del cultivo en Tucumán. Publicación especial. EEAOC [Internet] 2006 [consultado 10 Dic 2018]; (30): 4-20. Disponible en: <http://www.eeaoc.org.ar/upload/publicaciones/archivos/138/20120313215533000000.pdf>.
4. García J, et al. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad española de enfermedades. Infecciones y microbiología clínica. [Internet]. España: Seimc; 2000 [consultado 10 Dic 2018]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
5. National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A5. NCCLS, Wayne, PA. 2000.

6. Bascones A, Figuero E. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. Rev Med Chile [Internet]. 2005 [Consultado 16 Abr 2018]; 17 (3): 147-156. Disponible en:

<http://scielo.isciii.es/pdf/peri/v17n3/147enfermedades.pdf>.
7. Ángel JS. Efecto del extracto de *Vaccinium Corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio, 2014. [Tesis doctoral]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de ciencias biológicas Escuela Académico profesional de Microbiología y Parasitología; 2015.
8. Burleigh AE, Benck SM, McAchran SE, Reed JD, Krueger CG, Hopkins WJ. Consumption of sweetened, dried cranberries may reduce urinary tract infection incidence in susceptible women-a modified observational study. NCBI [Internet]. 2013 [Consultado 16 Abr 2018]; 12 (1): 139. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24139545>.
9. Lacombe A, Tadepalli S, Hwang CA, Wu VC. Phytochemicals in lowbush wild blueberry inactivate *Escherichia coli* O157:H7 by damaging its cell membrane. NCBI [Internet]. 2013 [Consultado 16 Abr 2018]; 10 (11): 944-50. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23944751>.
10. Lacombe A, McGivney C, Tadepalli S, Sun X, Wu VC. The effect of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) constituents on the growth inhibition, membrane integrity, and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria Monocytogenes* in comparison to *Lactobacillus Rhamnosus*. NCBI [Internet].

2013 [Consultado 16 Abr 2018]; 34 (2): 352-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23541202>.

11. Garrido V. Arándano rojo I (*Vaccinium macrocarpon* Ait.). RE [Internet]. 2014 [Consultado 16 Abr 2018]; 7 (2): 1-13. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/27834/1/1736-2065-1-PB.pdf>.

12. Mathison BD, Kimble LL, Kaspar KL, Khoo C, Chew BP. Consumption of cranberry beverage improved endogenous antioxidant status and protected against bacteria adhesion in healthy humans: a randomized controlled trial. NCBI [Internet]. 2014 [Consultado 16 Abr 2018]; 34 (5): 420-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24916555>.

13. Margetis D, et al. Effects of proanthocyanidins on adhesion, Growth, and virulence of highly virulent extraintestinal pathogenic escherichia coli Argue for Its Use to treat oropharyngeal colonization and prevent ventilator-associated pneumonia. NCBI [Internet]. 2015 [Consultado 16 Abr 2018]; 43 (6): 170-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25803655>.

14. Bukhari S, Chiragh S, Tariq S, Alam MA, Wazir MS, Suleman M. In vitro activity of *vaccinium macrocarpon* (cranberry) on urinary tract pathogens in uncomplicated urinary tract infection. NCBI [Internet]. 2015 [Consultado 16 Abr 2018]; 27 (3): 660-3.

Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26721034>.

15. Ben A, Dudonné S, Desjardins Y, Grenier D. Wild Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) Polyphenols target *fusobacterium nucleatum* and the host inflammatory response: Potential Innovative Molecules for treating periodontal

diseases. NCBI [Internet]. 2015 [Consultado 16 Abr 2018]; 63 (31): 6999-7008. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26207764>.

16. García KB, Bragagnolo G, O'Callaghan D, Lavigne JP, Keriell A. A high-throughput assay for the measurement of uropathogenic *Escherichia coli* attachment to urinary bladder cells. NCBI [Internet]. 2016 [Consultado 16 Abr 2018]; 97(2): 194-201. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27273601>.

17. Lalaleo MD. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sobre el *Streptococcus mutans*. [Tesis doctoral]. Quito: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología Carrera de Odontología; 2016.

18. Singh I, Gautam LK, Kaur IR. Effect of oral cranberry extract (standardized proanthocyanidin-A) in patients with recurrent UTI by pathogenic *E. coli*: a randomized placebo-controlled clinical research study. NCBI [Internet]. 2016 [Consultado 16 Abr 2018]; 48 (9): 1379-1386. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27314247>.

19. Coddens A, Loos M, Vanrompay D, Remon JP, Cox E. Cranberry extract inhibits in vitro adhesion of F4 and F18+*Escherichia coli* to pig intestinal epithelium and reduces in vivo excretion of pigs orally challenged with F18+verotoxigenic *E. coli*. NCBI [Internet]. 2017 [Consultado 16 Abr 2018]; 202: 64-71. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28161211>.

20. Peron G, et al. The antiadhesive activity of cranberry phytocomplex studied by metabolomics: Intestinal PAC-A metabolites but not intact PAC-A are

identified as markers in active urines against uropathogenic *Escherichia coli*. NCBI [Internet]. 2017 [Consultado 16 Abr 2018]; 122: 67-75. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28844930>.

21. Peron G, et al. Antiadhesive Activity and Metabolomics Analysis of Rat Urine after Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) Administration. NCBI [Internet]. 2017 [Consultado 16 Abr 2018]; 65 (28): 5657-5667. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28635280>.

22. Ben A, LeBel G, Grenier D. Dual action of highbush blueberry proanthocyanidins on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and the host inflammatory response. NCBI [Internet]. 2018 [Consultado 16 Abr 2018]; 18 (1): 10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29321009>.

23. Atencio EK. Efecto inhibitor del *vaccinium corymbosum* (arándano azul) y gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a la presencia de *streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Lima, 2015. [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Nolbert Winier. Facultad de ciencias de la salud escuela académico profesional de odontología; 2015.

24. Adrianzen JJ, Chiroque JA. Efecto in vitro del zumo de *vaccinium corymbosum* L. sobre *escherichia coli*. [Tesis doctoral]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de farmacia y bioquímica Escuela Académico profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.

25. López R, Oyarzún M, Naranjo C. Asociación entre periodontitis y enfermedad cardiovascular. *Rev Med Chile* [Internet]. 2000 [Consultado 16 Abr 2018]; 28 (11): 1-2. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0034-98872000001100018&script=sci_arttext.

26. Genco RJ, Willians RC. Enfermedad Periodontal y Salud General: Una guía para el clínico [Internet]. USA: Teri S. Siegel [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/2147750-Enfermedad-periodontal-y-salud-general-una-guia-para-el-clinico.html>.

27. Botero JE, Bedoya E. Determinantes del diagnóstico periodontal. Rev Med Chile [Internet]. 2010 [Consultado 16 Abr 2018]; 3 (2): 94. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072010000200007.

28. Caton JG, et al. Un nuevo esquema de clasificación para las enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias: Introducción y cambios clave de la clasificación de 1999 [Internet]: Nerea Robles; 2018 [Consultado 28 feb 2019]. Disponible en:

<https://misimplants.com.mx/especialistas/wp-content/uploads/sites/2/2018/07/PDF-Corregido-Un-nuevo-esquema-de-clasificaci%C3%B3n-para-las-enfermedades-y-condiciones-periodontales-y-periimplantarias-Introducci%C3%B3n-y-cambios-clave-de-la-clasificaci%C3%B3n-de-1999.pdf>.

29. Pérez LY, De Armas A, Fuentes E, Rosell F, Urrutia D. Prevalencia de enfermedad periodontal y factores de riesgo asociados. Policlínico Pedro Borrás, Pinar del Río. Rev Med Chile [Internet]. 2011 [Consultado 16 Abr 2018]; 15 (2): 53-64. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942011000200006.

30. Flores EE. Clasificación y características de las gingivitis y periodontitis. [Diapositivas en internet]. 2014. 52 diapositivas. Disponible en: <https://es.slideshare.net/ElsyFopa/clasificacion-y-caracteristicas-de-las-enfermedades-periodontales>.

31. Hine A, Abdelnour A. Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L). *Tecnol. Marcha* [Internet]. 2013 [Consultado 16 Abr 2018]; 26 (4): 1-8. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835416.pdf>.

32. Empresa sierra y selva exportadora. Arándano azul [Internet]. Perú: Ministerio de Agricultura y Riego; 2017 [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.sierraexportadora.gob.pe/wp-content/uploads/2017/01/ficha-arandanos-final.pdf>.

33. Vargas N, Sibaja L. Actividad antimicrobiana del arándano (*vaccinium macrocarpon*). *Rev Med Cos Cen* [Internet]. 2013 [Consultado 16 Abr 2018]; LXX (605): 9-12. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc131c.pdf>.

34. Ormazábal FA. Capacidad antioxidante de extractos secos provenientes de berries: Maqui (*Aristoteliachilensis*), murtila (*Ugnimolinae*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*). [Tesis doctoral]. Santiago de Chile: Universidad de Chile Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica Laboratorio de Farmacología y Toxicología; 2014.

35. Vázquez S, Guillén R, Jaramillo S, Jiménez A, Rodríguez R. Funcionalidad de distintas variedades de arándanos. CSIC [Internet]. 2012 [Consultado 16 Abr 2018]: 1-11. Disponible en:

<https://previa.uclm.es/area/cta/cesia2012/cd/PDFs/4-BIO/BIO-P25T.pdf>.

36. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. *Vaccinium corymbosum* [Internet]. Buenos Aires Argentina [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/vaccinium-corymbosum>.

37. Stolonifer S. Dictionary of botanical epithets. [Internet]. USA; 1996 [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en:

<http://www.winternet.com/~chuckg/dictionary/dictionary.171.html>.

38. Ferrús J. ¿Qué es la clorhexidina y para que se usa?. [Internet]. Madrid España: MITV – Spain; 04 mayo 2016 [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.clinicaferrusbratos.com/implantes-dentales/que-es-la-clorhexidina-y-para-que-se-usa/>.

39. Instituto Químico Biológico. Vademécum Clorhexidina [Internet]. Argentina: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica; 21 de agosto de 2013 [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en:

<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c090.htm>.

40. Calvo X. La Clorhexidina: una gran aliada para la consulta dental. *Dentaid* [Internet] 2008 [Consultado 16 Abr 2018]; 15 (8): 1-24. Disponible en: http://www.dentaid.com/uploads/resources/3_01122014105238_Dentaid_Expertise_15.pdf.

41. Surhone LM, Tennoe MT, Henssonow SF. Prevotella Intermedia [Internet]. Casa del libro: Lambert M Surhone, Mariam T Tennoe, Susan F Henssonow; 2011 [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en:

https://books.google.com.pe/books/about/Prevotella_Intermedia.html?id=qiNcmQEACAAJ&redir_esc=y.

42. Cabrera MY. Estudio microbiológico de la bacteria Prevotella. Intermedia en el surco gingival de gestantes con diferentes grados de placa bacteriana-Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé. [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de ciencias de la salud Escuela Académico profesional de odontología; 2004.

43. Poeta J. Bacilos gram negativos. [Diapositivas en internet]: Academia educativa. 59 diapositivas. Disponible en:

https://www.academia.edu/14992858/Bacilos_gram_negativos.

44. Instituto de Salud Pública de Chile. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar [Internet]. Chile: Ministerio de Salud de Chile [Consultado 16 Abr 2018]. Disponible en: http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/man_suscep.pdf.

45. Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de kirby-bauer. Biomédica [Internet]. 1984 [Consultado 16 Abr 2018]; 4 (3 y 4) 1-10. Disponible en:

<https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/viewFile/1891/1917>.

46. Corrales LC, Antolinez DM, Bohórquez JA, Corredor AM. Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. Rev Med Chile [Internet]. 2015 [Consultado 03 Jun 2018]; 13 (23): 55-81. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>.
47. Morán A. Aminoácidos, péptidos y proteínas [Internet]. 01 de marzo de 2016 [Consultado 07 Sep 2018]. Disponible en: <http://www.dciencia.es/aminoacidos-peptidos-y-proteinas/>.
48. Bodegas Comenge. ¿Qué son los taminos y los antocianos? [Internet]. España; 08 de Junio de 2015 [Consultado 07 Sep 2018]. Disponible en: <https://www.comenge.com/blog/enologia/taninos-y-antocianos.html>.
49. Instituto Químico Biológico. Proantocianidinas [Internet]. [Consultado 07 Sep 2018]. Disponible en: <http://www.iqb.es/monografia/fichas/proantocianina.htm>.
50. Martínez S, González J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp [Internet]. 2002 [Consultado 07 Sep 2018]; XVII (6): 271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>.
51. Cárdenas ME, Cruz OR, Gándara JL, Pérez MA. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. Buap [Internet]. 2014 [Consultado 07 Sep 2018]; 94 (2014): 35-43. Disponible en: <https://elementos.buap.mx/num94/pdf/35.pdf>.

52. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A. Velázquez. Farmacología básica y clínica. 18ava edición: Editorial médica Panamericana; 2009.

53. Custodio JA. Microbiología y parasitología. Susceptibilidad microbiana. [Internet]. Perú: Universidad Católica Santo Torivio de Mogrovejo; 2009 [Consultado 03 Jun 2018]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/jcustodio91/guia-vi>.

54. Águila A. Antibiograma. ¿Qué es? Y ¿Cómo interpretarlo? [Internet]. Panamá: Facultad de Medicina. Universidad de Panamá; 01 de agosto del 2016 [Consultado 03 Jun 2018]. Disponible en: <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2016/11/Antibiograma.pdf>.

55. Quistyan H. Microbiología. Halos de inhibición [Internet]; 30 de Octubre de 2014 [Consultado 2 Marzo 2019]. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/halos-de-inhibicion.html>.

56. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación [Internet]. Free libros: Jesús Mares Chacón; 2010 [Consultado 06 Ago 2018]. Disponible en:

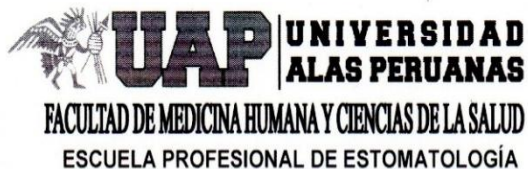
https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20Ia%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf.

57. Hernández JM, García L. Metodología en investigación clínica. Tipos de estudio. [Internet]. [Consultado 06 Ago 2018]. Disponible en: <http://fournier.facmed.unam.mx/deptos/seciss/images/investigacion/22.pdf>.

58. Collazos R. Antibiograma. [Diapositivas en internet]. Lima; 2010. 16 diapositivas. Disponible en: <https://es.slideshare.net/Prymer/antibiograma-3625685>.
59. Ochoa C. Muestreo probabilístico o no probabilístico. [Internet]. México: Netquest; 27 de Febrero 2015 [Consultado 06 Ago 2018]. Disponible en: <https://www.netquest.com/blog/es/blog/es/muestreo-probabilistico-o-no-probabilistico-ii>.
60. Sacsquispe RE, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Perú: Ministerio de Salud del Perú Instituto nacional de salud Organismo Público descentralizado de sector Salud; 2002 [Consultado 20 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>.

ANEXOS

Anexo N° 01: Carta de presentación



Pueblo Libre, 02 de octubre de 2018

Dra. CARMEN LUISA AQUIJE DAPOZZO
Jefa De Laboratorio de la UAP

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle al Bachiller **AVILA SOTO, ALEXANDER JAVIER**, con código **2008157942**, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud - Universidad Alas Peruanas, quien necesita recabar información en el área que usted dirige para el desarrollo del trabajo de investigación (tesis).

TÍTULO: "EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL VACCINIUM CORYMBOSUM SOBRE LA PREVOTELLA INTERMEDIA (ATCC® 25611)"

A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

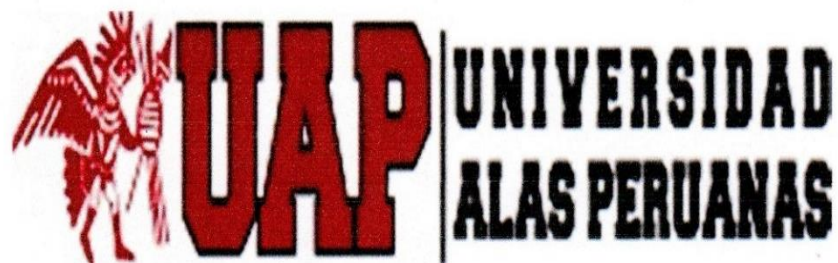
Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde al presente.

Atentamente,

UAP UNIVERSIDAD
ALAS PERUANAS
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
Dra. MIRIAM DEL ROSARIO VÁSQUEZ SEGURA
DIRECTORA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



Anexo N° 02: Constancia de desarrollo de la investigación



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

La que suscribe Mg. Carmen Aquije Dapozzo. Jefa del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, certifica que el Sr. Alexander Javier Avila Soto Bachiller de la Carrera Profesional de Estomatología, realizó la parte experimental de su trabajo de investigación titulado "EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL VACCINIUM CORYMBOSUM SOBRE LA PLEVOTELLA INTERMEDIA (ATCC® 25611)" en las instalaciones de nuestro laboratorio desde el 17 de Noviembre al 07 de Diciembre del 2018.

Se expide la presente certificación para los fines pertinentes.

Atentamente


.....
MG. BLGO. CARMEN AQUJE DAPOZZO
JEFA DEL LABORATORIO CENTRAL
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIA DE LA SALUD

Anexo N° 03: Ficha de recolección de datos



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

FICHA MICROBIOLÓGICA PARA GRUPO EXPERIMENTAL CON EXTRACTO ETANÓLICO DE VACCINIUM CORYMBOSUM AL 25%, 50%, 75%, 100% Y GRUPO CONTROL CON APLICACIÓN DE CLORHEXIDINA AL 0.12%

ANTIBACTERIANO Y MUESTRAS	CONTENIDO DE DISCO	DIÁMETRO EN mm DE HALOS DE INHIBICIÓN		
		R	I	S

Fuente: Sacsquispe RE, Velásquez J.⁶⁰

Anexo N° 04: Matriz de consistencia



TÍTULO: EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL VACCINIUM CORYMBOSUM SOBRE LA PREVOTELLA INTERMEDIA (ATCC® 25611)

PROBLEMAS DE LA INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLES DE ESTUDIO	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
<p>Problema Principal - ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum sobre la Prevotella Intermedia?</p> <p>Problemas Derivados - ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 25% sobre la Prevotella</p>	<p>Objetivo General - Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum sobre la Prevotella Intermedia.</p> <p>Objetivos Específicos - Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 25% sobre la Prevotella</p>	<p>Hipótesis Principal - El Vaccinium Corymbosum tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la Prevotella Intermedia.</p> <p>Hipótesis Derivadas - El Vaccinium Corymbosum al 25% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p>	<p>Variable Dependiente: Prevotella Intermedia.</p> <p>Variable Independiente: Efecto antibacteriano del Vaccinium Corymbosum.</p>	<p>Diseño de Investigación: Experimental.</p> <p>Tipo de investigación: Prospectivo in vitro longitudinal.</p> <p>Nivel de Investigación: Cuantitativo.</p> <p>Población y Muestra: Población: Prevotella Intermedia: Bacteria Anaerobia estricta</p>

<p>Intermedia a las 12, 18 y 24 horas?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 50% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 75% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 100% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas?</p>	<p>Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p> <p>- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 50% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p> <p>- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 75% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p> <p>- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del Vaccinium Corymbosum al 100% sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p>	<p>- El Vaccinium Corymbosum al 50% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p> <p>- El Vaccinium Corymbosum al 75% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p> <p>- El Vaccinium Corymbosum al 100% tiene efecto antibacteriano in vitro sobre la Prevotella Intermedia a las 12, 18 y 24 horas.</p>		<p>gram negativa prevalente en enfermedad periodontal.</p> <p>Muestra: n = 60 casos; divididos en 5 grupos: 4 experimental de Vaccinium Corymbosum al 25%, 50%, 75%, 100% y 1 control con Clorhexidina al 0.12%. Se utilizó 3 placas Petri por cada grupo; 4 grupos experimentales de 4 discos por placa en cada concentración y 4 discos por placa en 1 grupo control. 5*3=15 muestra en placas por un total de grupo experimental y control. 5 grupos a examinar. 15*4 = 60 muestras a examinar</p> <p>Técnica de muestreo: Aleatoria.</p> <p>Tipo de muestreo: Probabilístico.</p> <p>Unidad de análisis:</p>
---	---	---	--	--

				<p>Cepa bacteriana anaerobia estricta gram negativa (ATCC® 25611): Prevotella Intermedia.</p> <p>Técnica de recolección de datos:</p> <p>Técnica de observación directa para poder determinar a distintas horas por parte del investigador e asesor en el Laboratorio Microbiológico de la Universidad Alas Peruanas el efecto antibacteriano in vitro en grupo experimental con extracto etanólico de Vaccinium Corymbosum al 25%, 50%, 75% y 100% y grupo control de Clorhexidina al 0.12% sobre la Prevotella Intermedia en las respectivas placas Petri.</p> <p>Ficha de recolección de datos:</p> <p>Ficha microbiológica para grupo experimental y control.</p>
--	--	--	--	---

Anexo N° 05: Certificado de taxonomía de *Vaccinium Corymbosum*



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 372-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama fértil con fruto), recibida del **bachiller Alexander Javier Avila Soto**; de la Facultad de Estomatología, Universidad Alas Peruanas; ha sido estudiada y clasificada como ***Vaccinium corymbosum* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: ERICALES

FAMILIA: ERICACEAE

GENERO: *Vaccinium*

ESPECIE: *Vaccinium corymbosum* L.

Nombre común: "Arándano azul"

Determinada por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente

Lima, 12 de octubre de 2018




Mg. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/dcb

Anexo N° 06: Certificado de marcha fitoquímica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00486-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 05113/2018
SOLICITADO POR : ALEXANDER JAVIER AVILA SOTO
MUESTRA : ARÁNDANOS
NÚMERO DE LOTE : -----
CANTIDAD : 06 tapers a 03 kilos
FECHA DE RECEPCIÓN : 15 de Octubre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : -----
FECHA DE VENCIMIENTO : -----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba Cualitativa	Cualitativo	+
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	-
	Reacción de Mayer	Cualitativo	-
	Reacción de Wagner	Cualitativo	-
LACIONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	++
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	-
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	+
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	+
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann Burchard	Cualitativo	-
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	++
AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	Cualitativo	+++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann Burchard	Cualitativo	-
FENOLES	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	+++
EXTRACCIÓN ETANÓLICA	---	---	CONFORME

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certificación





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



Leyenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- +
- : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 06 de Noviembre del 2018


.....
Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ☒ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



**Anexo N° 07: Certificado de elaboración de extracto etanólico de Vaccinium
Corymbosum a concentraciones**



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00491-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 05113/2018
SOLICITADO POR : ALEXANDER JAVIER AVILA SOTO
MUESTRA : ARÁNDANOS
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 06 lupets x 03 kilos
FECHA DE RECEPCIÓN : 15 de Octubre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

DILUSIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
100%	---	Conforme
75%	---	Conforme
50%	---	Conforme
25%	---	Conforme

Lima, 06 de Noviembre del 2018

Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



Anexo N° 08: Certificación de cepa bacteriana



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Prevotella intermedia</i> Catalog Number: U1187 Lot Number: 1187-14** Reference Number: ATCC® 25011™ Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/6/30 Release Information: Quality Control Technologist: Keshia L Negan Release Date: 2018/8/1
--	--

Performance	
Macroscopic Features: Small, circular, entire edges curved, black in color, beta hemoysis Microscopic Features: Gram: negative short fat rods	Medium: MR SBAP Method: Gram Stain (+)

ID System: MALDI-TOF (+)
 See attached ID System results document.

Amanda Kuperus
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

**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 case lot number.

Note for Users: Although the Vitrol® 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 safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Logo, Service Emblem, the ATCC Licensed Distributor word mark and the ATCC labels, marks and trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC's cultures.

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

Anexo N° 09: Certificación del Agar Schaedler

ANEXO N° 5: CERTIFICACIÓN DEL AGAR SCHAEDLER

HIMEDIA Certified: ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 and WHO GMP

Himedia Laboratories Private Limited
 27, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400066
 Website: www.himedialabs.com, Email: info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : 1021	Material Name : Schaedler Agar	Lot No : 08624738
Report No. : 04890000431	Date of Report : 02.11.2015	Expiry Date : 02-2019

Appearance
 Color: is yellow, homogeneous, free from agglomerates. Observed: Light yellow

Setting
 Fine, comparable with 1.5% Agarose

Colour and Clarity of prepared medium
 Light and colorless. Has a slightly granular performance in Petri plates.

Reaction
 Reaction at 48°C with apparent inhibition at 27°C.

pH
 pH Range: 7.4-7.6. Observed: 7.5

Cultural Response
 Cultural characteristics observed after incubation at 35-37°C for 16-48 hours under aerobic conditions.

Strain	Incubation (24h)	Reaction	Reaction
Cultural Response			
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	24-36	Robust	>>>95%
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 29518	24-36	Robust	>>>95%
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 29424	24-36	Robust	>>>95%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	24-36	Robust	>>>95%
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 5194	24-36	Robust	>>>95%

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
 NCIC and Reference Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency.

Directly Used:
 For Staphylococci: Staphylococcus Control Agar / Coagulase Staphylococcus Agar (used with 2% w/v Staphylococcus Inoculum)
 For Yeast & Mold: Sabouraud Dextrose Agar.

All ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 & WHO GMP control checks are included in the Quality assurance.
 Himedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 and WHO GMP.

Information for BSE/TSE: The material was subjected to pH 11.7.8 and at temperature in excess of 133°C for more than 2 hours during the manufacturing process. This source raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed species establishment. The animals are inspected under a Government veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalitis) and TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific rhesus material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications. The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particular use, other than that specified in the current Himedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid.

Microbiologist/Analyst: [Signature]
 Dy. QC/Dy. QA Manager: [Signature]
 Quality Assurance Manager: [Signature]

02.11.2015

HIMEDIA Certified: ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 and WHO GMP

Himedia Laboratories Private Limited
 27, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400066
 Website: www.himedialabs.com, Email: info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : 1021	Material Name : Schaedler Agar	Lot No : 08624738
Report No. : 04890000431	Date of Report : 02.11.2015	Expiry Date : 02-2019

Appearance
 Color: is yellow, homogeneous, free from agglomerates. Observed: Light yellow

Setting
 Fine, comparable with 1.5% Agarose

Colour and Clarity of prepared medium
 Light and colorless. Has a slightly granular performance in Petri plates.

Reaction
 Reaction at 48°C with apparent inhibition at 27°C.

pH
 pH Range: 7.4-7.6. Observed: 7.5

Cultural Response
 Cultural characteristics observed after incubation at 35-37°C for 16-48 hours under aerobic conditions.

Strain	Incubation (24h)	Reaction	Reaction
Cultural Response			
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	24-36	Robust	>>>95%
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 29518	24-36	Robust	>>>95%
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 29424	24-36	Robust	>>>95%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	24-36	Robust	>>>95%
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 5194	24-36	Robust	>>>95%

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
 NCIC and Reference Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency.

Directly Used:
 For Staphylococci: Staphylococcus Control Agar / Coagulase Staphylococcus Agar (used with 2% w/v Staphylococcus Inoculum)
 For Yeast & Mold: Sabouraud Dextrose Agar.

All ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 & WHO GMP control checks are included in the Quality assurance.
 Himedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 and WHO GMP.

Information for BSE/TSE: The material was subjected to pH 11.7.8 and at temperature in excess of 133°C for more than 2 hours during the manufacturing process. This source raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed species establishment. The animals are inspected under a Government veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalitis) and TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific rhesus material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications. The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particular use, other than that specified in the current Himedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid.

Microbiologist/Analyst: [Signature]
 Dy. QC/Dy. QA Manager: [Signature]
 Quality Assurance Manager: [Signature]

02.11.2015

Anexo N° 10: Certificación de sangre de oveja desfibrinada estéril



Investigar para Proteger la Salud

PROTOCOLO DE SANGRE DE OVINO DESFIBRINADA CONTROLADA

FECHA: 16/11/2018
PROTOCOLO DE ANALISIS N° 045-161118

Fecha de Extracción : 13/11/2018
Fecha de Vencimiento: 23/11/2018
Cantidad : 700 mL
Presentación: Frasco de Polipropileno por 50 mL.

CONSTANCIA: La Coordinación del Laboratorio de Vacunas Bacterianas deja constancia que el producto denominado "Sangre Controlada Desfibrinada" cumple con el Ensayo de Control de Contaminantes Microbianos, cuyo resultado a las 72 horas de sus controles está Libre de Contaminantes, dando la conformidad del mismo el que suscribe.

LABORATORIO VACUNAS BACTERIANAS
CENTRO NACIONAL DE
PRODUCTOS BIOLÓGICOS

Fecha	Descripción	CONTAMINANTES MICROBIANOS	RESULTADO
16-11-2018	LOTE N°: SOD - 239-131118-002 LOTE N°: SOD - 240-131118-003 LOTE N°: SOD - 241-131118-005	NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO	CONFORME CONFORME CONFORME

V°B° Coordinación de Vacunas Bacterianas

NOTA.- El presente Protocolo de Análisis certifica la calidad de los lotes arriba mencionados y es de uso exclusivo para clientes del INS.


M. V. Jorge Ruiz Alarcón
Coordinación de Laboratorio de Vacunas Bacterianas
DEPV-CNPB/INS

Handwritten notes:
700 ml
16-11-18

Advertencia: El Laboratorio recomienda al cliente sobre el correcto transporte del producto y que se debe de considerar la cadena de frío y evitar movimientos bruscos ya que puede generar hemólisis y posible contaminación. Usar el contenido total de los frascos una vez abierto.

Recomendaciones:

T° de almacenamiento: 2° a 8° C

T° de transporte: 4° a 8° C.

Posición Correcta de Transporte: Posición Vertical.

Se recomienda mantener las condiciones asepticas durante la manipulación para evitar la contaminación del producto.



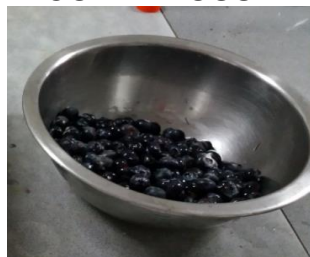
Anexo N° 11: Fotografías

OBTENCIÓN DEL VACCINIUM CORYMBOSUM



Se obtuvo el fruto de la Provincia de Cañete; frutos que venden los habitantes de la zona.

LAVADO DEL VACCINIUM CORYMBOSUM



Se procedió a lavar el fruto con agua destilada para proceder a realizar el extracto etanólico a concentraciones.

TRITURACIÓN DEL FRUTO



Se procedió a realizarla para obtener una mayor extracción de los 2500 gr con ayuda de un mortero y pilón.

MEDICIÓN DEL ALCOHOL DE 96° Y PARTE DEL PROCEDIMIENTO



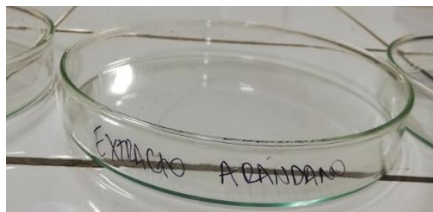
Se midió 1250ml de alcohol de 96°, se mezcló con la extracción del Vaccinium Corymbosum, se colocó en frascos ámbar por 5 días.

FILTRACIÓN DEL FRUTO VACCINIUM CORYMBOSUM



Pasados los 5 días se procede a realizar filtración por bomba al vacío.

EXTENCIÓN DE LA MUESTRA



Se vierte en platos de secado para concentración de la misma en estufa a 40 °C por 4 días para dilución de las mismas.

DISPENSADO DEL EXTRACTO ETANÓLICO



Se realizó el procedimiento de pipeteado en cada vial ámbar colocando el debido extracto en su respectiva concentración.

OBTENCIÓN DE TODAS LAS CONCENTRACIONES



Se obtuvieron las concentraciones de extracto etanólico al 25%, 50%, 75% y 100%.

PREPARACIÓN DE MESA DE TRABAJO



Se preparó la mesa de trabajo para elaboración de medios de cultivo de agar Schaedler.

PROCEDIMIENTO DE PESADO DE AGAR SCHAEDLER



Se colocó papel platino en la balanza analítica a precisión procediendo a pesar el respectivo medio obteniendo la cantidad necesaria para activación de la respectiva cepa bacteriana.

COLOCACIÓN DEL AGAR SCHAEDLER EN EL MATRAZ



Con ayuda de un papel platino se colocó el agar Schaedler doblando el respectivo papel en la entrada de la boca del matraz.

DISPENSADO Y COLOCACIÓN DEL AGUA DESTILADA



Se añadió el agua destilada al medio de cultivo para disolverlo en su totalidad realizando movimientos de agitación al matraz.

EBULLICIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO



Se calienta el medio contenido en el matraz en un trípode hasta alcanzar la respectiva ebullición.

SELLADO DE LA BOCA DEL MATRAZ



Se colocó algodón en la boca del matraz para posteriormente forrarla con papel craft y sellar con cinta testigo.

ESTERILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO



Una vez colocado el matraz con el medio de cultivo en la autoclave se esteriliza a 121 libras por 15 minutos.

RETIRO DEL MEDIO DE CULTIVO DEL AUTOCLAVE



Se retira el medio con el matraz y se deja que enfríe a temperatura ambiente.

ADICIÓN DE SANGRE DE OVEJA DESFIBRINADA ESTÉRIL



Con ayuda de una pipeta graduada se toma la sangre de oveja desfibrinada estéril, se retira el algodón del matraz y se añade la sangre al medio de cultivo Schaedler procediendo a agitarlo posteriormente.

PROCEDIMIENTO DE PLAQUEO DEL MEDIO DE CULTIVO



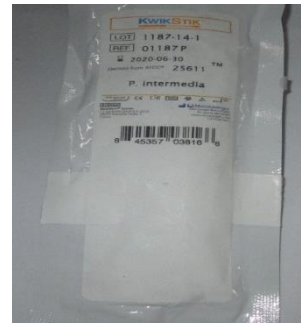
Se colocó el medio de cultivo en las respectivas placas Petri, calentando previamente la boca del matraz con ayuda de la flama de un mechero, luego se espera que solidifique el respectivo medio de cultivo.

ACONDICIONAMIENTO DEL ÁREA PARA ACTIVACIÓN BACTERIANA



Se creó un medio de anaerobiosis con ayuda de papel craft, cinta masking tape, guante y mecheros para activación de cepa bacteriana *Prevotella Intermedia* ATCCR 25611.

PRESENTACIÓN DE CEPA BACTERIANA ATCCR 25611



La cepa bacteriana *Prevotella Intermedia* se encuentra contenida en su respectivo envase Kwik Stik manteniéndola previamente en condiciones de temperatura de 2 a 8 °C.

ACTIVACIÓN DE CEPA BACTERIANA PREVOTELLA INTERMEDIA ATCCR 25611



Se retira de su empaque, procediendo a presionar la parte superior del envase para liberar el líquido hidratante y que fluya por el hisopo hasta llegar al gránulo de la bacteria que se encuentra en la parte inferior, posteriormente se retira todo el hisopo y se hacen movimiento de hisopado lineales y de 60° en todos las placas Petri.

MEDIO DE NAEROBIOSIS PARA CRECIMIENTO BACTERIANO



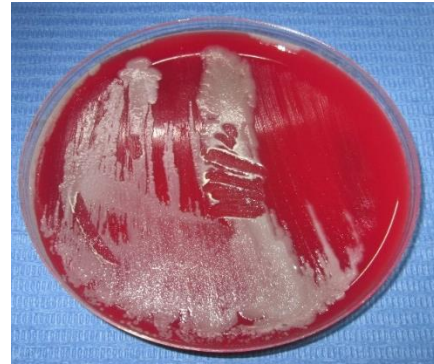
Se colocaron todas las placas Petri ya con la respectiva cepa en el medio en una lata metálica, donde se colocó en su interior velas para posteriormente sellar con cinta todos los bordes, crear medio de anaerobiosis y posteriormente incubar los medios a 37 °C por 5 días.

TIEMPO DE INCUBACIÓN CUMPLIDA



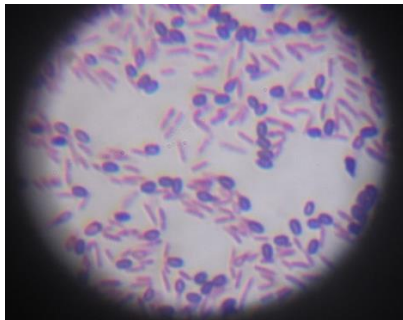
Se procedió a retirar de la incubadora la lata conteniendo los medios de la cepa activada.

MUESTRA OBTENIDA DESPUÉS DEL TIEMPO APROPIADO



Se verificó el crecimiento bacteriano.

TINCIÓN GRAM DE LA BACTERIA PREVOTELLA INTERMEDIA



Se identificó la bacteria por la presencia de bacilos gram negativos.

REPLICACIÓN DE LA BACTERIA PREVOTELLA INTERMEDIA



Se procede a transferir la bacteria Prevotella Intermedia en otros medios de cultivo de agar Schaedler más sangre de oveja desfibrinada estéril siendo estos preparados anteriormente.

INCUBACIÓN DE LOS MEDIOS REPLICADOS



Se vuelve a incubar los medios a 37 °C igual por 5 días.

REPLICACIÓN DE LOS MEDIOS



Se volvió a evidenciar crecimiento bacteriano.

PREPARACIÓN DE ESCALA DE MC FARLAND DE 0.5



Se realiza la respectiva escala con ayuda de cubetas de cuarzo y tubos de ensayo con suero fisiológico, viendo el grado de turbidez.

ESPECTOFOTÓMETRO



Me permitió ver el grado de turbidez de 0.5 y la absorbancia de 0.08 al mismo tiempo de cuanto grado de colonias se trasfiere a los medios.

INICIO DEL ANTIBIOGRAMA



Se procedió a transferir la bacteria *Prevotella Intermedia* de acuerdo a la escala de Mc Farland a las respectivas 15 placas Petri que contienen agar Müller Hinton.

COLOCACIÓN DE DISCOS SEGÚN MÉTODO DE KIRBY BAUER



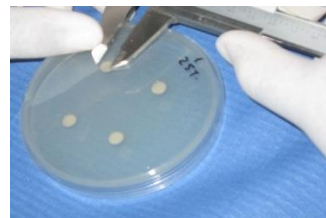
Se colocaron discos embebidos de sustancias experimental y control en cada grupo de concentración conformado por 3 placas Petri.

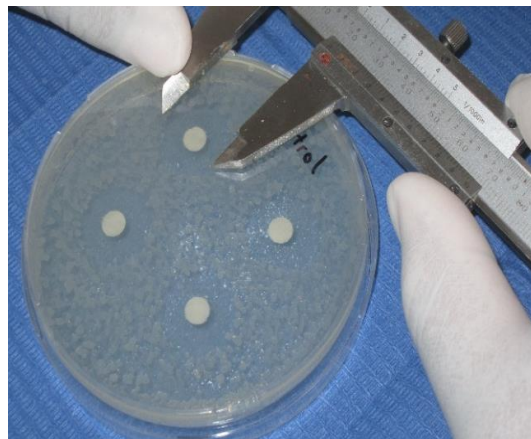
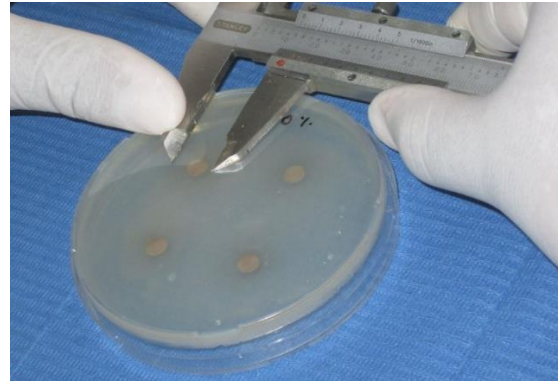
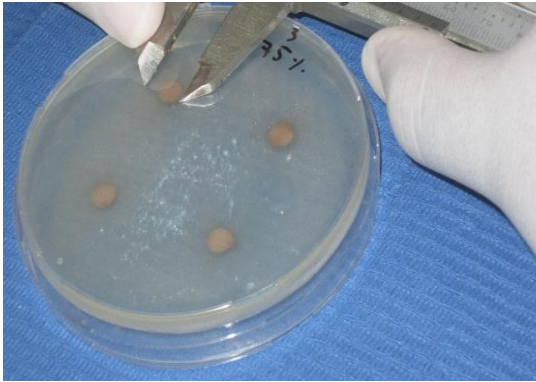
INCUBACIÓN DE MEDIOS POR MÉTODO DE KIRBY BAUER



Se procede a incubar las placas Petri en otra lata metálica a 37 °C conteniendo también en su interior velas encendidas para generar anaerobiosis, y se procede a retirarla después de 12, 18 y 24 horas para lecturas respectivas.

FORMACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DE LAS DEBIDAS CONCENTRACIONES





Una vez llegado el tiempo de lectura se mide el diámetro de inhibición de cada concentración experimental y control con ayuda de un calibrador Vernier procediendo a anotar el resultado en la ficha de recolección de datos haciendo el promedio de medida y obteniendo la respectiva media.