



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
DEL ACEITE ORGÁNICO DE COCOS NUCÍFERA SOBRE
CEPAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* (ATCC 25175)

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

BACHILLER: VILLALTA ANDIA, SHIRLEY FIORELLA

ASESOR: Mg. GAMBOA ALVARADO, ELOY

LIMA – PERÚ

2018

A mis padres por su amor incondicional, por ser mi ejemplo y guía, por enseñarme lo importante de la vida.

A Dios, por darme salud y fuerza para cumplir la misión

AGRADECIMIENTO

A mi asesor MG. Gamboa Alvarado Eloy por guiarme en la elaboración del presente estudio quien me brindo de forma desinteresada su apoyo incondicional.

RECONOCIMIENTO

A la Universidad Alas Peruanas por permitirme ser uno de sus alumnos y al laboratorio de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud que me facilitaron e hicieron un ambiente agradable de trabajo.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucífera sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Se utilizaron 20 placas petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, para determinar si existe inhibición de crecimiento bacteriano in vitro, la muestra fue de 20 discos en concentración al 50%; 20 discos en concentración al 100% de aceite orgánico de Cocos Nucífera; 20 discos de Clorhexidina al 0.12% y 20 discos de agua estéril utilizando el método de difusión de discos. El estudio fue de tipo experimental y longitudinal. Se observó que el aceite orgánico de Cocos Nucífera en concentración al 50% en 24 horas produjo una media de 16.5mm; a las 48 horas de 17.5mm y a las 72 horas de 17mm y el aceite orgánico de Cocos Nucífera en concentración al 100% produjo una media en 24 horas de 18mm, a las 48 horas de 19.10mm y a las 72 horas de 17.6mm comprobando así la efectividad del aceite orgánico de Cocos Nucífera. Concluyéndose que el aceite orgánico de Cocos Nucífera inhibe al *Streptococcus mutans* en sus diferentes concentraciones siendo una alternativa natural, segura y efectiva.

Palabras clave: Efecto antimicrobiano, *Streptococcus mutans*, Cocos Nucífera.

ABSTRACT

The present study aimed to determine the in vitro antibacterial effect of organic Cocos Nucifera oil on strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Twenty petri dishes inoculated with *Streptococcus mutans* strains that met the inclusion and exclusion criteria were used to determine if there is inhibition of bacterial growth in vitro, the sample was 20 discs in 50% concentration; 20 discs in 100% concentration of organic Cocos Nucifera oil; 20 discs of Chlorhexidine 0.12% and 20 discs of sterile water using the method of diffusion of discs. The study was experimental, prospective and longitudinal. It was observed that Cocos Nucifera organic oil in 50% concentration in 24 hours produced an average of 16.5mm; at 48 hours of 17.5mm and at 72 hours of 17mm and Cocos Nucifera organic oil in 100% concentration produced an average in 24 hours of 18mm, at 48 hours of 19.10mm and at 72 hours of 17.6mm thus checking the effectiveness of organic Cocos Nucifera oil. Concluding that the organic oil of Cocos Nucifera inhibits *Streptococcus mutans* in its different concentrations being a natural, safe and effective alternative.

Key words: Antimicrobial effect, *Streptococcus mutans*, Cocos Nucifera.

ÍNDICE

Pág.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

INTRODUCCIÓN

11

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática 12

1.2 Formulación del problema 14

1.3 Objetivos de la investigación 15

1.4 Justificación de la investigación 15

1.4.1 Importancia de la investigación 16

1.4.2 Viabilidad de la investigación 17

1.5 Limitaciones del estudio 17

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación 18

2.2 Bases teóricas 28

2.3 Definición de términos básicos 34

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Formulación de la hipótesis principal y derivadas 37

3.2 Variables, dimensiones e indicadores y definición 38

Conceptual y operacional

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Diseño metodológico	39
4.2 Diseño muestral	39
4.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	40
4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información	44
4.5 Aspectos éticos	45

CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1 Análisis descriptivo y análisis inferencial	46
5.2 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas	55
5.3 Discusión	58

CONCLUSIONES 61

RECOMENDACIONES 62

FUENTES DE INFORMACIÓN 63

ANEXOS

- Anexo 1: Carta de presentación (emitido por la escuela)
- Anexo 2: Constancia de desarrollo de la investigación
- Anexo 3: Certificado de determinación taxonómica
- Anexo 4: Certificado de aceite orgánico de Cocos Nucifera
- Anexo 5: Certificado de cepas
- Anexo 6: Instrumento de recolección de datos
- Anexo 7: Matriz de consistencia
- Anexo 8: Fotografías

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucífera al 50% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> en 24, 48 y 72 horas	46
Tabla N° 2: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucífera al 100% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> en 24, 48 y 72 horas	49
Tabla N° 3: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano de la Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> en 24, 48 y 72horas	52
Tabla N° 4: Comprobación de resultados para halo de inhibición sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucífera al 50% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> .	55
Tabla N° 5: Comprobación de resultados para halo de inhibición sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucífera al 100% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> .	56
Tabla N° 6: Comprobación de resultados para halo de inhibición sobre el efecto antibacteriano in vitro del grupo control sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> .	57

ÍNDICE DE GRAFICOS

	pág.
Gráfico N° 1: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% sobre la cepa de Streptococcus mutans en 24, 48 y 72 horas	48
Gráfico N° 2: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre la cepa de Streptococcus mutans en 24, 48 y 72 horas	51
Gráfico N° 3: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro de la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de Streptococcus mutans, en 24 ,48 y 72 horas	54

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral presenta una amplia gamma en la diversidad de microorganismos etiológicos de diferentes patologías como el padecimiento de caries dental, gingivitis y periodontitis; a pesar de que existe varios fundamentos científicos en los cuales demuestran que la higienización de manera mecánica oral es óptima para la prevención de dichas enfermedades se debe tomar en cuenta que los agentes químicos son complementos trascendentales a la hora de realizar la higiene bucal ya que benefician a disminuir el desarrollo de placa bacteriana, la inflamación gingival y mejorar la salud dental y periodontal. En el mercado peruano existen varios agentes antimicrobianos como es el caso tradicional de la clorhexidina que tiene un alto poder inhibitorio sobre las bacterias orales, pero posee también efectos secundarios ya que si se utiliza más de 20 días produce manchas extrínsecas en los dientes, disgeusia entre otros. Es por ello que se ve la necesidad de buscar sustancias que no alteren y sean nocivas para la cavidad oral agentes antimicrobianos de origen natural que no producen efectos secundarios y que ayuda a reestablecer la salud oral con sus principios activos, pretendiendo implementar como alternativa para inhibir el desarrollo y crecimiento de estos patógenos. Se han desarrollado varias investigaciones demostrando las bondades del aceite de Coco sobre el *Streptococcus mutans* una de ellas es la publicada en la Revista de Práctica Dental Contemporánea 2016 realizado por Kaushik y colaboradores donde obtuvieron como resultado una reducción estadísticamente significativa en el recuento de *Streptococcus mutans*.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Actualmente a nivel mundial la salud bucal ha tomado un papel muy importante para el ser humano ya que si hablamos de una buena salud bucal también nos referimos a salud y bienestar general en todas las etapas de nuestras vidas. ^{1,2}

Hoy en día tener una boca sana ayuda a las personas a tener una mejor nutrición alimentaria sin olvidar que también favorece a una interacción social más activa por que eleva la autoestima y la confianza, logrando que los seres humanos tengan una mejor calidad de vida. ^{1,2}

En el onceavo congreso mundial IADR207 sobre odontología preventiva en Nueva Delhi el Dr. Thaksaphon Thamarangsi (Director del departamento de ENT) hizo hincapié en la importancia de promover la salud oral mediante el control de los factores de riesgo comunes para las ENT. Dentro de las enfermedades no transmisibles se encuentra liderando la caries dental que es una enfermedad más extendida a nivel público mundial. ³

En el Perú, el Minsa afirma que el 85% de niños menores de 11 años tiene caries dental por mala higiene dental, siendo la cifra alarmante ya que al tener la dificultad de una buena higiene bucal como prevención de crecimiento de microorganismos que afectan a los dientes, este se convierte en un problema de salud pública. ⁴

La caries dental es un proceso de desmineralización provocado por los ácidos que segregan varios microorganismos de la placa bacteriana que se incluye en

su patogénesis de la caries dental (*Streptococcus* del grupo *mutans*, *lactobacillus spp* y *actinomyces spp*) dentro de los cuales el *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a ella.^{5, 6, 7}

Se ha detectado al *Streptococcus mutans* como el agente principal de la caries y los esfuerzos por combatirlo concluyen en aislar este agente patológico buscando su inhibición con productos antibacterianos que impidan su proliferación y crecimiento.^{5, 6, 7}

Uno de estos productos por excelencia es el gluconato de clorhexidina que es el antiséptico oral más utilizado hoy en día pero que por sus altos costos y toxicidad no está al alcance de muchas personas.⁵

Buscando la manera de reducir al *Streptococcus mutans* se ha encontrado productos naturales como el aceite de coco que no es tóxico y no emplea terapias invasivas, antiguamente la utilización de productos naturales con fines terapéuticos durante mucho tiempo fue el principal recurso que disponían los médicos, en China y la India se habla de la medicina ayurvédica.^{1, 5, 8}

La medicina ayurvédica no es más que un tipo de tratamiento de medicina complementaria y alternativa originario de la India usada durante miles de años, utilizando hierbas medicinales aparte de otros métodos, su meta es limpiar y curar el organismo sin elementos químicos de por medio.⁹

Un estudio publicado por la Revista Médica de Nigeria con título “efecto del aceite de coco en la gingivitis relacionada con la placa” demuestra que los pacientes intervenidos experimentaron cambios significativos arrojando resultados favorables demostrando que los índices de placa bacteriana se vieron disminuidos de forma notable.¹⁰

Por otro lado, la investigación de Kaushik M.*et al* (9) publicado en la Revista de Práctica Dental Contemporánea titulado “El efecto del aceite de coco sobre el recuento de *Streptococcus mutans* en la saliva en comparación con el enjuague bucal de clorhexidina al 0.12%” evidenció en los pacientes una reducción estadísticamente significativa demostrando que el aceite de coco es una alternativa efectiva y natural.⁸

Muchas son las investigaciones in vitro como in vivo que han demostrado que el aceite de coco tiene una acción antibacteriana e antiinflamatoria, su componente el ácido láurico que es una sustancia capaz de matar patógenos como virus, bacterias e incluso hongos.^{5,10,11}

El propósito de esta investigación es determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera L. (cocos) en sus dos concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

1.2 Formulación del problema

Problema principal

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

Problemas secundarios

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del grupo control sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?

1.3 Objetivos de la investigación

Objetivo general:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico Cocos Nucifera al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.
- Analizar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.
- Observar el efecto antibacteriano in vitro del grupo control sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas

1.4 Justificación de la investigación

El presente estudio está justificado por la necesidad de encontrar un elemento natural que puede prevenir y disminuir bacterias principales de la caries dental a bajos costos y sin contraindicaciones, pudiendo este ser utilizado posteriormente como ingrediente principal en pastas, geles o colutorios bucales.

Esta investigación brindará aporte de índole metodológico, teórico-práctico, científico, social y clínico.

Como aporte metodológico servirá como antecedentes teóricos para futuras investigaciones.^{5,6}

Esta investigación ofrece un aporte teórico-práctico ya que está sustentado con teorías y estudios prácticos actuales tanto nacionales como internacionales, por otra parte, el aporte científico de esta investigación radica en los avances actuales y la comparación de un tratamiento antibacteriano de origen natural como el aceite de coco en sus dos diferentes concentraciones.^{1, 5,6}

Desde el punto de vista social esta investigación es importante debido a que servirá a la población, ya que el conocimiento del efecto antibacteriano de Cocos Nucifera sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), permitirá su uso por su reducido costo, su baja toxicidad logrando estar al alcance de todos y tener una fuente natural frente a la caries dental.⁵

Por último brindará un aporte clínico al odontólogo proporcionando conocimientos de las propiedades del aceite orgánico de coco y poder aplicarlo en la práctica clínica como un agente antibacteriano de origen natural que pueda ser componente de alguna pasta o enjuague bucal para mejorar la salud bucal sin toxicidad y disminuyendo el costo para un bienestar general.^{1, 6}

1.4.1 Importancia de la investigación

Se realizó la investigación debido a que actualmente el consumo de productos naturales para contrarrestar enfermedades ha tomado mucha importancia por los beneficios que representa sus bajos costos, que permite que pueda estar al alcance de la población, y la mínima posibilidad de contraindicaciones, en tal sentido se trata de un campo recientemente explorado en los beneficios para la salud oral por ende el presente estudio pretende determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera L. (coco) en sus

diferentes concentraciones de 50% y 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), de esta manera demostrar que este elemento natural como es el aceite de coco con su principal ácido graso que es el ácido láurico el cual produce la inhibición de crecimiento del *Streptococcus mutans*, sea considerado en su verdadera potencialidad y pueda convertirse en un producto de generosos beneficios buscando beneficiar a la población en general¹,

1.4.2 Viabilidad de la investigación

Esta investigación es viable ya que fue autofinanciada según recursos económicos propios, contando con la información de artículos científicos (nacionales e internacionales), revistas y con los permisos de las autoridades, para realizar el procedimiento y la recolección de datos, recibiendo el apoyo del personal y equipos del laboratorio central de la Universidad Alas Peruanas.

1.5 Limitaciones del estudio

- Adquisición de la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- El tiempo de espera debido a la cantidad de alumnos que realizan investigaciones sobre microorganismos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes internacionales

Richani F. (2015) Ejecutó un estudio sobre el efecto del aceite de coco, previa a la investigación se rehidrato la cepa para su máximo crecimiento luego se pasó por tinción gram para confirmar su pureza. Estas bacterias fueron sembradas en placas Petri con agar soya posteriormente se hizo la prueba de susceptibilidad mediante técnica de difusión en disco donde se colocó discos de papel de filtro de 6mm de diámetro impregnadas de 20 microlitros de aceite de coco además se colocó un disco de amoxicilina y ácido clavulánico como control positivo y otro de 20 microlitros de agua destilada estéril como control negativo luego las placas fueron incubadas a 37°C por 24 a 48hrs y se llevó la lectura de halos de inhibición del crecimiento bacteriano. Se utilizó la prueba U de Mann Whitney no paramétrica de comparación de dos muestras independientes. Obteniendo como resultado halos de inhibición del aceite de coco entre 14 y 16 mm mientras que los halos de amoxicilina y ácido clavulánico oscilan entre 40 y 41 mm y del agua 0mm. Como se observa la medición de halos de inhibición entre los grupos fueron distintos por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se apoya la hipótesis alternativa lo cual implica que hay diferencia en cuanto al efecto ejercido sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Concluyendo que la acción amoxicilina y ácido clavulánico es más potente en inhibir el crecimiento del *Streptococcus mutans* que el aceite de coco y este puede ejercer un 38% de la acción que ejerce la

amoxicilina y ácido Clavulánico siendo positivo ya que el aceite de coco es origen natural y evita los efectos secundarios.⁵

Peedikayil F. et al (2015) Evaluaron el efecto del aceite de coco sobre la gingivitis inducida por placa. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del aceite de coco en la gingivitis inducida por placa. Se realizó un estudio intervencionista prospectivo. Se incluyeron en el estudio 60 niños y niñas adolescentes de la misma edad en el grupo de edad de 16-18 años con gingivitis inducida por placa y se incluyó el enjuague con aceite de coco en su rutina de higiene bucal. El período de estudio fue de 30 días. Los índices de placa y gingival de los sujetos se evaluaron en los días de referencia 1, 7, 15 y 30. Los puntajes del coeficiente Kappa estuvieron en el rango de 65-92. El índice gingival medio fue de 0,91 y el índice de placa fue de 1,19 al inicio del estudio. En comparación con los valores de referencia, tanto el índice gingival como el de placa se redujeron sustancialmente durante el período de evaluación. Hubo una disminución constante tanto en el índice de la placa como en los valores del índice gingival desde el día 7. La puntuación promedio del índice gingival en el día 30 se redujo a 0.401 y la puntuación del índice de la placa fue 0.385. El análisis estadístico utilizando la prueba t pareada mostró que la disminución fue estadísticamente significativa. Concluyendo en una notoria disminución estadísticamente significativa en los índices de placa y gingival desde el día 7 y las puntuaciones continuaron disminuyendo durante el período de estudio. El enjuague con aceite de coco podría ser un procedimiento adyuvante eficaz para disminuir la formación de placa y la gingivitis inducida por placa.¹⁰

Kaushik M. et al (2016) Se planificó un estudio controlado y aleatorio seleccionando 60 personas que fueron divididos en tres grupos, dos de estudio (grupo A: aceite de coco; grupo B: clorhexidina) y un grupo control (grupo C: agua destilada). El grupo A se enjuagó con 10ml de aceite de coco por 10 min; el grupo B con 5ml de clorhexidina por 1min y el grupo C con 5ml de agua destilada por 1min todos los grupos se hicieron el enjuague por las mañanas antes del cepillado durante dos semanas, se tomaron muestras de saliva el primer día y después de dos semanas para luego hacer el conteo. Los datos se analizaron estadísticamente utilizando la prueba e estudio Tukey's múltiple post hoc. Así como análisis unidireccional de prueba de varianza. Al comparar día 1 con día 14 obteniendo como resultado una reducción estadísticamente significativa en el recuento de *streptococcus mutans* tanto en el aceite de coco como en la clorhexidina. Concluyendo que el aceite de coco es una alternativa natural, segura y efectiva a la clorhexidina.⁹

Peedikayil F. et al (2016) Determino la eficacia antibacteriana del aceite de coco comparándolo con la clorhexidina. El estudio fue un total de cincuenta niñas de 8 a 12 años distribuidas veinticinco niños a cada grupo, es decir, el grupo de estudio (aceite de coco) y el grupo de control (clorhexidina). A los participantes se les pidió que realizaran rutinariamente enjuague con aceite de coco y clorhexidina todos los días por la mañana después de cepillarse durante 2-3 minutos. Se determinó la presencia de *S. mutans* en saliva y placa mediante la prueba Dentocult SM Strip Mutans. Se instruyó a los pacientes para que continuaran con el aceite durante 30 días. *S. mutans*. Se registraron los recuentos en placa y saliva el día 1, el día 15 y el día 30 y los resultados se compararon utilizando la prueba de rangos con signos pareados de Wilcoxon.

En el día 15, la puntuación media de *S. mutans* de la saliva fue de 1.24 ± 0.436 en el grupo 1 y 1.00 ± 0.00 en el grupo 2, la diferencia media fue de 0.240, que se encontró que era estadísticamente significativa ($P = 0.010$) usando Mann – Whitney U prueba. El día 30, se encontró que la puntuación media de *S. mutans* de la saliva no era estadísticamente significativa ($P = 0.190$). Los resultados mostraron que hay una disminución estadísticamente significativa en el conteo de *S. mutans*. del aceite de coco y del grupo de clorhexidina desde el inicio hasta los 30 días. El estudio también mostró que, en comparación con el aceite de coco y la clorhexidina, no hay cambios estadísticamente significativos con respecto a la eficacia antibacteriana. Concluyendo que el aceite de coco es tan efectivo como la clorhexidina en la reducción de *S. mutans*.¹²

Real A. (2017) Realizó un estudio con la finalidad de analizar los beneficios del oil pulling en el área específica de la salud oral y reducción de la placa bacteriana para demostrar que el aceite de coco puede ser una potencia e innovador producto natural en el área de odontología y que puede convertirse en un producto altamente cotizado. Realizó una encuesta y datos clínicos con análisis de muestras antes y después del uso del aceite de coco en 35 pacientes niños y niñas del sexto grado de educación básica de la Unidad Escolar Rosa Zarate y 15 profesionales de la una Unidad de atención odontológica. Obteniendo como resultado después de la colocación del oil pulling de coco en el nivel 1 94% mientras que en el nivel 2 se ubicó una cantidad del 6% lo que significa que notablemente existió una reducción de placa bacteriana siendo niveles inferiores por completo a los encontrados al inicio de la investigación ya que los niveles 3 y 4 no refiere. Concluyendo que el

aceite de coco es una alternativa viable que ayudara a mejorar la salud oral. Se obtuvo una disminución en un 85% en problemas orales con una buena técnica de cepillado y enjuague bucal de aceite de coco demostrando que el aceite de coco tiene varias ventajas frente a enjuagues bucales comerciales de alto costo.²

Torres A. (2017) Desarrollo un estudio sobre el efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro” se pasó a activar la cepa y colocar en placa petri con agar sangre para su crecimiento luego se trasladó a un tubo de ensayo con suero fisiológico donde se comparó con una solución estándar de turbidez Mcfarland 0.5 obteniendo una suspensión homogénea de la cepa para luego sembrar mediante técnica de diseminación en medio de cultivo Mueller Hinton enriquecido con 5% de sangre y colocación de discos de aceite de coco en concentración de 50, 75 y 100% (cada disco con 20 microlitros) además un grupo control positivo de clorhexidina y control negativo con agua destilada y llevar a incubar en condiciones anaerobiosis 35- 2° y CO2 al 5%. Se utilizó el análisis estadístico por distribución tipo t pareado siendo el valor t de 113.52 y el límite de rechazo para la significancia es de 1.796 por lo tanto se obtiene como resultado halo de clorhexidina al 0.12% 15,47mm; en el aceite de coco al 100% 12,96mm al 75% 12,05mm y al 50% 11,17mm. Concluyendo que el aceite de coco inhibe al *Streptococcus mutans* sin existir diferencia significativa en sus concentraciones.⁶

Nagilla J. et al (2017) Elaboraron una investigación titulada “Evaluación comparativa de la eficacia antiplaca de la extracción de aceite de coco y un

placebo entre estudiantes de odontología en un estudio clínica aleatorizado controlado”, se realizó un estudio controlado aleatorio entre 40 estudiantes de odontología dividido en dos grupos, ambos grupos se hicieron enjuagues de 10 min una vez al día por 7 días; el control de placa se realizó el día cero, al tercer día y séptimo utilizando la modificación de Turesky Gilmore Glickman. De los 40 estudiantes, 20 se incluyeron al azar en el grupo de estudio y otros 20 sujetos en el grupo de control con un puntaje mínimo de placa de ≥ 1 . La mayoría de los sujetos eran mujeres (32), de los cuales 17 (85%) estaban en el grupo de estudio y 15 (75%) en el grupo control. La edad media de los sujetos del estudio fue de $20,5 \pm 1,72$. El grupo de control tenía una edad media ligeramente alta ($20,75 \pm 1,83$), en comparación con la edad media del grupo de estudio ($20,25 \pm 1,68$). Las puntuaciones medias de placa al inicio del estudio fueron de 1.64 ± 0.37 y para el grupo de control de 1.74 ± 0.40 . La prueba post hoc de Bonferroni reveló que, entre el grupo de estudio, hubo una disminución en las puntuaciones medias de placa desde el inicio hasta el tercer día y hasta el séptimo día. Mientras que, en el grupo de control, las puntuaciones medias en placa disminuyeron solo en el tercer día sin diferencia en las puntuaciones en placa entre el tercer y séptimo día, no hubo diferencia. Las puntuaciones medias en placa mostraron una diferencia significativa al inicio del estudio, tercer día y séptimo día entre los dos estudios y los grupos de control. El análisis de la reducción porcentual de las puntuaciones de placa reveló un mayor porcentaje de reducción entre el grupo de estudio en el tercer día (16.57 ± 11.25) y el séptimo día (28.87 ± 14.07) en comparación con el grupo de control (11.9 ± 11.33 , 13.79 ± 13.38 respectivamente). Sin embargo, la diferencia estadística significativa se obtuvo solo en el séptimo día.

Obteniendo como resultado significativo al inicio, tercer y séptimo día entre ambos grupos de estudio. Concluyendo que la extracción de aceite es eficaz para controlar los niveles de placa.¹³

Pavithran V. et al (2017) Evaluaron el efecto de la terapia de enjuague de aceite con aceite de coco puro en el recuento de *Streptococcus mutans* y comparar su eficacia contra el aceite de sésamo y la solución salina. Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, controlado, paralelo, triple ciego concurrente. Treinta participantes en el rango de edad de 20 a 23 años se asignaron al azar en el Grupo A (aceite de coco), el Grupo B (aceite de sésamo) y el Grupo C (solución salina), con 10 en cada grupo. Se instruyó a los participantes para que se enjuaguen con 10 ml de aceite con el estómago vacío, temprano en la mañana durante 10-15 minutos. La saliva recolectada antes y después del procedimiento de enjuague de aceite se analizó en busca de unidades formadoras de colonias (UFC) por ml de saliva de *S. mutans*. Los datos se analizaron utilizando pruebas *t* pareada, ANOVA y análisis *post hoc* utilizando la diferencia significativa honesta de Tukey. La significación estadística se estableció en $P < 0.05$. Se encontró una reducción estadísticamente significativa en el recuento de CFU de *S. mutans* después de extraer aceite con aceite de coco puro ($P = 0,001$). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre el aceite de sésamo y el aceite de coco ($P = 0,97$) y entre el aceite de sésamo y la solución salina ($P = 0,061$). Cuando se evaluó la eficacia del aceite de coco contra la solución salina, se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.039$). Concluyendo que el enjuague con aceite es un método eficaz para el mantenimiento de la higiene oral, ya que reduce significativamente el recuento de *S. mutans* en la saliva.¹⁴

Priyank H. et al (2017) Evaluó el enjuague con aceite de coco y estimó el conteo de *Streptococcus Mutans* en la saliva de adultos. A cada sujeto se le asignó un específico número, y se realizó un muestreo aleatorio simple utilizando una tabla de números aleatorios por examinador A. Grupo I (grupo de estudio; de aceite de sésamo) incluyó 10 sujetos y Grupo II (estudio grupo; aceite de coco) incluyó 10 sujetos y Grupo III (grupo de control; clorhexidina) también incluyó 10 sujetos. Todos los sujetos fueron instruidos para continuar sus procedimientos normales de higiene bucal domiciliaria, con enjuague de aceites. Los sujetos tenían que realizar oil pulling en la mañana antes de cada uno de los exámenes clínicos en los días experimentales bacterianos, los recuentos de colonias se evaluaron en el día 0 (línea de base-T0) y T1 después de 30 días. Resultados: el valor medio para el grupo 3 es 1.3070 que mostró reducción máxima del recuento bacteriano. La media para grupo 1 (aceite de sésamo) es 1.6900 que mostró menos reducción de conteo como en comparación con el grupo 1, pero más reducción de conteo en comparación al grupo 2 (grupo de aceite de coco). Mientras que el grupo 2 mostró media de 3.4840 que mostró la menor reducción de conteo como en comparación con el grupo 1 y el grupo 3. Concluyendo que hubo reducción de bacterias en todos los grupos. Entre ellas la clorhexidina el grupo se desempeñó mejor seguido por el grupo de aceite de sésamo y finalmente el grupo de aceite de coco.¹⁵

2.1.2 Antecedentes nacionales

Cárdenas A. (2015) Evaluó un estudio con el objetivo de evaluar la eficacia técnica del oil pulling con aceite de coco y del colutorio de bicarbonato de sodio en la alcalinización de medios salivales ácidos, fue aplicado en pacientes de 40

a 65 años divididos en tres grupos, un primer grupo con colutorio de bicarbonato de sodio, el segundo con oil pulling aceite de coco y el tercero con enjuague bucal de agua como grupo control. Todos los grupos evaluados antes y después obteniendo como resultados para el primer grupo que el 50% volvió a sus niveles de pH 5.5, el 30% conservo el pH 6.0 y el 20 % conservo pH 6.5 regresando a su pH ácido pero lo ninguno al pH 5.0 (inicial) lo que significa que hubo una disminución de la acidez del medio salival; para el segundo grupo se observó que los resultados volvieron sus inicios 60% registro 5.5 y 40% pH 6.0 lo que indica que los valores volvieron a ser ácidos; el tercer grupo volvió a sus hallazgos iniciales de pH 5.0 para un 20% pH 5.5 para el 60% y el 20% pH 6.0 que todavía se encuentra en el rango de acidez. En base al F Ratio 187.78 > Fisher 3.354 obtenido mediante el análisis estadístico ANOVA se determina que existen diferencias significativas entre los valores promedio hallados. Comparando los efectos de la técnica del oil pulling con aceite de coco, colutorio de bicarbonato de sodio y enjuague bucal con agua en el pH ácido salival durante todas las aplicaciones se obtuvo como resultado que el colutorio de bicarbonato de sodio llego a obtener un medio alcalino llegando a valores pH 9.0 pero de igual manera volvió a su medio ácido. Concluyendo que la técnica del oil pulling con aceite de coco disminuyó la acidez salival de los pacientes y el bicarbonato de sodio redujo el pH ácido, pero logro alcalinizar el medio salival en tiempo más corto que el oíl pulling que lo hace progresivamente.¹

Alberca S. Colca S. (2018) Realizaron una estudio in vitro de la actividad antibacteriana de los aceites y extractos metanólicos de sésamo, coco y girasol sobre cepas de *Streptococcus mutans*” con el objetivo de evaluar el efecto

antibacteriano de los aceites comerciales y extractos metanólicos del sésamo, coco y girasol sobre cepas de *Streptococcus mutans*, probaron 5 veces cada extracto metanólicos y aceite comercial utilizando como control positivo a la clorhexidina al 0.12% el método fue por difusión en agar, así también realizaron la prueba de citotoxicidad. Obteniendo como resultado que los aceites comerciales de sésamo, coco y girasol no mostraron efecto antibacteriano in vitro sobre las cepas de *Streptococcus mutans*; los extractos metanólicos de sésamo y girasol no presentan efecto antibacteriano in vitro sin embargo el extracto metanólicos de coco evidencia efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de *Streptococcus mutans* mostrando halos de inhibición de 13 mm. Se utiliza la prueba de estadística Anova univariado.⁷

Los resultados de la prueba de citotoxicidad en el sésamo inhibe la viabilidad celular al 50% en una concentración 100ug/ml mientras que el extracto de coco inhibe a una concentración de 200ug/ml y el girasol a una concentración de 450ug/ml. Concluyendo que los aceites comerciales y extractos metanólicos no presentan efecto antibacteriano excepto el extracto de coco que mostro una actividad antibacteriana de 12.8mm y que en concentración mayor de 200microlitos es citotóxico para las células.⁷

Vásquez GP. (2018) Determinó el efecto antibacteriano in vitro del aceite de *Cocus nucifera* (Coco) frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Se realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión de discos ensayada sobre las concentraciones de 25%, 50% y 75% de aceite de *Cocus nucifera*. Todas las concentraciones presentaron halos de inhibición y los tamaños aumentaron directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Para

hallar la Concentración Mínima Inhibitoria se empleó el método de dilución en tubos, ensayando las mismas concentraciones y su control; de cada cultivo se sembró en placas con Agar Mueller Hinton – Sangre para determinar las Unidades Formadoras de Colonias (UFC's). Se usó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis y la prueba complementaria no paramétrica de Mann Whitney con ajuste de Bonferroni. Los resultados mostraron al 25% es de 17mm, 50% 21.75mm, 75% 22mm, obteniendo como resultado que la concentración al 75% del aceite de *Cocus nucifera* mostró el mayor halo de inhibición (22mm) y la concentración mínima inhibitoria fue la de 75% en donde no se visualizó crecimiento de colonias en todas las repeticiones de la muestra ensayada. Se concluye que el aceite de *Cocus nucifera* “coco” posee actividad antibacteriana in vitro sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*.¹⁶

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Coco (*Cocos Nucífera* L)

La planta de coco es una planta perteneciente a la familia *Aranaceae* (antes *Palmaceae*) que se caracteriza por tener tallos altos de 20 metros y 50 centímetros de base, con hojas pinnadas y una longevidad de hasta 100 años. La inflorescencia del coco es interfoliar, con ramificaciones simples y con una bráctea peduncular semileñosa. Las flores son unisexuales que forman grupos triados en la base de las ramas floríferas, de flor pistilada central y dos estaminadas laterales de color blanca verdosa o amarillento. Los frutos de la planta contienen una única semilla, con la característica básica de tener un gran tamaño llamado coco. El árbol del coco conocido como cocotero y

recientemente llamado el árbol de la vida. El coco es el fruto de la palmera que es una de las plantas más importantes cultivadas en el mundo, cultivada en climas tropicales y subtropicales durante todo el año, cubierta de fibras de contextura gruesa pudiendo llegar a pesar 2.5 kilos. Está conformado por exocarpo que es la cascara externa de color amarillento, correosa y fibrosa; en su capa media llamada mesocarpo y otra más dura llamada endocarpo. En su interior hay una única semilla rica en sustancias de reserva, que es en parte líquido (leche de coco) y en parte sólido (pulpa).^{7,9}

De la palma de coco se obtienen muchos productos, destacando entre ellos, el agua y el aceite, que son muy importantes para el consumo en la dieta diaria del ser humano, porque proporcionan muchos beneficios.^{17, 18}

Compuestos activos: carbohidratos, grasas saturadas y monosaturadas, proteínas, fibras, vitaminas, minerales, oligoelementos entre otros, siendo el más importante el ácido laúrico, que es el mayor de los ácidos grasos de cadena media que tiene efecto antimicrobiano y consiste en una cadena de doce átomos de carbono. El aceite de coco es rico en este nutriente, representa el 50% de su contenido graso.^{6, 19, 20}

Ácido laúrico: es un ácido graso saturado de doce carbonos de cadena mediana. Consiste en un sólido blanco o polvo blanco brillante, con un olor característico a aceite de bebé. Es prácticamente insoluble en agua, pero es muy soluble en solventes orgánicos; especialmente en etanol, metanol y acetona. Precursor de la monolaurina, una sustancia antimicrobiana que combate agentes patógenos, como bacterias, virus y hongos.²¹

2.2.1.1 Aceite de coco

Es un aceite vegetal constituido preferentemente por triglicéridos de cadena media (92% ácidos saturados, 6% ácidos grasos monoinsaturados y 2% de ácidos polinsaturados). Contiene ácido laúrico (monolaurina monoglicéridos) gracias a este adquiere una propiedad antibacteriana contra una variedad de microorganismos como: *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia vulneris*, *Enterobacter* y *Candida*. Se obtiene mediante prensado de la pulpa o la carne del coco.^{20, 22}

Beneficios del aceite de coco:

- Fortalece el sistema inmune.
- Protege e hidrata la piel y cabello.
- Acelera el metabolismo mejorando la digestión.
- Actividad antibacteriana y fúngica que ayuda a eliminar infecciones.
- Contiene una combinación única de ácidos grasos que da propiedades medicinales muy importantes.
- No se oxida al calentarse, no tiene radicales libres y no es nocivo para la salud humana.
- Rica en ácido laúrico que evita la formación de caries y úlceras bucales.
- Mejora el nivel de colesterol en la sangre y reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares.^{16, 20}

2.2.2 Streptococcus mutans

Es una especie de bacterias cocáceas que forma parte de la microbiota de la boca y aparece junto a la erupción de las piezas dentarias, pero su patogenicidad aumenta al aumentar su número. Debe encontrarse en gran cantidad en la

saliva para poder diseminarse y poder vencer la resistencia a la colonización que opone la microbiota de la boca. Para poder crecer y desarrollarse in vitro necesita de medios enriquecidos y un ambiente con baja tensión de oxígeno.^{13,}

23

Streptococcus mutans produce ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico cuando metaboliza carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa. Estos ácidos circulan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, generando calcio y fosfato, los cuales a su vez se difunden fuera del esmalte a este proceso se le conoce como desmineralización. Debido a la producción del ácido láctico tiene a capacidad de poder cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en 24 horas.^{11,23}

- Características: anaerobios facultativos, gram positivo y denominados microerófilos debido a que requieren del 5 al 10% de CO₂ para poder crecer en laboratorio. Siendo microorganismos muy susceptibles a cambios ambientales por lo que no sobreviven mucho tiempo fuera del organismo. Según su hemolisis se clasifican como alfa o gamma hemolítico (agar sangre).¹¹
- Taxonomía: pertenece al dominio Bacteria, *Phylum Firmicutes*, clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales*, familia *Streptococaceae*, Genero *Streptococcus mutans*. Incluido en el grupo *Streptococcus viridans* por la ausencia del carbohidrato C en su pared celular, sin embargo, en otra clasificación basada en el análisis de secuencia del gen 16SrRNA fue incluido en el

grupo *S. mutans* el cual alberga *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. macacae*, *S. rattus*, *S. downeii* y *S. ferus*.²³

- Morfología: células esféricas denominadas cocos dispuestos en cadena, no móvil, catalasa negativa. Coloración gram de color morado (positivos: aunque no poseen capsula, pero tienen una pared típica).²³

Streptococcus mutans se ha subclasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. El hábitat natural de *S. mutans* es la boca humana. Contiene un peptidoglicano grueso de 80 nm de espesor, en el que se encuentra anclado el ácido teicoico, mientras que el ácido lipoteicoico está fijado a la membrana celular.^{11,23,24}

- Virulencia: Acidogenicidad: el estreptococo puede fermentar los azúcares de la dieta para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental. Aciduricidad: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo. Acidofilicidad: El *Streptococcus mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H⁺) fuera de la célula. Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la bacteria a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.^{11,23}

2.2.4. Inhibición bacteriana

Es impedir temporalmente el funcionamiento del organismo, por un estímulo.²⁵

2.2.4.1. Método de Susceptibilidad por Disco de difusión (Técnica de Kirby & Bauer)

a. Antecedentes

Este método de difusión es utilizado por más de siete décadas en el área de microbiología.²⁵

Uno de los primeros en utilizarlos fue Alexander Fleming en la década 50. Es así que los investigadores Bauer, Kirby, Sherris y Turck en 1966 publican un estudio “Antibiotic Susceptibility testing by a standardized single disk method”, la cual se basó en la medición de los tamaños, cuyo propósito fue consolidar y actualizar las descripciones anteriores del método y proporcionar su rendimiento e interpretación.²⁵

b. Fundamento del Método

Para determinar la sensibilidad antimicrobiana se usó el método cualitativo Antibiograma – Disco, por ser rápido y de uso práctico.²⁶

Este consistirá en colocar los discos embebidos con el antibiótico en el medio de cultivo con la cepa ya sembrada, transcurriendo de 18 – 24 horas para obtener los resultados, al tener contacto con el agar, se formará una concentración, la cual se dará un efecto de inhibición del microorganismo o crecimiento del microorganismo, obteniendo los resultados en mm.²⁶

c. Indicaciones y limitaciones

Esta prueba se utilizará en bacterias que producen procesos infecciosos resistentes a un antibiótico. Es una de las pruebas más utilizadas en epidemiología.²⁶

d. Método

- **Preparación del inóculo**

Teniendo ya las placas de cultivo con las colonias sembradas de 18 a 24 horas, equilibraremos el inóculo utilizando la Escala de Mac Farland 0.5 en suero fisiológico, agitando durante 15- 20 segundos. ²⁶

- **Inoculación de las placas**

Al equilibrar la turbidez dentro de los 15 minutos, introduciremos en el tubo de ensayo un hisopo y retiraremos. Ya lista la preparación del Medio de cultivo (Agar Mueller Hinton) pasaremos a la siembra de las colonias en forma de “zig zag” sin mucha presión esparcirlo uniformemente, al concluir el sembrado pasar por la periferia, esperar de 3 -5 minutos para luego colocar los discos de papel. ²⁶

- **Dispensación de los discos**

Luego colocaremos los discos con pinzas estériles, fijándonos que no haya ningún espacio con el agar, presionándose levemente, debe de tener una distancia preferente a 15 mm y estar distribuidos de esa manera observaremos los halos de inhibición sin ninguna confusión. Estas se incubarán de 18-24 horas a 35°C dentro de los 15 minutos. ²⁶

- **Lectura de resultados**

A las 18 horas, se procederá a la observación y lectura del diámetro de inhibición (regla o pie de rey). Midiendo al reverso de la placa Petri la zona transparente. Si se observa colonias dentro del halo de inhibición, puede ser por contaminaciones, en ese caso será conveniente volver a realizar el ensayo de sensibilidad antimicrobiana. ²⁶

2.3 Definición de términos

- **Patogénesis:** Describe el origen y evolución de una enfermedad con todos los factores que están involucrados en ella. ¹¹

- **Agente patológico:** Agentes patógenos que pueden provocar daño al huésped.⁵
- **Halo de Inhibición:** Es la zona alrededor de un disco en el que no se produce crecimiento bacteriano.⁵
- **Medicina ayurvédica:** Es una medicina complementaria y alternativa en la cual la meta es limpiar el cuerpo y restaurar el equilibrio; es indispensable el uso de productos naturales.^{8,19}
- **Antiséptico:** Sustancia antimicrobiana que se utiliza para reducir la posibilidad de infecciones.²³
- **Antimicrobiano:** Sustancia que combate o elimina microorganismos.²³
- **Agar sangre:** Es una combinación de agar base con 5% de sangre ovina que también puede ser humana, medio nutritivo para lograr crecimiento de microorganismos.¹¹
- **Agar Mueller Hinton:** Medio de cultivo para microorganismos usado para aislar y mantener especies.¹¹
- **Efecto Antibacteriano:** Mecanismo que destruye o suprime el crecimiento o la reproducción de las bacterias.⁵
- **Cepa:** Es un acumulo microscópico de crecimiento de bacterias logrado en medios de cultivos artificiales (la colonia debe ser pura).²
- ***Streptococcus mutans:*** bacteria de la familia de los estreptococos, principal responsable de la aparición de caries en la cavidad bucal.²⁴
- **Aceite orgánico:** Aceite extraído del Cocos nucifera L.¹⁹
- **Método de disco de difusión:** Son pruebas de susceptibilidad, que nos dará a conocer si el microorganismo es “resistente” o “sensible” a determinado antibiótico.²⁵

- **Escala de Duraffourd:** Según su diámetro de inhibición tenemos.²⁷
 - Nula (-), < a 8 mm.
 - Sensibilidad límite (sensible = +) entre 8 a 14 mm.
 - Medio (muy sensible =++) entre 14 y 20 mm.
 - Sumamente Sensible (+++) > a 20 mm.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Hipótesis principal

- El aceite orgánico de Cocos Nucífera tiene efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

3.2 Hipótesis derivadas

- El aceite orgánico Cocos Nucífera al 50% posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- El aceite orgánico de Cocos Nucífera al 100% posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- El grupo control posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

3.2 Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN	VALOR
Cepa de Streptococcus mutans ATCC 25175	Microorganismo expuesto al agente antimicrobiano	Diámetro de halo de inhibición	Cuantitativo	Razón	mm
Aceite orgánico de Cocos Nucifera	Solución antimicrobiana	Aceites en diferentes concentraciones	Cualitativo	Nominal	50% 100%

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Diseño metodológico

Experimental: Porque se crearon las condiciones necesarias para buscar qué efecto antibacteriano tuvo el aceite de coco en sus dos concentraciones sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); por lo que mis resultados fueron el producto de la manipulación de la variable independiente.

Prospectivo: La información se obtuvo a través del desarrollo de la investigación.

Longitudinal: Se realizó mediciones en el 1° día; 2° día y 3° día.

4.2 Diseño muestral

Población

La población está conformada por un número infinito de bacterias de la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

La muestra fue calculada con la fórmula de estimación media y considerando los criterios de inclusión y exclusión.

Tamaño de la muestra

Fórmula para muestras infinitas:

$$n = \left(\left[2 * (z_{\alpha/2} + z_{\beta}) \right]^2 * \sigma^2 \right) / (\mu_1 - \mu_2)^2$$

Dónde:

n = Número de discos para cada concentración.

$z_{\alpha/2}$ = 1.881 Valor Z al 6% de error tipo I

z_{β} = 1.282 Valor Z al 10% de error tipo II

σ = Desviación estándar de la susceptibilidad bacteriana.

$\mu_1 - \mu_2$ = Diferencia a detectar en la susceptibilidad bacteriana entre dos concentraciones.

Se asume: $\sigma / (\mu_1 - \mu_2) = 1^{31}$

Reemplazando se tiene:

$$n = 2 * (1.881 + 1.282)^2 * 1^2$$

$$n = 20$$

Luego la muestra está conformada por 20 discos de aceite orgánico de Cocos Nucífera al 50%, 20 discos de aceite orgánico de Cocos Nucífera al 100%, 20 discos de clorhexidina al 0.12% y 20 discos de agua estéril.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) puras sin contaminación
- Muestras de aceite de coco a las concentraciones de 50% y 100%

Criterios de exclusión

- Cepas con contaminación durante el procedimiento experimental
- Placas Petri con defectos de fabricación

4.3 Técnica de recolección de datos

- **Procedimiento**

A) De la aprobación del proyecto

Para proceder con la ejecución de este estudio de investigación se obtuvo la aprobación del proyecto e inscripción del mismo. Asimismo, se presentó una solicitud de autorización de la Dirección de Estomatología y poder hacer uso del laboratorio central de la Universidad Alas Peruanas, bajo la supervisión de la encargada MG Bióloga Carmen Aquije Dapozzo. ANEXO 1,2

B) Recolección e identificación taxonómico del Cocos Nucifera:

Se recolectó 10 Kg del fruto de coco (departamento de San Martín)

Un ejemplar completo del fruto fue llevado al herbario del museo natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su identificación y posterior verificación taxonómica. ANEXO 3

C) Preparación del aceite orgánico de Cocos Nucifera:

La extracción del aceite orgánico de Cocos Nucifera se realizó mediante el prensado en frío para no perder los principios activos

Los frutos fueron seleccionados quedando los que estuvieron en buenas condiciones.

Se procedió a cortar la corteza con sus vellosidades, se lavó con agua destilada y desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%. Posteriormente se perforó los ojos o poros de germinación para retirar el contenido (agua de coco). Obteniendo así la pulpa de coco que fue cortada en trozos pequeños del tamaño de una aceituna. Este fue sometido a un proceso de secado y reducción de tamaño principalmente para lograr mayor área de contacto en el prensado y poder procesar mayor cantidad de materia prima.

El aceite orgánico de Cocos Nucífera fue colocado en un frasco de vidrio color ámbar. Una vez obtenido el aceite se procedió a realizar las diluciones utilizando como solvente alcohol 96°. ²⁸ ANEXO 4

D) Obtención de la cepa:

El *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue obtenida del laboratorio GenLab del Perú SAC representante del laboratorio MicroBiologics (USA) trasladada sin romper la cadena de frío. ANEXO 5

E) Preparación de agar sangre

Se preparó el medio de acuerdo a las indicaciones del fabricante, en el matraz de Erlenmeyer, colocándolo a baño maría y constante agitación. Luego se colocó en autoclave por 121°C por 15 minutos dejando que este quede a temperatura de 37° para agregar 5% de sangre. Repartimos el medio en placas Petri con un grosor de 4mm y superficie plana. ²⁹

Ya teniendo el medio listo se comenzó a distribuir en placas Petri para el sembrado con la técnica de estera en toda la superficie, con mecheros alrededor y así se evitó la contaminación, incubándolo a 37°C por 48 horas con el fin de obtener colonias jóvenes. ²⁹

F) Preparación de agar Mueller Hinton

Se preparó el medio de acuerdo a las indicaciones del fabricante, colocándolo a baño maría y constante agitación. Luego se colocó en autoclave por 121°C por 15 minutos hasta que enfrié a una temperatura aproximadamente de 36°C, repartiendo el medio en placas Petri con un grosor de 4mm y superficie plana.

Se pasó por un control de calidad de 24 horas para verificar de alguna contaminación en dicho medio.²⁹

Seguidamente se realizó con un asa de siembra el sembrado directo en el agar Mueller Hinton, a partir de una placa agar Sangre, estriando con el asa de siembra en tres direcciones y así obtener la distribución y crecimiento uniforme de colonias jóvenes, incubando por 24h a 37°C. Realizando la tinción gram, y así comprobar el aislamiento único de *Streptococcus mutans*, que se observó a través del microscopio.²⁹

G) Preparación de la escala de Mc Farland (0.5 mc)

Se ajustó la concentración del inóculo usando la suspensión de Sulfato de Bario (0.5 de la escala de Mc Farland) como estándar.²⁹

Luego se tuvo que comprobar la densidad correcta de la concentración usando el espectrofotómetro, teniendo en cuenta la absorbancia que fue de $6.25\text{nm} - 0.10$.²⁹

H) Inoculación

Se seleccionó las colonias del cultivo en agar Mueller Hinton, llevando el asa de siembra en las superficies de las colonias transfiriendo está, en un tubo conteniendo solución salina, ajustando y comparando la turbidez del inóculo con el tubo de Mc Farland 0.5ml, contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.²⁹

I) Inoculación de las placas

Se obtuvo el ajuste de la turbidez del inóculo de las colonias de *Streptococcus mutans*, sumergiendo un hisopo estéril en la suspensión pasando suavemente por el agar con la técnica de estriado y finalizando con tres circunferencias en el borde del agar, y así hasta realizar el sembrado con las placas Petri restantes.²⁹

J) Antibiograma

Mediante la técnica de difusión de Kirby Bahrer, se preparó discos de difusión de papel filtro estériles de un diámetro de 6mm, la cual se distribuyó los discos en placas Petri estériles siendo dispensados con 10 microlitros del aceite orgánico de coco por un tiempo menor a 1 hora.²⁹

Luego con una pinza estéril, se colocaron los discos uniformemente en el cultivo (4 discos por placa petri), previamente preparadas. Llevándolo a incubar a 37°C.²⁹

La lectura se hizo desde el exterior de la tapa, de acuerdo al diámetro de los halos de inhibición, tomando el registro con una regla milimetrada Vernier, registrándolo en la ficha de recolección de datos a las 24, 48 y 72 horas.²⁹

K) Controles:

Para la determinación del efecto antibacteriano se utilizó como control positivo discos impregnados de clorhexidina al 0.12% y para el control negativo solo se usó discos con agua estéril.²⁹

4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencia de una sola entrada con valores absolutos y relativos se calcularon el promedio y se

diseñaron tablas y gráficos para mostrar las variaciones de los promedios de los valores.

Para determinar la susceptibilidad se empleó la prueba de análisis de varianza (ANOVA).

Para el ANÁLISIS UNIVARIADO se usó la Prueba Estadística ANOVA.

4.5 Aspectos éticos

Entre los aspectos éticos contemplados podemos mencionar:

- Para la ejecución de este proyecto de investigación, se empleó todos los parámetros de bioseguridad, para la ejecución antes, durante y después del procedimiento.
- Las cepas bacterianas fueron obtenidas del laboratorio GenLab Peru SAC, con su respectiva certificación ANEXO 5, siendo replicadas y almacenadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Alas Peruanas, previa autorización del jefe de laboratorio. ANEXO 1 y 2

CAPÍTULO V
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo y análisis inferencial

Tabla N^o 1
Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% sobre la cepa de Streptococcus mutans en 24, 48 y 72 horas

		Cocos Nucifera 50% (mm)							
		N	Media	Desviación estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	F	Sig.
Cocos Nucifera 50%	CN (24h)	20	16.65	1.42	2.03	14.0	20.0	5,429	,007
	CN (48h)	20	17.50	1.15	1.32	16.0	21.0	2,109	,130
	CN (72h)	20	17.0	.73	.528	16.0	18.0	1,662	,628

Fuente: propia del investigador

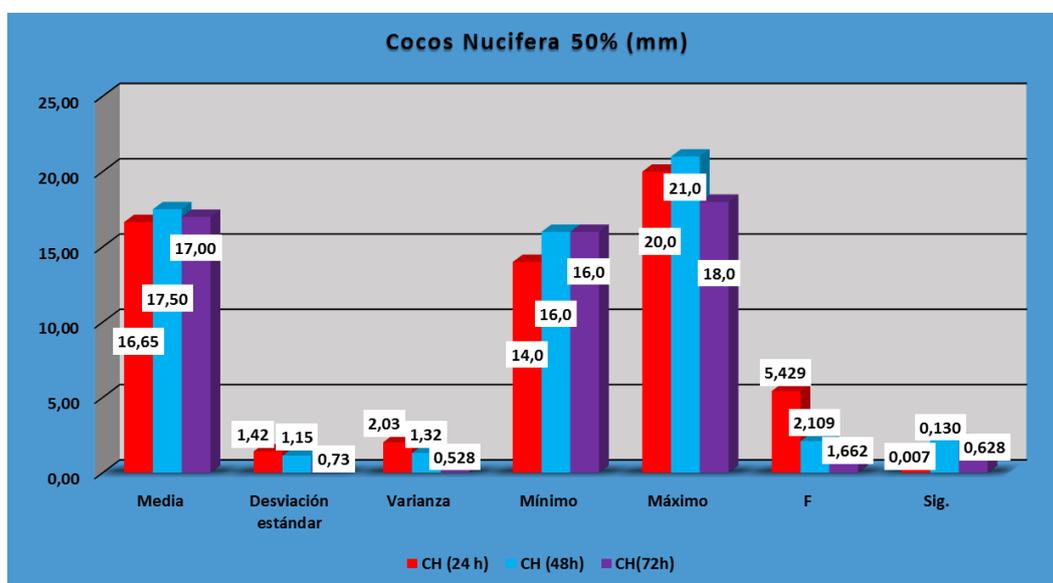
Se observa en las muestras de estudio in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucifera que en 24 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 16,65 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,42 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 2,03 (mm); en 48 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 17,50 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,15 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 1,32 (mm) y en 72 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje

tiene un valor de 17,00 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con ,73 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con ,528 (mm) en concentraciones al 50%.

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 50%; $P = 0,007$ en el aceite orgánico de Cocos Nucifera en la exposición de 24 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir las 20 muestras realizadas en el laboratorio

Gráfico N° 1

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% y 100% sobre la cepa de Streptococcus mutans, en 24 horas



Fuente: propia del investigador

Tabla Nª 2

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre la cepa de Streptococcus mutans en 24, 48 y 72 horas

		Cocos Nucifera 100% (mm)							
		N	Media	Desviación estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	F	Sig.
Cocos Nucifera 100%	CN (24h)	20	18.00	1.65	2.74	16.0	21.0	5,320	,013
	CN (48h)	20	19.10	1.74	3.02	17.0	22.0	10,012	,000
	CN (72h)	20	17.6	1.10	1.20	16.0	20.0	3,685	,028

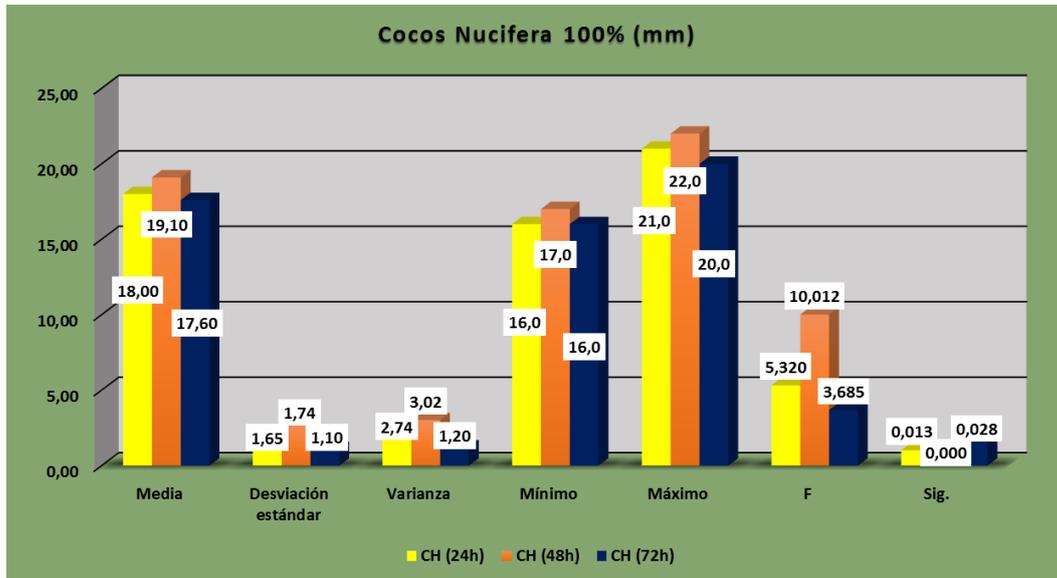
Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucifera que en 24 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 18,0 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,65 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 2,74 (mm); en 48 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 19,10 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,74 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 3,02 (mm) y en 72 horas la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 17,60 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,10 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 1,20 (mm) en concentraciones al 100%.

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; $P = 0,00$ en el aceite orgánico de Cocos Nucifera en la exposición de 48 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir las 20 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 2

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% y 100% sobre la cepa de Streptococcus mutans, en 48 horas



Fuente: propia del investigador

Tabla N° 3

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% (control positivo) sobre la cepa de Streptococcus mutans, en 24 ,48 y 72 horas

		Clorhexidina 0.12% (mm)							
		N	Media	Desviación estándar	Varianza	Mínimo	Máximo	F	Sig.
Concentraciones de Clorhexidina 0,12%	Cx (24h)	20	18.28	1.80	3.23	15.0	22.0	2,613	,037
	Cx (48h)	20	18.45	1.76	3.10	15.0	22.0	1,545	,001
	Cx (72h)	20	18.35	1.90	3,61	15.0	22.0	1,315	,017

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestras de estudio in vitro del efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de Streptococcus mutans, que la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 18,28 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,80 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 3,23 (mm) en 24 horas.

Se observa en las muestras de estudio in vitro del efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12 % sobre la cepa de Streptococcus mutans, que la media máxima entre los intervalos de porcentaje tiene un valor de 18,45 (mm), un valor máximo de la desviación estándar con 1,76 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 3,10 (mm) en 48 horas.

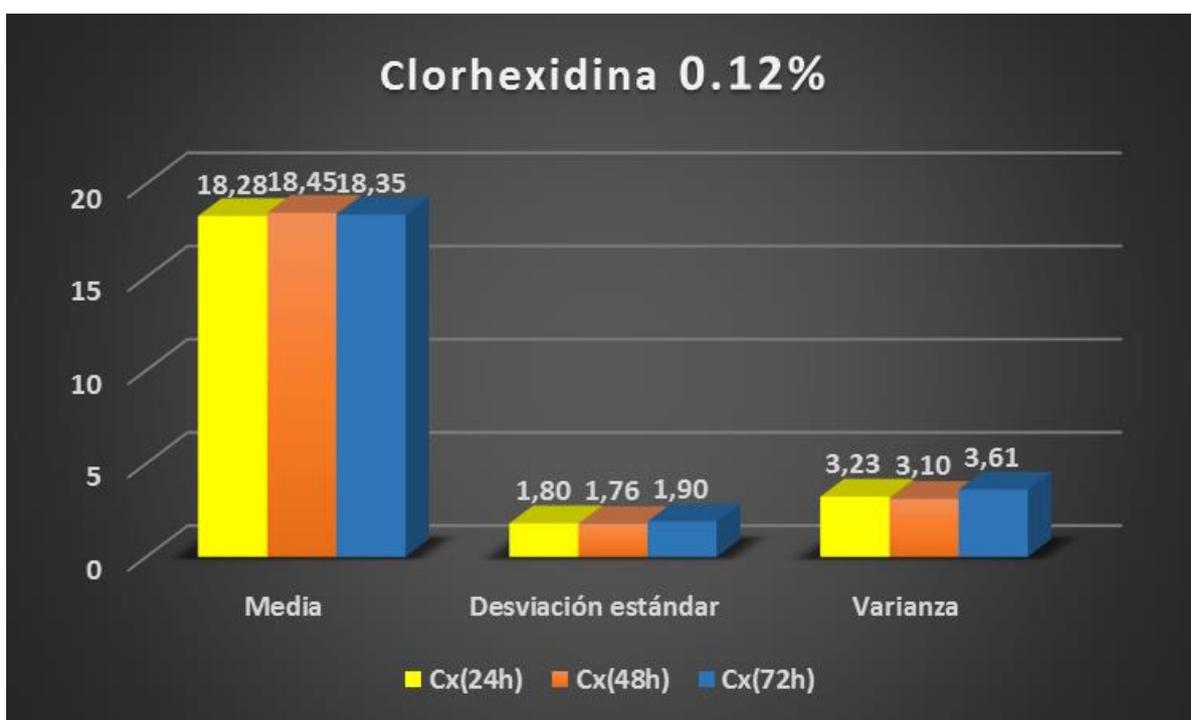
Se observa en las muestras de estudio realizado in vitro del efecto antibacteriano de la clorhexidina 0.12 % sobre la cepa de Streptococcus

mutans, la media máxima entre los intervalos de porcentaje con un valor de 18,35 (mm), valor máximo de la desviación estándar es 1,90 (mm) y el valor máximo de la varianza en el intervalo con 3,61 (mm) en 72 horas.

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la Clorhexidina a la exposición de 48 horas $P = 0,001$; con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir las 20 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 3

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, en 24 ,48 y 72 horas



Fuente propia del investigador

5.2. Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

Tabla Nª 4

Cuadro de halo de inhibición in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% en 24 ,48 y 72 horas sobre cepa de Streptococcus mutans

Aceite orgánico de Cocos Nucifera (Mm)				
		24 horas	48 horas	72 horas
ANOVA	Concentración de 50% (mm) (Sig.)	0,007	0,130	0,628
$\alpha < 0,05$				

Fuente: propia del investigador

H0: El aceite de cocos Nucifera al 50% no posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

H1: El aceite de cocos Nucifera al 50% si posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($\alpha < 0,05$). En la concentración al 50%; $P=0,007$ en el aceite orgánico de Cocos Nucifera en la exposición de 24 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 20 muestras realizadas en el laboratorio. Se acepta la alternativa H1

Tabla N^o 5

Cuadro de halo de inhibición in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% en 24 ,48 y 72 horas sobre cepa de Streptococcus mutans

		Aceite orgánico de Cocos Nucifera (Mm)		
		24 horas	48 horas	72 horas
ANOVA	Concentración de 100% (mm) (Sig.)	0,013	0,000	0,028
		$\alpha < 0,05$		

Fuente: propia del investigador

H0: El aceite de coco Nucifera al 100% no posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

H1: El aceite de coco Nucifera al 100% si posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($\alpha < 0,05$). En la concentración al 100%; $P=0,00$ en el aceite orgánico de Cocos Nucifera en la exposición de 48 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 20 muestras realizadas en el laboratorio. Se acepta la alternativa H1.

Tabla N^a 6

Cuadro de halo de inhibición in vitro del efecto antibacteriano del grupo control en 24 ,48 y 72 horas sobre cepa de Streptococcus mutans

	Clorhexidina 0.12%			Agua destilada
	24 horas	48 horas	72 horas	
ANOVA	0,037	0,001	0,017	0
$\alpha= 0.05$				

Fuente: propia del investigador

H0: El grupo control no posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

H1: El grupo control si posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($\alpha<0,05$). En el grupo control (clorhexidina 0.12%) $p=0,001$ se obtuvo a las 48 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 20 muestras realizadas en el laboratorio. Se acepta la alternativa

5.4 Discusión

En el presente estudio de investigación de tipo experimental y longitudinal se estudió el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico Cocos Nucífera sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Al respecto de los resultados del presente estudio se observa en las muestras de estudio in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucífera que en 24 horas presentó un halo de inhibición de 16,65 mm en concentraciones al 50 % encontrándose los valores por encima del estudio de **Richani F. (2015)** que presentó en sus resultados un halo de inhibición del aceite coco entre 14 y 16 mm mientras que **Torres A. (2017)** encontró un halo de inhibición de 11,17 mm. Asimismo **Alberca S. y Colca S. (2018)** obtuvo un halo de inhibición de 12,8 mm estimando sus valores por debajo de nuestro estudio.

Se observa en las muestra de estudio in vitro del efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucífera que en 24 horas presentó un halo de inhibición de 18,0 mm en concentraciones al 100 % mientras que **Torres A. (2017)** presentó un halo de inhibición 12,96 mm al 100% estimando sus valores por debajo de nuestros resultados. Sin embargo en otros estudio como el de **Vasquez GP. (2018)** cuando la concentración del aceite de Cocos Nucífera es al 75% mostraron que el halo de inhibición fue de 22mm respectivamente.

En otros estudios **Real A. (2017)** determina que el aceite de coco tiene una efectividad de un 85% en reducción de placa bacteriana demostrando así su eficacia contra diversos patógenos incluidos el *Streptococcus mutans* teniendo semejanza con nuestro estudio en la efectividad antibacteriana de esta

sustancia contra patógenos de la cavidad oral. Mientras que en los estudios de **Kaushik M. et al (2016)** confirman esta efectividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus mutans* tanto en el aceite de coco como en la clorhexidina. Siendo una alternativa natural, segura y efectiva comparada con la sustancia química. Así como el estudio de **Nagilla J. et al. (2017)** donde el aceite de coco redució de manera significativa la placa bacteriana conformada por diversos patógenos incluido el *Streptococcus mutans*. En sus dos investigaciones **Peedikayil F. et al (2015 y 2016)** confirman la efectividad del aceite de coco, así como el estudio de **Pavithran V. et al (2017)** demostró que el aceite de coco comparado con aceite de sésamo y solución salina arrojó una diferencia estadísticamente significativa llegando a las mismas conclusiones de nuestro estudio.

En otros estudios **Cárdenas A. (2015)** empleó el aceite de coco para disminuir la acidez salival comparado con otros colutorios el cual obtuvo resultados satisfactorios corroboran su efecto antibacteriano en cavidad oral. Al respecto de los resultados del presente estudio se observa en las muestras de estudio in vitro del efecto antibacteriano de la Clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, que en 24 horas presentó un halo de inhibición de 18,28 mm mientras que **Torres A. (2017)** presentó un halo de inhibición de 15,47 mm estimando sus valores por debajo de nuestros resultados.

La planta de Cocos Nucífera conocida como el árbol de la vida, se localiza en las primeras ubicaciones de las especies de plantas alimenticias que son vitales para el ser humano; debido a las diversas propiedades que posee es

por ello que la presente investigación planteó la interrogante de su efectividad en microorganismos orales con el objetivo fundamental de determinar el efecto antibacteriano del aceite de Cocos Nucífera comprobándose su efectividad en diferentes concentraciones sobre las cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), considerando que este microorganismo es el principal iniciador del origen de la caries dental, encontrándose presente en la placa bacteriana siendo uno de los productores de ácidos que producen la erosión del esmalte produciendo lesiones en estas estructuras. En la actualidad en el mundo se está consolidando la conciencia sobre la necesidad de usar productos de origen natural en la terapéutica humana, por consiguiente, la Organización Mundial de la Salud, pone énfasis en la medicina tradicional y elementos terapéuticos naturales de reconocida aplicación lo cual se ha estado realizando en muchas partes del mundo incluidos en el Perú siendo un gran avance en las ciencias de la salud.

CONCLUSIONES

- El aceite orgánico Cocos Nucífera en sus diferentes concentraciones tuvo mayor efecto antibacteriano sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- El aceite orgánico Cocos Nucífera al 50% a las 24 horas fue más efectivo sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)
- El aceite orgánico de Cocos Nucífera al 100% tuvo efecto antibacteriano sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 48 horas
- El grupo control (clorhexidina al 0.12%) fue más efectivo sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 48 horas

RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios del efecto antimicrobiano del aceite orgánico de Cocos Nucífera en otras concentraciones, para evaluar la variación de inhibición del crecimiento bacteriano.
- Desarrollar otras investigaciones para comparar con diferentes sustancias el efecto antimicrobiano del aceite orgánico de Cocos Nucífera.
- Realizar charlas acerca de los beneficios del aceite orgánico de Cocos Nucífera en la salud oral.
- Investigar sobre el efecto antibacteriano del aceite orgánico de Cocos Nucífera sobre otras cepas bacterianas pudiendo ser considerada una alternativa en la prevención de la formación de lesiones cariosas.
- Ante la efectividad antibacteriana del aceite orgánico de Cocos Nucífera sería recomendable realizar estudios in vivo de este producto natural como principio activo en pastas dentales, colutorios o cremas antisépticas.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Cárdenas A. Efecto del oil pulling con aceite de coco virgen prensado al frío y el colutorio de bicarbonato en el pH ácido de pacientes adultos. [Tesis para obtener el título profesional] Arequipa. Universidad Católica de Santa María. 2015.
2. Real A. Beneficios de la utilización del oil pulling (aceite de coco) para la reducción de placa bacteriana en los niños de sexto año de la unidad educativa Rosa Zarate de la comunidad de San José Puñachizac del Cantón Quero. [Tesis para obtener el título profesional] Ambato. Universidad Regional Autónoma de los Andes. 2017.
3. Oral Health: 11th IADR World Congress on Preventive Dentistry; New World Health Organization, October 2017 [Internet] consulted November 2018 disponible en: www.who.int/oral_health/events/world-congress_preventive-dentistry-october-2017/en/
4. Ministerio de Salud: nota de prensa; [Internet] consultado noviembre 2018 disponible en: www.gob.pe/intitucion/minsa/noticias/13055-minsa-85-de-niños-menores-de-11-anos-tiene-caries-dental-por-inad
5. Richani F. Efecto del aceite de coco sobre el crecimiento del estreptococos mutans in vitro. [Tesis] Barbura. Universidad de Carabobo. 2015. Disponible en: [http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/2774/frichani.pdf?sequence=](http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/2774/frichani.pdf?sequence=1)

6. Torres A. Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de estreptococos mutans. Estudio in vitro. [Tesis para obtener el título profesional] Quito. Universidad central de Ecuador. 2017
7. Alberca S. et al. Evaluación in vitro de la actividad bacteriana de los aceites y extractos metanólicos de sésamo, coco y girasol sobre cepas de *Streptococcus mutans*. [Tesis para obtener el título profesional] Lima. 2018.
8. Corro E. Prácticas de higiene no tradicional en comunidades indígenas. [Tesis para obtener el título profesional] Xalapa. Universidad Veracruzana. 2015.
9. Kaushik M. et al. The effect of coconut oil pulling on *Streptococcus mutans* count in saliva in comparison with chlorhexidine mouth wash. *J Contemp Dent Pract* [internet]. 2016. [citado julio 2018] 17(1) 36-41. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27084861>
10. Peddlkayil F. et al. Effect of coconut oil in plaque related gingivitis a preliminary report. *Niger Med J*. [internet]. 2015 [citado julio 2018] 56(2): 143-147. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=peddikayil+coconut+effect+gingivitis>
11. Lemos JA, Quivey RG, Koo H, Abranches J. *Streptococcus mutans*: anew gram positive paradigm. *Microbiology*. [internet]. 2013 [citado julio 2018] 159(3): 436-445. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083656/>
12. Peedikayil F. et al. Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on *Streptococcus mutans*: An *in vivo* study, *J Int Soc Prev*

- Community Dent, [internet]. 2016. [citado julio 2018] 6(5): 447-452.
Disponibile en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5109859/>
13. Nagilla J. et al. Comparative Evaluation of antiplaque efficacy of coconut oil pulling and a placebo, Among Dental College Students: A Randomized Controlled Trial. J Clinic Diang Res. [internet]. 2017. [citado julio 2018]. 11(9): 08-11. Disponibile en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5713846/>
14. Pavithran V. et al. The effect of oil pulling with pure coconut oil on *Streptococcus mutans*: A randomized controlled trial; J. Indian Assoc Public Health Dent [internet]. 2017. [citado julio 2018]; 15(3): 200-204. Disponibile en: <http://www.jiaphd.org/article.asp?issn=2319-5932;year=2017;volume=15;issue=3;spage=200;epage=204;aualast=Pavithran>
15. Priyank H. et al. Effect of oil pulling on *Streptococcus Mutans* in Saliva a randomised, controlled, triple blind in vivo study; Internacional Journal of Contemporary Medical Research; [internet]. 2017. [citado julio 2018] 4(9): 2011-2015. Disponibile en: https://www.ijcmr.com/uploads/7/7/4/6/77464738/ijcmr_1689_v2_1.pdf
16. Vásquez GP. Efecto antibacteriano in vitro del aceite de cocus nucifera sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] 2018. Disponibile en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11078?show=full>
17. Zaragosa J. Propuestas tecnológicas post cosecha para un aprovechamiento integral de coco. [tesis para titulación] Iquitos. Universidad Nacional de de la Amazonia Peruana. 2013

18. Shanbhag VK. Oil pulling for maintaining oral hygiene. A review. J.Tradit Complement Med. [internet]. 2016. [citado julio 2018] 7(1) 106-109. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5198813/>
19. Mustafa N. et al. oil pulling and importance of traditional medicine in oral health maintenance. IJHS. [internet]. 2017. [citado julio 2018] 11(4) 65-70. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5654187/>
20. Martinez V. El coco como alimento. Botanical-online [Internet] 2018 [noviembre 2018] disponible en: www.botanical_online.com/coco_fruta.htm
21. Bolivar G Lifer.com [internet].; 2019 Abril 25 [28 de mayo] disponible en: <https://www.lifer.com/acido-laurico/>
22. Manisha Debmandal, Shyamapada Mandal. Coconut (coconucifera L. Arecaceae) in health promotion and disease prevention. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. [internet]. 2011. [citado julio 2018] 2011. 241- 247. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764511600783?via%3Dihub>
23. Ojeda J. et al. Streptococcus mutans y caries dental. Revista ces Odontológica. [internet]. 2013. [citado julio 2018] 26(1) 44-56. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
24. Graciano M. et al. Streptococcus mutans y caries dental en América latina y revisión sistemática de la literatura. Revista nacional de odontología. [internet]. 2012. [citado julio 2018] 8(14) 32- 45. Disponible en: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/od/article/view/282>

25. Donayre M. y Lao R. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas y tallo de *Clidadium surinamense* L. (Huaca) mediante el método de difusión en Disco (Kirby-Bauer). [Tesis para obtener el título profesional]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2013
26. Estévez B. Biosíntesis y caracterización de NPs de Ag con *Eysenhardtia polystachya* (palo azul) y su inhibición sobre el crecimiento de *Clostridium* sp. [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma del Estado de México; 2017
27. García S. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Y *Staphylococcus aureus* ATCC25923. [Tesis para obtener el grado de Médico Cirujano]. Trujillo- Perú. Universidad Privada Atenor Orrego. 2015.
28. Aguirre A. Cerda S. Rojas C. Procesamiento del coco [tesis] México, Universidad Autónoma Metropolitana, 2016.
29. Sacsquispe R. Velasquez I. Manual de procedimiento para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud 2002

ANEXOS

Anexo N° 1: Carta de presentación

 **UAP** **UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS**
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Pueblo Libre, 17 de diciembre de 2018

Mg. Biga AQUJE DAPOZZO, CARMEN LUISA
Jefa del Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas

De mi consideración

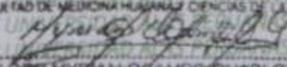
Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a la egresada **VILLALTA ANDIA, SHIRLEY FIORELLA**, con código **2011209107**, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud Universidad Alas Peruanas, quien necesita recabar información en el área que usted dirige para el desarrollo del trabajo de investigación (tesis):

TITULO: "ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ORGÁNICO DE COCOS NUCÍFERA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175)"

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 a la presente.

Atentamente,


HELDER MYRIAM DE CAMPO GUABLOCHE
DIRECTORA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Anexo N° 2: Constancia de desarrollo de la investigación



FACULTAD DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

Pueblo Libre, 27 de Junio del 2019

CONSTANCIA DE EJECUCION DEL PROYECTO DE INVESTIGACION

DRA. MYRIAM OCAMPO GUABLOCHE
DIRECTORA DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

Sra. SHIRLEY FIORELLA VILLALTA ANDIA, Bachiller en la Facultad de Estomatología, Código 2011209107.

Quien ha realizado la recolección de datos del tema de investigación titulado:

ESTUDIO IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ORGÁNICO DE COCOS NUCIFERA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC25175)

Durante el periodo de los días: 17 al 26 de Abril del 2019. Demostrando la responsabilidad en el desarrollo de su investigación, para la obtención del título profesional bajo su supervisión de la Mg. CARMEN LUISA AQUJE DAPOZZO, jefe de Laboratorio de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas

Se otorga la presente constancia para fines que el interesado considere conveniente.

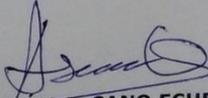
Atentamente

Mg. CARMEN LUISA AQUJE DAPOZZO

UAP UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS

Mg. CARMEN LUISA DAPOZZO
JEFE DEL LABORATORIO CENTRAL
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Anexo N° 3: Certificado de determinación taxonómica

 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO	 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO MUSEO DE HISTORIA NATURAL	
<p><i>"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"</i></p>		
<h3>CONSTANCIA N° 165-USM-2019</h3>		
<p>EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (fruto) recibida Shirley Fiorella Villalta Andia; ha sido estudiada y clasificada como: <i>Cocos nucifera</i> L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</p>		
<p>CLASE: LILIOPSIDA</p>		
<p>SUBCLASE: ARECIDAE</p>		
<p>ORDEN: ARECALES</p>		
<p>FAMILIA: ARECACEAE</p>		
<p>GENERO: <i>Cocos</i></p>		
<p>ESPECIE: <i>Cocos nucifera</i> L.</p>		
<p>N.V.: "Coco" Determinado por Mag. María Isabel La Torre</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.</p>		
<p>Lima, 22 de mayo de 2019</p>		
<p>ACE/ddb</p>	 <p>JEFE</p>	 Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo N° 4: Certificado de aceite orgánico de Cocos Nucifera

ROVILL INGENIEROS PROYECTOS – AGROINDUSTRIAL
Servicio y Tecnología DISEÑO Y CONSTRUCCION DE EQUIPOS
Celular: 975-398-221 De: **Pedro Romero y Otiniano**
Jr. Zepita N° 585. Cercado de Lima. Teléfono: 704-3504. Email: pedroromero@yahoo.es

Lima, 27 de marzo del 2019

CONSTANCIA

Por la presente Yo, Ing. PEDRO ROMERO Y OTINIANO con Reg. CIP N°: 105923, Profesor de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, dejo constancia de haber realizado el Proceso de Extracción de Aceite Orgánico de Coco en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad a pedido y en colaboración con la Bachiller SHIRLEY FIORELLA VILLALTA ANDIA, que se encuentra elaborando la Tesis: “Estudio in vitro del Efecto Antibacteriano del Aceite Orgánico de Coco Nucifera sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC ® 25175), de la UNIVERSIDAD PRIVADA ALAS PERUANAS; la interesada proporcionó la materia prima; la que fue sometida a un proceso de Secado y reducción de tamaño, principalmente para lograr mayor área de contacto en el Prensado y poder procesar mayor cantidad de materia prima y poder obtener mayor cantidad de aceite.

El equipo utilizado es un sistema diseñado y acondicionado a partir de una Prensa Hidráulica con un Cilindro de acero inoxidable para obtener Aceites vegetales a Nivel Piloto, en condiciones y cantidades optimas, es decir cantidades mínimas apropiadas para poder cuantificar y evaluar cualquier especie vegetal con contenido de aceites.

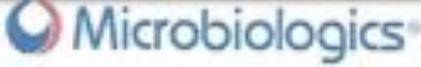
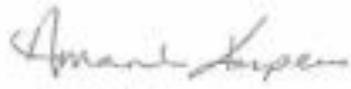
Se procesó 2 kg de muestra de Coco Secado previamente, se proceso en el equipo de extracción, obteniéndose 20 mL de aceite (1.0%).

Se remite el presente documento para los fines que el interesado crea conveniente.

Atentamente,


Ing. Pedro Romero y Otiniano
Código Docente: 0A1222
UNMSM-FQIQ

Anexo N° 5: Certificado de cepa

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: <i>Streptococcus mutans</i> Catalog Number: 0256 Lot Number: 255-25** Reference Number: ATCC® 25175™** Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2020/2/29 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2018/3/13
Performance	
Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive coccid to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains.	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<p><small>**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 base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitrek®: Although the Vitrek® 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.</small></p> <p><small>▲ Refer to the enclosed product insert for restrictions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p>	
 <p>ATCC Licensed Derivative</p> 	<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> <p>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p>

Anexo N° 7: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA	POBLACION Y MUESTRA
<p>Problema principal</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175)?</p> <p>Problemas secundarios</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 50% sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del grupo control sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175)</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico Cocos Nucifera al 50% sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.</p> <p>Analizar el efecto antibacteriano in vitro del aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.</p> <p>Observar el efecto antibacteriano in vitro del grupo control sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas</p>	<p>Hipótesis principal</p> <p>El aceite orgánico de Cocos Nucifera tiene efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans (ATCC 25175).</p> <p>Hipótesis derivadas:</p> <p>El aceite orgánico Cocos Nucifera al 50% posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.</p> <p>El aceite orgánico de Cocos Nucifera al 100% posee efecto antibacteriano sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas.</p> <p>El grupo control posee efecto antibacteriano sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) en 24, 48 y 72 horas</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cepa de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC25175). ✓ <i>Aceite orgánico de coco</i> 	<p>Tipo de investigación:</p> <p>El presente es un estudio es de tipo experimental, longitudinal, analítico y prospectivo</p>	<p>Población:</p> <p>La población está conformada por un número infinito de bacterias de la cepa de estreptococcus mutans.</p> <p>La muestra fue calculada por estimación media y considerando criterios de inclusión y exclusión</p> <p><u>Criterios de inclusión</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC25175) puras sin contaminación ✓ Muestras de aceite de coco a las concentraciones de 50% y 100% <p><u>Criterios de exclusión</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Cepas con contaminación durante el procedimiento experimental ✓ Placas Petri con defectos de fabricación

Anexo 8:

REGISTRO FOTOGRÁFICO



