



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA HOJA DE LA
GUAYABA Y CLORHEXIDINA SOBRE EL
STREPTOCOCCUS MUTANS, LA LIBERTAD, TRUJILLO,
2017

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

AUTOR(A):

Bach. MONTENEGRO PAREJA DAVID DANIEL

ASESOR(A):

Mgtr. BERMEJO TERRONES ALAN MAYKOL

CHIMBOTE – PERÚ
2019

Título

**“EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA HOJA DE LA
GUAYABA Y CLORHEXIDINA SOBRE EL STREPTOCOCCUS
MUTANS, LA LIBERTAD, TRUJILLO, 2017”**

HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

DR. ELIAS ERNESTO AGUIRRE SIANCAS
PRESIDENTE

Mgtr. ADOLFO SAN MIGUEL ARCE
MIEMBRO

Mgtr. SALLY CASTILLO BLAZ
MIEMBRO

Mgtr. BERMEJO TERRONES ALAN MAYKOL
ASESOR

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme las fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mis Padres por demostrarme que son ejemplares me han enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mis hermanos por su apoyo incondicional y por demostrarme la gran fe que tiene en mí y por sus buenos deseos y consejos.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional. A mi padre que siempre estás conmigo sé que este momento es muy especial tanto para mí como para ti. A mis hermanos siempre estuvieron los consejos de seguir adelante y luchar por esta meta.

RESUMEN

La investigación tuvo el objetivo de evaluar la efectividad antimicrobiana de la hoja de la guayaba y la Clorhexidina a concentraciones mínimas inhibitorias frente al *Streptococcus mutans* mediante un estudio cuantitativo, de nivel explicativo, longitudinal, analítico, prospectivo y experimental, se realizó en 8 tubos de ensayo donde se cultivó la bacteria *Streptococcus mutans* (SM.), y extracto etanolico en varias concentración 32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml ,la unidad de análisis estuvo conformada por cultivos de las cepas de *Streptococcus mutans* del laboratorio de la Facultad de Medicina (UNT), obteniéndose lo siguiente: Se evaluó la efectividad antibacteriana en mínima concentración inhibitoria de la hoja de la guayaba natural frente al *Streptococcus mutans* dándonos como resultados que la CMI es al 0.50mg/ml y la concentración mínima bactericida CMB 0.25mg/ml. Como control estuvo la clorhexidina al 0.12 % fue positivo dando como resultado unos halos de inhibición de 14mm en los 8 discos.

Palabras clave: Antibacteriano, Psidium Guajava, *Streptococcus mutans*, clorhexidina

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the antimicrobial effectiveness of guava leaf and Chlorhexidine at minimum inhibitory concentrations against *Streptococcus mutans* by means of a quantitative, of explanatory level, longitudinal, analytical, prospective and experimental study. A test in which the bacteria *Streptococcus mutans* (SM) and ethanol extract were grown in various concentrations 32 mg / ml, 16 mg / ml, 8 mg / ml, 4 mg / ml, 2 mg / ml, 0.5 mg / ml, 0.25 mg / ml, the analysis unit consisted of cultures of *Streptococcus mutans* strains from the Faculty of Medicine of the National (UNT), obtaining the following: The antibacterial efficacy was evaluated in minimum inhibitory concentration of the leaf of the natural guava against *Streptococcus mutans* resulting in that the MIC is at 0.50 mg / ml and the minimum bactericidal concentration CMB 0.25 mg / ml. As a control, 0.12% chlorhexidine was positive, resulting in inhibition halos of 14 mm on all 8 disks.

Key words: Antibacterial, *Psidium Guajava*, *Streptococcus mutans*, chlorhexidine

CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iii
3. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	iv
4. Resumen y abstract.....	vi
5. Contenido.....	viii
6. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
III. HIPÓTESIS.....	31
IV. METODOLOGÍA.....	32
4.1 Diseño de investigación.....	32
4.2 Población y muestra.....	32
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	35
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	35
4.5 Plan de análisis.....	41
4.6 Matriz de consistencia.....	42
4.7 Principios éticos.....	42
V. RESULTADOS.....	43
5.1 Resultados.....	43
5.2 Análisis de resultados.....	46
VI. CONCLUSIONES.....	49
6.1 Conclusiones.....	49
6.2 Recomendaciones.....	50
Referencias bibliográficas.....	51
Anexos.....	58

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1:

ESTANDARIZACIÓN DE TURBIDEZ EN NTU PARA LAS
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA
GUAYABA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS.....43

TABLA 2:

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS CONCENTRACIONES DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA (psidium guajava) Y
GRUPO CONTROL SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175
SEGÚN TURBIDEZ(NTU).....44

TABLA3:

ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA COMPARANDO EL GRADO DE
TURBIDEZ (NTU)45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1:

ESTANDARIZACIÓN DE TURBIDEZ EN NTU PARA LAS
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA
GUAYABA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS.....43

GRÁFICO N° 2:

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS CONCENTRACIONES DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA (psidium guajava) Y
GRUPO CONTROL SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175
SEGÚN TURBIDEZ(NTU).....44

GRÁFICO N° 3:

ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA COMPARANDO EL GRADO DE
TURBIDEZ (NTU)45

I. INTRODUCCIÓN

Los actuales medicamentos a base de plantas medicinales tienen un enorme poder a la gran mayoría de procedimientos químicos. En casi todas las plantas su principio activo es hallado biológicamente equilibrados con la aparición de elementos complementarios, y van a potenciarse entre sí, para que no se acumulen en el organismo, sus consecuencias que son peligrosas están restringidas. Pero, a pesar de que han incrementado las indagaciones y estudios científicos de plantas medicinales, aún no han averiguado mucho sobre los principios activos de las plantas y sus cualidades, para curar las enfermedades que aquejan mayormente a las personas.^{1,2}

Los microorganismos más patógenos causantes de muchas enfermedades se encuentran muy cercanos al ser humano, conviven con nuestro organismo, siendo una de las zonas con mayor porcentaje de microorganismos la cavidad oral, y es ahí donde se manifiestan diversas enfermedades altamente prevalentes como caries dental y enfermedad periodontal.³

Dado nuestra cultura ancestral de uso de plantas medicinales no solo en la salud general sino también en su aplicación en la salud bucal es destacable la diversidad de productos naturales que, por sus propiedades nutritivas y medicinales, han sido utilizadas por mucho tiempo.⁴

En el Perú, dentro de los claustros universitarios, se han realizado diversos estudios sobre nuestras plantas medicinales, comprobándose las propiedades con diversos componentes: antihemorrágicas, antiinflamatorias, analgésicas, antibacterianas, entre otros.

Muchas de ellas se utilizan dentro del área odontológica a través de enjuagues o pastas dentales, sin embargo, se resalta que, debido a la extensa biodiversidad, queda pendiente muchas plantas que no han sido estudiadas o recién han comenzado a evaluarlas buscando efectos antibacterianos contra patógenos de cavidad oral.⁴

Es adecuado referir que la OMS llamó la atención para: que los países aumenten sus empeños en poder examinar la potencia antimicrobiana; incentivar y apoyar a las políticas nacionales el crecimiento razonable para el uso probable de antimicrobianos, extender otros procedimientos de comunicación para conseguir e intervenir en todos los antecedentes de resistencia en patógenos específicos y de antimicrobianos y continuar promoviendo las investigaciones y el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos.⁵

Mediante las investigaciones, la medicina natural a partir de plantas y sus propiedades antimicrobianas han ido comprobando una serie de propiedades de compuestos como los polifenoles o a través de aceites esenciales que van confirmando que son buenos para combatir agentes patógenos como *Staphylococcus aureus* resistentes y además otras bacterias bucales como *S. mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, entre otros.⁶

Hay cientos de especies de bacterias que habitan la cavidad oral causando enfermedades orales destructivas, y muchos productos naturales se han utilizado en el pasado por sus efectos antibacteriano, por lo que actualmente se realizan

investigaciones en nuestro país acerca del uso de estos productos ya sea para la prevención o para la eliminación de las enfermedades bucodentales relacionadas con la placa como la caries dental o la enfermedad periodontal.^{7,8}

Las enfermedades orales están presentes y relevantes en salud pública a nivel mundial. Principalmente se conoce que la caries dental es un trastorno común. Suele aparecer en los niños y en los adultos jóvenes, pero puede afectar a cualquier persona. Es una causa común de pérdida de los dientes en las personas más jóvenes.⁹

Las bacterias que se encuentran en la boca convierten los alimentos, especialmente los azúcares y almidones, en ácidos, las bacterias, el ácido, los restos de comida y la saliva se combinan para formar una sustancia pegajosa llamada placa bacteriana que se adhiere a los dientes, más en los molares posteriores, margen gingival y en las obturaciones, al cabo de 20 minutos después de comer, comenzará acidularse y se dará inicio a un proceso de caries, los ácidos dañan el esmalte que cubre los dientes.¹⁰

La placa dental es el factor principal en muchos problemas de salud oral. Las propiedades antiplaca de hojas de guayaba son eficaces en la prevención y tratamiento de problemas orales. Los herbolarios recomiendan el uso de hojas tiernas de la guayaba en forma de dejar su aliento fresco y limpio.¹¹

Estas hojas tienen propiedades antiinflamatorias, analgésicas y propiedades antimicrobianas que ayudan a reducir la inflamación de las encías y dolores de muelas, úlceras orales.

También puede utilizar las ramas de los árboles de guayaba como un cepillo de dientes o como un palo de mascar para la limpieza de los dientes; se recomienda realizar la infusión de las hojas y realizar lavados bucales.

Por su alto contenido de hierro y proteínas, la guayaba es una excelente reconstituyente, por tal razón el consumo frecuente de esta fruta es indicada en tratamientos contra algunas afecciones nerviosas.¹²

La clorhexidina es un antiséptico y desinfectante biguanídico con acción frente a una amplia gama de bacterias grampositivas y gramnegativas, anaerobios facultativos, aerobios y levaduras. Algunas especies de pseudomonas y proteus tienen baja sensibilidad. Es ineficaz frente a micobacterias a baja concentración es bacteriostático; a concentración más elevada se comporta como bactericida.¹³

En la actualidad la caries dental es la enfermedad infectocontagiosa más prevalente de la humanidad. Es responsable de la pérdida de piezas dentarias, lo cual repercute de modo negativo en la función masticatoria, también mal aliento, como también influye mucho en la estética y esto produce problemas psicológicos.

Si bien es cierto hay muchas formas de poder contrarrestar este problema, sin embargo, sabemos que también es una enfermedad de origen bacteriano

multifactorial como el huésped en este caso a la saliva y el factor genético, los microorganismos como el *Streptococcus mutans* de gran poder cariogénico, hubo muchos estudios de como contrarrestar la prevalencia de la caries dental entre otros productos, pero la prevalencia de caries dental no baja y más del 90 % de población siguen con el problema.

Es por ello que el objetivo es buscar nuevas alternativas sabiendo que en la actualidad se encuentra relevante el uso de la aplicación de las plantas medicinales que poseen propiedades antibacterianas haciendo una comparación de dos productos la hoja de la guayaba y la clorhexidina en bajas concentraciones contra el *Streptococcus mutans*.¹⁴

Por lo expuesto fue necesario evaluar el grado de efectividad de la hoja de Guayaba contrastándola con la Clorhexidina para limitar al *Streptococcus Mutans*

Para ello el enunciado del problema fue ¿Cuál es el grado de efectividad de la hoja de la guayaba en comparación de la clorhexidina en mínimas concentraciones frente al *Streptococcus mutans*?

El objetivo general consistió en: Determinar su efectividad antimicrobiana a baja concentración inhibitoria de la hoja de la guayaba y clorhexidina frente al *Streptococcus mutans*. Y los objetivos específicos fueron para: Evaluar la efectividad del extracto de la guayaba frente al *Streptococcus mutans* a baja concentración inhibitoria. Y evaluar la efectividad de la clorhexidina frente al *Streptococcus mutans* a baja concentración inhibitoria.

La investigación se justifica puesto que en la actualidad el uso y la aplicación de plantas medicinales se ha convertido en una importante alternativa, ya que poseen diversas propiedades antibacterianas que pueden ser utilizadas en el área de odontología para controlar diversas enfermedades de la cavidad oral.

Siendo la caries una enfermedad de alto rango de prevalencia en la comunidad, es por ello que se analiza dos agentes uno que es la hoja de la guayaba y otra que es la clorhexidina a baja concentraciones inhibitorias que tienen propiedades antibacterianas. Por otro lado, esta planta ya ha sido estudiada y derivadas para diversas enfermedades obteniendo resultados muy efectivos.

Sin embargo, no existen estudios anteriores donde determinen la efectividad de la hoja de la guayaba y la clorhexidina en concentraciones mínimas inhibitorias frente a la caries (el *Streptococcus mutans*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Neira (Colombia, 2015)¹⁵. La investigación tuvo título “Actividad antibacteriana de extractos dos especies de guayaba contra *Streptococcus mutans* y *Escherichia coli*” como objetivo fue determinar el mayor extracto etanolico crudo de guayaba y la efectividad frente al *Streptococcus mutans*. Como material y métodos; Se colectaron frutos frescos sanos, y hojas de guayaba en variedad roja regional y choba en el municipio de Moniquirá (Boyacá) y en municipio de Raquira (Boyacá) y fueron identificadas por el Curador del Herbario Nacional Colombiano con número de colección 498195 y 495197, respectivamente. Para este estudio se analizó la cáscara del fruto en estado de madurez, verde, pintón y hojas de las especies *Psidium guajava* L y *Psidium guineense* Sw. Se determinó la función antimicrobiana de varios extractos de *Psidium guajava* L & *Psidium guineense* Sw contra las bacterias *Streptococcus mutans* ATCC 31089, aislada de paciente. Como resultados obtenidos indican alta actividad antimicrobiana de los extractos etanolitos crudos y las fracciones acetato de etilo llegando a la conclusión, los extractos crudos de cáscara pintona seca de guayaba y hojas choba poseen actividad antimicrobiana significativa frente a las dos cepas de (*S mutans*). A los polifenoles en general se le ha atribuido la actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* por sus propiedades de astringencia ya que para que se produzca la caries dental se necesita de la adhesión del *S. mutans* al diente en un proceso que puede estar mediado por proteínas de la bacteria y de la saliva; los polifenoles al inhibir este proceso actúan como anticaries.

Miranda-Cruz (México-2012)¹⁶ El siguiente estudio tuvo como título, Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L, *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea*. Como Objetivo de la investigación fue determinar la función antimicrobiana del extracto etanólico, hexánico de hojas y de cáscara de cuatro especies con uso medicinal tradicional en materiales y métodos. Se calculó la actividad antimicrobiana de cada extracto etanólico y hexánico de hojas y cortezas medicamentoso: guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* L.), palo de sangre (*Pterocarpus hayesii* L.), chichimecate (*Tynanthus guatemalensis* L.) y ciruela (*Spondias purpurea* L.). La actividad antimicrobiana se determinó contra el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Bacillus cereus* ATCC 11778 mediante el procedimiento de expansión en el agar. Como resultados indicaron que el extracto hexánico de cada una de las plantas mostraron acción antimicrobiana en uno de los microorganismos tasados durante que los extractos hexánicos de cáscara no presentó ninguna función contra ninguno de los 3 microorganismos analizados llegando a la conclusión que el extracto que mostro una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) igual o menor de 7.50 mg mL⁻¹ contra *B. cereus* corresponden a los etanólicos de hoja de *P. friedrichsthalianum* y *S. purpurea* y el hexánico de hoja de *T. guatemalensis* así también el extracto hexánico de corteza de *P. friedrichsthalianum* contra *S. aureus* y *S. typhimurium*.

Lourenção (Brasil 2012)¹⁷. El estudio tuvo como título “Efecto del extracto foliar de *Psidium cattleianum* sobre la desmineralización del esmalte y la composición del biofilm dental *in situ*”. Como Objetivo fue de evaluar el efecto de *P. cattleianum* Extracto de hoja en la desmineralización del esmalte, formación de polisacáridos extracelulares, y la composición microbiana de los biofilms dentales formadas *in situ*. Los Materiales y métodos, cada voluntario goteaba 20% de sacarosa 8 veces al día en los bloques de esmalte. Dos veces al día, se goteó agua desionizada (control negativo), extracto, o un enjuague bucal comercial (control activo) después de la aplicación de sacarosa. En los días 12 y 13 del experimento, se midió la acidogenicidad de la placa con un microelectrodo y se calculó la caída del pH. Resultados; En el día 14, se recogieron los biofilmes y se evaluaron los microorganismos anaeróbicos totales (TM), los Streptococcus totales (ST), los *Streptococcus mutans* (MS) y los polisacáridos extracelulares (EPS). La desmineralización del esmalte se evaluó mediante el cambio porcentual de la microdureza superficial (% Δ SMH) y la pérdida integrada de dureza subsuperficial (Δ KHN). El grupo de extractos mostró valores TM, TS, MS, EPS,% Δ SMH y Δ KHN menores que el grupo de control negativo. No hubo diferencias entre los grupos de control activo y negativo con respecto a los niveles de MS y EPS. No hubo diferencias en la caída del pH entre el extracto y los grupos control activos, aunque fueron significativamente diferentes del grupo de control negativo. Para todos los demás parámetros, el extracto difiere del grupo de control activo llegando a la conclusión que el *Psidium cattleianum* extracto de hoja presenta un efecto anticariogenico de potencial.

Rodríguez R. (Cuba 2012)¹⁸. El siguiente estudio tuvo como título, “Hojas de *Psidium guajava* L *Psidium guajava* L”. El objetivo fue evaluar el estado del arte en la utilidad de los extractos de las hojas de esta especie. Los Materiales y método se dio mediante el método de realizar una extensa revisión en bases de datos internacionales. Se revisaron las bases HighWire, DOAJ, EBSCO, Scielo, Scopus, Chemical abstract, Medline, PudMed, Pharmaceutical Abstract entre los años 1753 y 2012. Resultados: Se reportó la composición química y ensayos preclínicos y clínicos que confirman actividad antidiarreica. No se reportaron efectos tóxicos. Existen pocas formas farmacéuticas para esta especie. Llegando a la conclusión que las hojas de guayaba son inocuas, pero hay que realizar más estudios para garantizar la eficacia. Se deben preparar otras variantes terapéuticas.

Bui y (col. 2008)¹⁹, Titulo: Interacción entre el hipoclorito de sodio y el gluconato de clorhexidina. Objetivo: fue evaluar el efecto del riego de los conductos radiculares con una combinación de NaOCl y CHX en la dentina radicular y los túbulos dentinarios utilizando el microscopio electrónico de barrido ambiental (ESEM) y un programa informático. Material y métodos: Evaluaron la interacción y el resultado en la dentina radicular, en 44 piezas dentales de humanos uni radiculares extraídos que les realizaron un instrumentados e irrigados con: NaOCl y CHX para hacer un precipitado, todas las superficies de los conductos radiculares fueron analizadas con ESEM (the environmental scanning electrón microscope) la cantidad de detritos remanente, así como el resultado de túbulos comprometidos que

fueron determinado. Resultados; no se mostró desigualdad significativa entre el detrito remanente entre un conjunto de control negativo y un grupo experimental donde hubo menos resultados incluidos a comparación del grupo control. El precipitado NaOCl/CHX tiende a ocluir los túbulos dentinales.

Basrani y (col. 2007)²⁰, Título: Interacción entre el hipoclorito de sodio y el gluconato de clorhexidina, objetivo: evaluar la CMI en cambio de color. Materiales y método; en esta investigación evaluaron CMI de NaOCl necesario para preparar un precipitado con clorhexidina al 2%; fue acertada con una técnica de dilución en serie, pudiendo observar unos cambios de color y precipitado fue persuadir en la CHX al 2% por NaOCl al 0.023% y 0.19%. Resultado: Se presenció la paracloroanilina en una medida relativa a la concentración del NaOCl empleado, insinuando que hasta un mejor estudio de este precipitado debe ser esquivado, moviendo bien el NaOCl antes de colocar la CHX dentro del canal radicular.

Gamboa F, (Colombia, 2004)²¹ Título: Control microbiológico sobre *Streptococcus mutans* y su acción acidogénica. El estudio tuvo como objetivo de la revisión bibliográfica de las investigaciones realizadas en la búsqueda, la mejora y aplicación de cepas de *Streptococcus mutans* en el control microbiológico sobre cepas de *S. mutans* nativas, y por consiguiente en la prevención de la caries dental.

Los materiales y métodos realizados por Hillman y colaboradores con las cepas mutantes de *S. mutans*, JH1001, JH1005, JH1140 y BCS3-L1.

En este grupo de cepas se ha evaluado la estabilidad genética, la capacidad para colonizar y permanecer en el ambiente oral y otras características importantes para su uso en control microbiológico. Como resultados obtenidos en estos trabajos, unidos a la disponibilidad de técnicas de ingeniería genética, hacen pensar que se está muy cerca de conseguir la cepa de *S. mutans* más adecuada para realizar prevención de la caries dental.

Concluimos que el microorganismo que se utilice con este fin debe tener un potencial acidogénico bajo, no debe producir ningún daño por sí mismo, no predisponer al huésped a otras enfermedades y no desequilibrar el ecosistema en el que va a residir, el *Streptococcus mutans* es el principal factor etiológico de caries.

Ercan y (col.2004)²², Titulo: Antibacteriano del 2% de gluconato de clorhexidina y 5,25% de hipoclorito de sodio en el canal de la raíz infectado. Objetivo: efectividad antibacteriana CHX al 2% , NaOCl al 5.25% como irrigantes. Materiales y métodos cotejaron la eficacia antibacteriana del CHX al 2% , NaOCl al 5.25% utilizados como soluciones para irrigar en dientes con diagnóstico de necrosis pulpaes y patología periapical. 30 tubulos radiculares de incisivos y premolares de 20 pacientes fueron utilizados; se utilizó dos muestras, antes y después del acondicionamiento biomecánico. Los irrigantes fueron utilizados randomizadamente y separados en 2 grupos; la última muestra fue adquirida antes de la obturación final.

Los muestrarios fueron incubados en agar tripticasa soya por 5 a 7 días en un método de anaerobiosis para realizar el conteo de UFC; concluyendo que la clorhexidina y el hipoclorito de sodio fueron elocuentemente importantes para disminuir microorganismos y los dos pueden ser utilizados como exitosas soluciones irrigantes.

Lin et al (Zulu 2002)²³, Título: Evaluación antidiarreica de algunas plantas medicinales utilizadas por los curanderos tradicionales zulúes. Su principal objetivo fue demostrar que el extracto metanólico de *P. guajava* (hojas) fue el único agente que mostró actividades inhibitorias significativas contra los crecimientos de *Salmonella* spp. (Dos aislamientos), *Shigella* spp. (*S. flexneri*, *S. flexner* y *S. dysenteriae*) y *Escherichia coli* enteropatógena (dos aislamientos). En los materiales y métodos utilizamos una dosis de 400 mg / kg se administró por vía oral a cada grupo de los animales experimentales, la preparación de extractos de plantas recibió 1 ml de DMSO solamente. Después de 1 h de tratamiento, cada animal se alimentó con 1 ml de aceite de ricino por vía oral. Se observó la defecación de ratas tratadas con *P. guajava* (hoja), *Aristea* spp., *Iridaceae* en la familia durante la noche. (tallo), *B. micrantha* (corteza) y *E. bulbosa* (bulbo) se pesaron el defecado total para cada animal y recolectado en el campus de la Universidad de Zulu. Los resultados han confirmado la efectividad de todas estas plantas medicinales Zulu como agentes antidiarreicos. © 2002 Elsevier Science Ireland Ltd. Todos los derechos reservados. Concluimos que el extracto metanólico de *P. guajava* (hojas) fue el único agente que mostró actividades inhibitorias

significativas contra los crecimientos de algunos patógenos diarreogénicos en este estudio. (Lin et al 2002).

Martínez (Cuba 1997)²⁴ Título: Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). Objetivo: efectuar actividad antibacteriana en extractos fluidos, como materiales y métodos utilizaron un extracto fluido de hojas de *Psidium guajava*, el extracto se obtuvo por medio del método de percolación y reperlación, también se utilizaron cepas de microorganismo, medios de cultivos, medio antibiótico y para la levadura medio Sabouraud (oxoid), se colocó en autoclave en 121 °C durante un tiempo de 20 min. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h y después se evaluaron los resultados mediante la lectura en milímetros de diámetro del halo de inhibición en ciertos microorganismos como resultado. El extracto hidroalcohólico de 40 % se obtuvo un resultado característico con el *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Martínez-1997)

Pahlow, (1981)²⁵. Es una referencia más antigua del uso de las hojas de la Guayaba donde se ubica la obra de: Martín de la Cruz del siglo XVI que hace mención de antidisentérica y antitérmica. El Códice Florentino, describe su efectivo uso para tratar las infecciones diarreicas, también para muchos otros malestares, principalmente para las vómitos. Las partes de la planta que son utilizadas medicamentosamente son: los frutos, las hojas, la corteza y raíces, las principales características medicinales son: su actividad antibiótica, antidiarreica, astringente, desinflamante, expectorante, sedante y sudorífica en el procedimiento de problemas digestivos y catarras.

2.2 Bases teóricas de la investigación:

Por la cultura de los pueblos, actualmente, las hojas terapéuticas recuperan parte de la importancia que tuvieron en los primeros métodos médicos, ocurriendo un nuevo auge de las aplicaciones terapéuticas de las plantas, reconociendo al *Streptococcus mutans* como el microorganismo es trascendental en el inicio de la caries, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de ésta bacteria en la cavidad oral mediante tratamientos convencionales o naturales. En tal sentido, el uso de antimicrobianos y antisépticos, principalmente de uso tópico o local, se ha hecho conjuntamente con las técnicas de cepillado para lograr la eliminación de la placa dentobacteriana.²⁶

La medicina tradicional está siendo complementada por la medicina natural, caso de los elementos químicos de las hojas de guayaba, ya que estas hojas tienen: aceite esencial rico en cariofileno, nerolidiol, 3-bisaboleno. También han podido detectar que el beta-sitosterol, triterpenoides, ácidos oleanólico, ursólico, y guayavólico; 10 % de taninos producido del ácido elógico y los flavonoides quercetina y quercitín-3- arabinósido. También detectaron en la raíz leucocianidinas, esteroides y ácido gálico.²⁷

HOJA DE LA GUAYABA

Psidium guajava, es de vital importancia en la alimentación, es una planta medicinal en países tropicales y subtropicales se utiliza ampliamente como alimento y en medicina el mundo.

Lo que apunta a una amplia gama de los componentes químicos, farmacológicos y temas clínicos. Se han utilizados en diferentes experimentos farmacológicos en varios modelos in vitro e in vivo.²⁷

También se han identificado los fito-constituyentes medicinalmente importante. Se ha demostrado que varios metabolitos tienen buen rendimiento y algunos tienen actividades biológicas útiles que pertenecen principalmente a fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenoides y triterpenos.²⁷

Los extractos de esta planta, en particular los de las hojas y los frutos, poseen actividades farmacológicas útiles. Una investigación de la literatura muestra P. La guajava es conocida principalmente por sus propiedades antiespasmódicas y antimicrobianas en el tratamiento de la diarrea y la disentería. También se ha usado ampliamente como un agente hipoglucemiante.²⁷

Muchas investigaciones farmacológicas han demostrado la capacidad de esta planta para exhibir actividades antioxidantes, hepatoprotección, antialérgicas, antimicrobianas, antigenotóxicas, antiplasmodiales, citotóxicas, antiespasmódicas, cardioactivas, antichoques, antidiabéticas, antiinflamatorias y antinociceptivas, respaldando sus utilizaciones tradicionales. Sugiere una amplia gama de aplicaciones clínicas para el tratamiento de enteritis rotaviral infantil, diarrea y diabetes.²⁷

Los extractos arboles vegetales están agrupados y clasificados como sustancias aromáticas y saborizantes, en el que se incluyen diversas sustancias de origen natural, como fármacos opcionales en total genero animal sin limitación de su existencia, pero sí en la dosificación del resultado.²⁸ Las frutas de *P. guajava*, son redondas en forma de pera. Tiene una cáscara delgada con muchas pepitas incrustadas en una pulpa firme o viceversa. Los componentes más importantes de la guayaba son: las vitaminas, los taninos, los compuestos fenólicos, los aceites esenciales, los flavonoides, los alcoholes y los ácidos.²⁸

La guayaba como agente antiplaca, las hojas de guayaba tienen potencial como un agente antiplaca debido a su propiedad bacteriostática al inhibir el crecimiento del *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.²⁸

También por la condición de la aparición de muchos problemas de potencia a los antibióticos, que se ha trasladado a los expertos del área de alimentos, farmacéutica y agricultura otro actual origen, sobre todo de procedencia vegetal, que comprenda elementos curativos con función antimicrobiana y que apoye a contener las patologías prevalentes.²⁹

Las ciencias naturales ancestrales han aportado con una cultura de muchas especies vegetales que poseen propiedades bacteriostáticas, desinflamantes, antivirales, antipiréticas, insecticidas y fungicidas, hay mucha información que principios activos de plantas permiten combatir eficazmente numerosas

enfermedades y patologías que dañan a la humanidad en la actualidad,³⁰ un aporte de tales sustancias son los antimicrobianos alimentarios, sustancias químicas presentes en los alimentos y que reducen la contaminación de los alimentos y el crecimiento (bacteriostáticos) o causan la muerte de los bactericidas, incrementando así la solidez a la alterando la importancia o certeza de los alimentos.³⁰

En la ley vigente farmacológica no hay un alcance para la valoración de la competencia inhibitoria de extractos de hojas in vivo sobre bacterias y hongos como se establece para los antibióticos. Los representantes que se dedican a la medicina natural deben de formalizar protocolos para determinar la duración o susceptibilidad a antibióticos, modificando la elaboración del inóculo, medio de cultivo, temperatura y tiempo de incubación, a pesar de que encontrarse en la obligación de hacer frente a la dificultad de la duración microbiana a los antibióticos, son escasas las investigaciones en el área del rubro de alimentos que de las cuales se obtenga sustancias naturales con actividad antibacteriana.^{31, 32}

La Guayaba, de nombre científico especie *Psidium guajava* L, conocida también con los nombres de Huallaba, en Centro América Guava, como Matus, Sacha, Matos o Yocaa, Pertenece a la familia Myrtaceae. Se trata de un árbol de hasta 7 m de altura, escasamente ramificado, incluso en las montañas a considerables alturas; las hojas son aromáticas, de 4-8 cm de longitud, con los nervios prominentes en la cara inferior; de flores blancas, reducidas, angulares y aromáticas, con una conformación individual o en

forma de racimos, con un fruto ovalado de aproximadamente de 8 centímetros con un interior pulposo de color blanquecino y rosáceo, tal como existe, roja y blanca en la producción.^{33,34}

Su origen es la América tropical en climas tropicales y terrenos arcillosos. Fueron llevadas a otros lugares y se adaptó, por ejemplo, en Filipinas. Es una planta desarrollada en muchos lugares, sólo requiere similitud del clima templado tropical.³⁵

La Guayaba o *Psidium guajava* L., es una de las frutas ricas en antioxidantes que podemos encontrar. Se utiliza para los casos de colon inflamado. Por su alto contenido en vitamina C mejora la absorción del hierro y evita enfermedades como el escorbuto. Por su efecto diurético nos ayuda a mejorar los edemas y la retención de líquidos. Su riqueza en fibra mejora el tránsito intestinal y favorece la buena salud del intestino.³⁶

Su corteza es de color gris, con hojas opuestas, sencillas oblongas o elípticas de color verde claro. Las flores de *Psidium guajava* L., son variadas en tamaño, de color blanco, grandes, de 2,5 cm. de diámetro, axilares y aroma fuerte, solitarias o en pequeños racimos, su fruto es una baya o de forma redonda de hasta 15 cm. de diámetro con pulpa rosada y numerosas semillas, para los fines medicinales se utiliza sus raíces, ramas, hojas, flores y frutos aromáticos.³⁶ Las características de su raíz, corteza, hojas y frutos es que son muy astringentes y se emplean contra malestares estomacales y también como remedio para los problemas de la piel. Principalmente la raíz de *Psidium guajava* L.

Es utilizada contra la diarrea, también para curar hidropesía, por ello es conocida en los tratados herbolarios, propiedades medicinales diversas de esta planta, como fruta es usada para tratar parásitos intestinales y lombrices de los niños afectados desde hace mucho tiempo.³⁷

Los productos activos de esta planta medicinal son la cumarina, alfa- y beta-amirina, arabinosa, ácido arjunólico, ácido asiático, ácido bráhmico, delta-cadineno, calameneno, oxalato de calcio, canfeno, beta-cariofileno, casuarinina, 1,8-cineol, ácido-trans-cinámico, entre otras sustancias. El fruto contiene vitamina C, B1 y B2. Y últimamente se ha encontrado que en hojas y cáscaras aceite esencial y flavonoides, que agregan en muchos productos.³⁸

Se ha reportado una gran actividad antibacteriana de muy amplio espectro para el extracto de hojas de la Guayaba, haciendo una comparación entre los extractos acuosos, alcohólicos y cetónicos de las hojas de guayaba, a veinte cepas de bacterias para el interés clínico. El extracto acuoso mostró una actividad en el 35%, el alcohólico un 65% y el cetónico 100% de los casos.³⁸

Descripción botánica

Su nombre científico es *Psidium guajava*, pertenece a la familia de Myrtaceae y su subfamilia es Myrtoideae de género: *Psidium* y especie: guajava. *Psidium Guajava* es un árbol de 5 a 7 metros de altura, tronco color grisáceo-café, corteza lisa.³⁸

Ramas: son cuadrangulares de color pardo-verdoso con unas hojas de forma elíptica o bolonga 4-12 cm de largo y 2-5 cm de ancho.³⁸

Flores: tienen pétalos 2 a 3 cm de longitud, color blanco, aromáticas, de cáliz verdoso, filamentos, con unas antenas de color amarillo.³⁸

Fruto: es globuloso amarillo, cremoso, con numerosas pepitas duras y pequeñas, como piedritas, color rosado.³⁸

Hábitat: Suelos poco drenados y calizos.³⁸

Composición química

Asociados a sus efectos terapéuticos encontramos:

- Vitaminas
- Taninos
- Flavonoides: es conocida por sus efectos espasmolítico, antioxidantes por su efecto antibacteriano.
- Aceites esenciales
- Alcoholes
- Compuestos fenólicos: ácido gálico, catequina, a los cuales tiene efectos hepatoprotectores, antioxidantes, anti-inflamatorios y analgésicos.³⁸

EFEECTO ANTIMICROBIANO DE PSIDIUM GUAJAVA

- Gracias a la apariencia de flavonoides en la composición química de Psidium guajava, tienen un efecto sinérgico.
- Los polifenoles en las hojas de Psidium guajava son responsables de la actividad anticariogénica.
- La placa dental es un factor etiológico principalmente para la enfermedad periodontal, la quercetina que encontramos en las hojas de Psidium guajava demostraron excelentes resultados antibacteriales para causantes de la enfermedad periodontal.³⁸

CLORHEXIDINA

A diferencia de la clorhexidina es reconocida como una sustancia antiséptica de acción bactericida y fungicida, que pertenece al grupo de las biguanidas y se encuentra formalmente registrado en la OMS como uno de las sustancias más populares utilizadas en un sistema sanitario.³⁹ realiza su acción terapéutica a menores concentraciones, no es muy eficaz como fungicida, porque es necesario una fuerte concentración para eliminar hongos.

La desventaja es que, ante una larga exposición o uso excesivo del antiséptico, aparece manchas pigmentadas en las estructuras blandas y calcificada de los dientes, razón por la cual su uso se debe limitar a los 15 días, que puede ser eliminada con una limpieza dentaria y de mucosas fácilmente.³⁹

Adicionalmente también se ha reportado que, ante un uso muy prolongado, hay una alteración en el sentido del gusto, Un efecto adicional a su uso prolongado, es una ligera disminución en el gusto, también refieren que aumenta la sensibilidad térmica.³⁹

Al 0.12% la Clorhexidina se utiliza como germicida en endodoncia, las cremas y geles a una concentración de 0,5% para desinfectar heridas y quemaduras, es conocido su uso en el campo quirúrgico, algo más potente en solución acuosa al 4% en la higiene de instrumentos, y al 5% para antisepsia de piel antes de entrar a sala o para procedimientos quirúrgicos.⁴⁰

La CHX es sin duda el antiséptico de elección. El uso es amplio y es el agente más eficaz. La disminución de placa y de gingivitis alcanza el 60%. Su instrumento de actividad se realiza mediante una disminución de la formación de la película adquirida y alteración del desarrollo bacteriano y de la inclusion al diente. Se muestra de tres formas: digluconato, acetato e hidrocloreuro, la mayoría de su producción lo usan el digluconato en concentrados del 20% o 12%.⁴⁰

La clorhexidina es un antiséptico que a bajas concentraciones tiene una baja actividad como fungicida ya que se requieren concentraciones más altas para poder tener una eficiente actividad contra estos microorganismos.⁴¹

Hasta esta etapa, se han desarrollado numerosos agentes químicos, la clorhexidina (CHX) como estándar de oro parece ser el agente antimicrobiano más efectivo para la reducción de la placa y la gingivitis.

Su eficacia se puede atribuir a sus efectos bactericidas y bacteriostáticos y su sustentividad dentro de la cavidad oral.⁴¹

A pesar de ello, la efectividad adversa de la CHX limita el uso a largo plazo de este agente antiséptico e incluyen una alteración del gusto, el exceso de aparición de cálculo supragingival, las lesiones de tejidos blandos en pacientes jóvenes, las respuestas alérgicas y la tinción de dientes y tejidos blandos. Este tipo de decoloración, especialmente en las áreas interproximales, y la lengua a menudo son causadas por una reacción de precipitación entre la CHX unida a los dientes y los cromógenos de las comidas o bebidas.⁴¹

En un estudio clínico-ensayo realizado por Gürkan *et al.* en 2006, el cambio en el color de la mucosa bucal y labial, en particular de la encía, después del tercer día de enjuague se informó como el efecto secundario más frecuente de un 0,2% de enjuague bucal de clorhexidina sin alcohol.⁴¹

Unos resultados de productos de clorhexidina enjuague bucal están acondicionados en todo el mundo en concentraciones entre 0.1% a 0.2%; se ha demostrado que la inhibición de la placa por clorhexidina depende de la dosis; Se halló que las concentraciones más bajas carecen de propiedades inhibidoras de la placa.⁴¹

Aunque existen evidencias de que el CHX es un agente antimicrobiano con efectividad en ambas concentraciones, la comparación de las dos formulaciones existentes todavía es necesaria para detectar la concentración más eficiente que tenga los menores efectos secundarios.⁴¹

Por una prolongada exposición o uso excesivo del antiséptico, ocasiona pigmentación de tejidos duros y tejidos blandos, razón por la cual su uso debe limitarse a los 15 días. La pigmentación causada aparentemente a tejidos blandos es temporal y se retira fácilmente con una profilaxis.⁴²

La CHX fue prosperando en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por investigadores en un estudio contra la malaria. En ese instante los científicos fueron expertos de plantar un grupo de compuestos denominados polibisguanidas, que evidenciaron tener un extenso espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel, luego empezó a utilizarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el operador. En odontología se empleó inicialmente para asepsia de la boca y endodoncia.

La investigación definitiva que sumergió la clorhexidina en el mundo de la periodoncia fue el realizado por Loe y Schiott en 1970, donde manifestó que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de CHX al 0,2% en ausencia de cepillado normal, impide la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis.⁴²

Existen productos muy utilizados en base a clorhexidina para antisepsia de la piel previo a procedimientos quirúrgicos.^{43,44}

Streptococcus mutans

El grupo *Streptococcus mutans*, ha sido descrito recientemente como un constituyente de la flora bacteriana oral del hombre desde hace miles de años, es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o biofilm dental. Se le identifica como el que inicia el proceso de caries.⁴⁵

Es acidófilo porque vive en medio con pH bajo, acidogénico por metabolizar los azúcares a ácidos y acidúrico por sintetizar ácidos a pesar de encontrarse en un medio de tales condiciones.⁴⁵

Metaboliza la sacarosa para producir polisacáridos extracelulares (sustancia laxa que facilita su adhesión a las caras libres de las piezas dentarias) e intracelulares (metabolismo energético). En estado de salud, un recuento de estas bacterias en boca será de menos de 100.000 UFC.⁴⁵

El germen detrás del estreptococo mutans es una bacteria asociada con la caries dental, la clave para prevenir las caries resultantes es controlar el entorno en el que habitan las bacterias y eliminar o alterar la placa bacteriana que se acumula de forma regular.⁴⁵

La carie procede de la descomposición del esmalte dental originada por bacterias como *Streptococcus mutans* y su interacción con los alimentos y bebidas en su dieta.

Las bacterias malas se combinan con algunos alimentos en especial los azúcares y carbohidratos, y forman un ácido que causa el daño real del esmalte.⁴⁵

Es posible estimar a través de técnicas microbiológicas, como son los métodos cuantitativos y semi-cuantitativos rangos de infección por *Streptococcus mutans* y relacionarla con el desarrollo de caries dental. Es una bacteria gram positiva, esférica, anaeróbica facultativa, pertenecientes al grupo de bacterias ácido lácticas.⁴⁵

Estas bacterias crecen en cadenas o pares, donde cada división celular ocurre a lo largo de un eje. Que su nombre griego significa que se dobla o se tuerce con facilidad, como una cadena.⁴⁶

Streptococcus mutans está reconocido como uno de los microorganismos promotor de la enfermedad de caries.

Concuerda con la teoría de la placa ecológica donde se da inicio al proceso de desbalance del equilibrio de la microbiota oral por intermedio de los ácidos producidos por el *Streptococcus mutans*, que alteran las condiciones de homeostasis microbiana oral.⁴⁷

A través de las técnicas de biología molecular, está demostrada la intervención en la colonización bacteriana en los tejidos bucales y la interacción de la dinámica de las biopelículas dentales.

Además, hay evidencias de las interacciones con diferentes tipos de microorganismos que habitan la cavidad oral, los productos que generan y a

la vez se hace necesario los nuevos procedimientos que ayuden su identificación plena.⁴⁷

La estructura celular y el metabolismo:

El *Streptococcus mutans* es un anaerobio que recibe energía a través de la fermentación del ácido láctico. Es un alfa hemolítica que aparece verde en una placa de agar sangre. Posee células esféricas que aparecen en las cadenas debido a la división celular en un estadio de la mitosis y citocinesis incompleta.⁴⁸

Clasificación de *Streptococcus mutans*

A partir de la estructura molecular y la unión de los polisacáridos de la pared celular, *Streptococcus* de la especie *mutans* se pueden separar en 8 serotipos: *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus ferus* (serotipo c), *Streptococcus macacae* (serotipo c) y *Streptococcus downei* (serotipo h). El serotipo c de *S mutans* es el patrón más abundante en la cavidad oral más que las cepas e, d, f y k.⁴⁹

La malla de polisacaridos de la pared celular participa un rol fundamental en la colonización de sus nichos ecológicos. Existen muchas afinidades con diferentes tipos de sustratos, para elevar la fuerza de adhesión a los antígenos de polisacáridos a los tejidos de los humanos, hay hipótesis sobre el progenitor de *S mutans* haya sido el serotipo c y que las cepas f y e pueden haberse iniciado por cambios determinantes del serotipo c.⁴⁹

Esta bacteria *Streptococcus mutans* es conocida tal causante de la patología dental así mismo es un factor etiológico de la bacteriemia y endocarditis infecciosa.

Anteriormente se ha organizado en tres serotipos c, e y f adecuado a la diferente estructura química de los polisacáridos particulares de los serotipos los cuales tienen una combinación de cadenas laterales de glucosa.⁵⁰

Microorganismos presentes en la boca: La microbiota oral tiene la función de defender el huésped actuando como una barrera, se han evidenciado más de 700 taxones bacterianos en la cavidad oral, sin embargo, no todas las bacterias están presentes en la cavidad oral.

La composición va a variar en diferentes sitios en la cavidad oral, la mayoría de estos microbios son ingenuos, el *Streptococcus mutans*, están asociadas con infecciones piógenas y otras infecciones en varios sitios como la boca.⁵⁰

Se identificó una cepa de *S. mutans* con serotipo no c/e/f como serotipo k el cual se distingue por una gran disminución en la multitud de cadenas laterales de glucosa.

Una característica biológica usual del serotipo k es su poco rango de cariogenicidad necesario a las modificaciones de diferentes de los antepasados antígenos proteicos de superficie.

La virulencia en sangre, estas cepas tienen la ventaja de subsistir en la sangre por un período mayor requerido a su baja antigenicidad.

En otras investigaciones han encontrado diversas características de este serotipo en la patogénesis de enfermedades cardiovasculares, en la cuales se ha descubierto su alta prevalencia.⁵¹

III. HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis.

Hipótesis Hi: Existe efectividad antibacteriana de las concentraciones (0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8, 16, 32mg/ml) de extracto etanólico de las hojas de guayaba frente al *Streptococcus mutans*.

Hipótesis Ho: No existe efectividad antibacteriana de las concentraciones (0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8, 16, 32mg/ml) de extracto etanólico de las hojas de guayaba frente al *Streptococcus mutans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de investigación:

El tipo de investigación del trabajo es:

- De acuerdo al investigador: Experimental: De tipo Cuasi-experimento; puesto que se analizó la efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans*
- De acuerdo al enfoque de la investigación es Cuantitativo.
- De acuerdo a la planificación en la toma de datos es Prospectivo.
- De acuerdo al número de variables de interés es Analítico; porque plantea y propone hipótesis.

4.2 Población y muestra

El presente trabajo tuvo como población 8 tubos de ensayo donde se cultivaron cepas *Streptococcus mutans*, que cumplieron con los criterios de selección. La unidad de análisis estuvo conformada por las hojas de guayaba que fueron recolectadas en el jardín botánico de plantas medicinales de la Facultad de Farmacia de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), para poder realizar las concentraciones del extracto etanolico.

El presente trabajo tuvo una prueba control de Clorhexidina al 0.12 % como población y muestra, se utilizó dos de placa Petri con 4 discos con cepas de *Streptococcus mutans*, donde se cumplieron criterios de selección.

El tipo de muestreo es no probabilístico, por conveniencia, la muestra estuvo conformada por 24 tubos de ensayos porque se aplicó 3 repeticiones donde se colocó el extracto etanolico de guayaba a diferentes concentraciones y suspensión bacteriana teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Se eligió las repeticiones de acuerdo a los antecedentes de previa investigación de los autores:

- Neira Adriana, Ramírez Martha, Sánchez Nidia (2005) utilizando 2 repeticiones por cada extracto, donde trabajo la actividad antibacterial frente al *Streptococcus mutans*⁵⁴
- Neira Adriana, Ramírez Martha (2005) utilizando 1 repetición por cada extracto etanolico , donde trabajo la actividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* y *Escherichia coli*¹⁵

4.2.1 Criterios de selección

4.2.1.1 Criterios de inclusión

- Extracto etanólico de la guayaba
- Gluconato de Clorhexidina 0.12%
- Halos de inhibición de 8 mm +/-
- Cepas aisladas (*Streptococcus mutans*)

4.2.1.2 Criterios de exclusión

- Agares contaminados
- Placa Petri defectuosa
- Hojas de guayabas contaminadas
- Cepas contaminadas

4.3 Definición y operacionalización de variables.

Variables	Definiciones Operacionales	Indicadores	Tipo	Escala	Valores
Extracto etanólico de la hoja de Guayaba	Sustancias a diferentes concentraciones, para identificar cual es más efectiva contra la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) obteniendo la mínima concentración inhibitoria.	Asignación de la sustancia experimental	Cuantitativa	De razón	Concentraciones: - 0.25mg/ml - 0.50 mg/ml - 1 mg/ml - 2 mg/ml - 4 mg/ml - 8 mg/ml - 16 mg/ml - 32 mg/ml
Efectividad antibacteriana	El grado de turbidez que presentarán los medios de cultivos inoculados con <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) debido a la presencia de distintas concentraciones del extracto etanólico de la hoja de guayaba.	Grado de Turbidez	Cualitativo	De razón	NTU

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se procederá a solicitar la autorización del Jefe de la Clínica Dental de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, sede Chimbote, para la realización del trabajo de investigación, experimental en el laboratorio a quien se le explicará el propósito y características del estudio.

Se procedió a colocar en dos placas Petri cepas aisladas de *Streptococcus mutans* y se procedió a colocar en una placa el extracto de la guayaba al 12.13% en una placa Petri y en otro se colocará clorhexidina al 0.5 %.

Luego se procederá hacer la recolección de datos mediante los halos de inhibición de cada placa mediante una ficha elaborada específicamente para esta investigación (Anexo N° 1)

4.4.1 Obtención del extracto alcohólico de *Psidium guajava* “guayaba”

Las hojas de guayaba fueron recolectadas en la ciudad de Trujillo del jardín botánico de plantas medicinales de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) de la Facultad de Farmacia.

Las hojas de *Psidium guajava* fueron lavadas con agua y secadas a temperatura de ambiente por 4 horas y luego a estufa a 45 °C por 48 horas. Posteriormente fueron molidas en un molino manual y se pesó a 100 gr, para luego ser colocado en un frasco de vidrio de 600 ml, y se agregó 50 ml de alcohol de 96° y se procedió a homogeneizar.

Se tomó el lixiviador o percolador se colocó en la parte de abajo algodón y en la parte de arriba del lixiviador se colocó un papel de filtro Whatman N°40. Se agregó 100 ml de alcohol y 50 ml más hasta tapar todo el lixiviador al 96°.

Se procedió a embalar con un plástico para que no se evapore y se aisló de la luz solar. Se dejó 72 horas y se extrajo el extracto etanolico de la guayaba al 100 %.

4.4.2 Obtención del cultivo puro *Streptococcus mutans* ATCC 25175

El cultivo puro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, lo proporcionó el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina (UNT)

4.4.3 Preparación de medios de cultivo

Los principales medios de cultivo que se utilizó fueron, Agar Müeller Hinton según MERCK®: para el control de la clorhexidina y caldo Mueller Hinton según MERCK, para realizar la suspensión bacteriana a evaluar y para determinar la CMI. Se preparó siguiendo paso a paso las recomendaciones del fabricante.

4.4.4 Preparación y Estandarización del Inoculo

La Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo y estandarizar la densidad se usa una suspensión de sulfato de bario (0,5 de la escala de Mac Farland) como estándar, de preparación de turbidez

4.4.5 Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Las cepas se reactivaron en placas Petri con Agar Sangre (agar a base de sangre de Merck, que se le incorporó 5% de sangre de conejo). Las placas con cepas de *Streptococcus mutans* se incubaron a 37 °C en Jarra Gaspak (para generar las condiciones de anaerobiosis) en una estufa de laboratorio.

4.4.6 Determinación de la Concentración mínima inhibitoria y la Concentración mínima bactericida mediante el Test de Microdilución en caldo.

Se obtuvo el extracto de guayaba al 100% y se extrajo 64 ml y se mezcló con 36 ml de agua/alcohol al 70°C para tener una concentración 64 mg/ml de esa concentración partimos a hacer las diluciones.

Por cada tubo de ensayo teníamos 5ml (2.5ml de caldo nutritivo y 2.5ml de extracto alcohólico de guayaba)

La técnica de microdilución en caldo se empleó para medir en forma cuantitativa la actividad *in vitro* de un agente antimicrobiano contra una bacteria. Se agregó caldo Müeller-Hinton a cada tubo de ensayo. Luego se le agregaron varias concentraciones volumétricas de 32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml.

En cada tubo se le fue sacando 2.5 ml y así se fue haciendo las microdiluciones

La preparación se ejecutó en tubos de ensayo estériles a los que colocamos adicional 0.1ml de suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans*. Posteriormente se realizó la mezcla de sistemas con la ayuda de micropipetas de rango variable. Y se puso a encubar en la jarra Gaspar por 48 horas, después de lo cual se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos.

Hoy en día ya no es necesaria la realización de placas para hacer un recuento, ahora se distingue la (CIM) y (CMB) por el color, por turbidez y el crecimiento de la bacteria.

Se utilizó el turbidímetro para sacar los valores de NTU para medir la turbidez de la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de guayaba frente al *Streptococcus mutans*.

4.4.7 Control de la clorhexidina 0.12%

Inoculación de las Placas:

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, sumergir un hisopo estéril en la suspensión, rotar el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Inocular la superficie seca de las 2 placas de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de colocar los discos dejar secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido, todo el trabajo se realizó con un mechero a lado para evitar contaminación ambiental.

4.4.8 Aplicación de los discos:

Colocamos los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una punta de una aguja estéril presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

Distribuir los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro en total colocamos 4 discos por cada placa Petri que en total fueron 8 discos. Los discos fueron empapados con clorhexidina al 0.12 %.

4.4.9 Incubación

Incubamos las 2 placas petri en posición invertida en Jarra Gaspak a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos.

Las placas de *Streptococcus mutans* con clorhexidina a 0.12 %, deben ser incubadas en atmósfera del 5% de CO₂ (para poder obtener el CO₂ dentro de la Jarra Gaspak colocamos una vela prendida y se procedió a cerrar la Jarra Gaspak y se colocó en la estufa).

Después del tiempo recomendado de incubación que es de 48 hrs examinar cada placa y medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

4.4.10 Lectura de resultados

Hoy en día ya no es necesaria la realización de placas Petri para hacer un recuento, ahora se distingue la (CMI) y (CMB) por el color, por la turbidez y el crecimiento de la bacteria dando resultado la CMI es al 0.50mg/ml y la CMB 0.25mg/ml. El control de la clorhexidina fue positivo dando como resultado unos halos de inhibición de 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 13mm, 10mm, en los discos.

4.5 Plan de análisis.

Para realizar el estudio estadístico, se utilizó la prueba estadística de Anova para ordenar y tabular los datos obtenidos del presente estudio, determinamos los resultados usando tablas y gráficos.

4.6 Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Metodología	Población
¿Cuál es el grado de efectividad de la hoja de guayaba en comparación de la clorhexidina en mínima concentración frente al <i>Streptococcus mutans</i> ?	Objetivo general: Determinar su efectividad antimicrobiana bajo concentración inhibitoria de la hoja de la guayaba y clorhexidina frente al <i>Streptococcus mutans</i> Objetivo específico: - Determinar la efectividad del extracto de la guayaba frente al <i>Streptococcus mutans</i> a bajo concentración inhibitoria. - Determinar la efectividad de la clorhexidina frente al <i>Streptococcus mutans</i>	La hoja de la guayaba tiene mayor grado de efectividad en concentraciones mínima sobre las cepas del <i>Streptococcus mutans</i> que la Clorhexidina	El presente trabajo es una investigación Cuantitativa y de nivel aplicativo. Método: El método que utilizaremos es el experimental Diseño de la investigación: El diseño de la presente investigación es de tipo cuasi experimental, prospectivo, longitudinal y Analítico.	Cepas del <i>Streptococcus mutans</i>

4.7 Principios éticos

El estudio se realizó con el consentimiento de los responsables del Servicio donde se realizó el estudio. Se reportó las incidencias de las visitas de manera inmediata si se identificó los factores de riesgo agravados que originen la inmediata atención del facultativo. Se reportó informes periódicos y el informe final al coordinador de la sede. El Proyecto de investigación tuvo la aprobación del Comité de Investigación de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote para ser ejecutado.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

TABLA 1:

ESTANDARIZACIÓN DE TURBIDEZ EN NTU PARA LAS CONCENTRACIONES DE EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS

Concentraciones extracto etanólico de hoja de guayaba mg/ml	Turbidez (NTU)	Turbidez (NTU)	Turbidez (NTU)
0.25	5	3	3
0.5	10	8	12
1	20	18	18
2	40	38	38
4	80	78	82
8	160	158	158
16	320	322	318
32	640	638	642
Clorhexidina 0.12	10213.5106	10212	10215

TABLA 2:

EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA (psidium guajava) Y GRUPO CONTROL SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175 SEGÚN TURBIDEZ (NTU)

Concentración de inhibidores		n	Promedio	Desviación Estándar	p
Extracto Etanólico de hoja de guayaba	0.25mg/ml EEHG	3	3.66667	1.1547	0.0000
	0.5mg/ml EEHG	3	10	2	
	1mg/ml EEHG	3	18.6667	1.1547	
	2mg/ml EEHG	3	38.6667	1.1547	
	4mg/ml EEHG	3	80	2	
	8 mg/ml EEHG	3	158.667	1.1547	
	16mg/ml EEHG	3	320	2	
	32mg/ml EEHG	3	640	2	
Clorhexidina	0.12%	3	10213.7	1.52753	

TABLA 3:

ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJA DE LA GUAYABA COMPARANDO EL GRADO DE TURBIDEZ (NTU)

Grupos de tratamiento	n	Subconjuntos para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.25mg/ml EEHG	3	3.66667								
0.5 mg/ml EEHG	3		10							
1 mg/ml EEHG	3			18.6667						
2 mg/ml EEHG	3				38.6667					
4mg/ml EEHG	3					80				
8mg/ml EEHG	3						158.667			
16 mg/ml EEHG	3							320		
32 mg/ml EEHG	3								640	
0.12% Clorhexidina	3									10213.7

5.2 Análisis de resultados

Como resultado observamos que el extracto etanólico de la hoja de guayaba si tuvo efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) desde la concentración de 0.50mg/ml, que nos arrojó una turbidez de 10 NTU. A mayor turbidez (NTU) se evidencia mayor efectividad antibacteriana como se observa. (TABLA 1).

A mayor medida de turbidez (NTU) referencia que el extracto etanólico de la hoja de guayaba tuvo mayor efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans*.

Como resultados de la prueba estadística de Anova del extracto etanólico de la hoja de guayaba y sus concentraciones se obtuvo que el valor-P es < 0.05 , existiendo una diferencia estadísticamente significativa de $p=0.00$, de la media de Turbidez entre un nivel de las concentraciones del Extracto Etanólico de la hoja de Guayaba. (TABLA 2).

Se realizó el análisis de Post Hoc Tukey ya que encontramos un nivel de significancia del extracto etanólico de la hoja de guayaba, donde se realizó la comparación entre concentración del extracto etanólico de la hoja de guayaba para poder identificar que concentración tenía una diferencia significativa, que fue el de 32mg/ml teniendo más efectividad antibacteriana de las todas concentraciones.

En comparación de la hoja de guayaba (*pisidium guajava*) y la clorhexina, como resultado se obtuvo que la clorhexidina tuvo mayor efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). (Tabla 03).

Respecto a la efectividad antimicrobiana del extracto etanólico de la hoja de guayaba frente al *Streptococcus mutans*, se obtuvo su mínima concentración inhibitoria dando como resultado que 0.50mg/ml con una turbidez de 10 NTU, y la concentración mínima bactericida 0.25mg/ml con una turbidez de 5 NTU (Tabla 03).

Respaldado por la literatura según Neyra que refiere que los extractos crudos de cáscara pintona seca de guayaba y hojas choba poseen actividad antimicrobiana significativa frente a las dos cepas de (*S mutans*). A los polifenoles en general se le ha atribuido la actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* por sus propiedades de astringencia ya que para que se produzca la caries dental se necesita de la adhesión del *S. mutans* al diente en un proceso que puede estar mediado por proteínas de la bacteria y de la saliva; los polifenoles al inhibir este proceso actúan como anticaries.¹⁵

Se determinó la efectividad del extracto etanólico de la hoja de guayaba frente al *Streptococcus mutans* a baja concentración inhibitoria de 0,50mg/ml, respaldado por Lourenção que concluyó que el *Psidium cattleianum* extracto de hoja presenta un efecto anticariógeno potencial.¹⁷

El control de la clorhexidina fue positivo dando como resultado unos halos de inhibición de 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 13mm y 10mm (ANEXO 2), respaldado por Ercan que refiere que la clorhexidina como el NaClO fueron ciertamente elocuentes para decrecer microorganismos y los dos pueden ser utilizados como arosas soluciones irrigantes.²²

Para esta investigación se demostró la hipótesis aceptada Hi, donde existe efectividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* de las concentraciones (0.50, 1, 2, 4, 8, 16, 32mg/ml) de extracto etanólico de las hojas de guayaba frente al *Streptococcus mutans*.

VI. Conclusiones

6.1 Conclusiones

1. Concluimos que si hubo efectividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de guayaba frente al *Streptococcus mutans* a una concentración de 0.50 mg/ml hasta 32mg/ml.
2. Concluimos que si hubo efectividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de guayaba a una concentración mínima inhibitoria al 0.50mg/ml con una turbidez de 10 NTU, frente al *Streptococcus mutans*
3. Como control utilizamos la clorhexidina al 0.12 % y obtuvimos resultado de efectividad antibacteriana dando unos halos de inhibición de 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 14mm, 13mm y 10mm. (anexo 2). Concluyendo que la clorhexidina tuvo mayor efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a comparación de hoja de guayaba (*pisidium guajava*)

6.2 Recomendaciones:

1. Se recomienda efectuar una investigación más a fondo de la hoja de la guayaba ya que se demostró la concentración mínima inhibitoria de efectividad antimicrobiana en la dilución 0.50mg/ml
2. Como una muy buena alternativa se puede fundamentar o poder ampliar la línea de productos naturales para tener mejor propuestas en la investigación.
3. Se recomienda poder realizar un estudio exhaustivo de la efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* en base a una muestra real de acuerdo a un formula de comparación de medias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández, M., et al. Almendro de la India: Potencial Biológico Valioso. Rev Cubana Invest Biomed 2003;22(1):41-7
2. Hill, A. F. 1965. Botánica Económica Plantas útiles y productos vegetales. 1a edición. Ediciones Omega. Pp 571.
3. Munayco, E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. [Tesis para título de cirujano dentista]. Lima. Odontol. Sanmarquina. 2011.
4. Pitagoras, T. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival [Tesis para título de cirujano dentista]. Lima. Odontol. Sanmarquina. 2013.
5. World Health Organization-Antimicrobial resistance. Fact sheet N°194. Revised January 2002. [Consultado 19 agosto 2006].Disponible en: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/print.html
6. Moromi, H. et al. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusion de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. Odontol. Sanmarquina 2007; 10(2): 12-14.
7. Moromi, H.; Martínez, E. y Ramos, D. Antibacterianos naturales orales. Estudios en la facultad de odontología de la universidad Nacional Mayor de San Marcos. Odontol. Sanmarquina. 2009; 12(1). 25 – 28.
8. Borhan, K. y Azimi, S. Antimicrobial Natural Products in Oral Health. *Formatex*. 4(2): 932- 39.
9. Chou, R; Cantor, A, Zakher B, et al. Preventing dental caries in children <5 years: systematic review updating USPSTF recommendation. *Pediatrics*. 2013;132(2); 332-50.

10. Kim,M; Kim, H; kim, J. Association between estimated fluoride intake and dental caries prevalence among 5-year-old children in Korea. BMC Oral Health. 2015; 15: 169
11. Kaneria, M y Chanda S. Phytochemical and Pharmacognostic Evaluation of Leaves of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). Pharmacog Mag 2011; 23: 32-41.
12. Shekar, C;, Nagarajappa, R,; Singh, R; Thaku R. Antimicrobial efficacy of the combinations of *Acacia nilotica*, *Murraya koenigii* L. sprengel, *Eucalyptus* hybrid and *Psidium guajava* on primary plaque colonizers. J Basic Clin Pharm. 2014; 5(4): 115–119.
13. Bascones, A; Manso, FJ. Clorhexidina en odontoestomatología: Conceptos actuales y revisión de la literatura. Avances en odontoestomatología 1994 Diciembre 10(10):685-708.
14. Nakano, K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. J. Clin. Microbiol. 2004;42(1):198-202
15. Neira, A. estudio fotoquímicoy actividad antibacterial del *Psidium guinwnse sw* (Choba) frente a *streptococcus* agente causal de caries dental. Revista cubana. Plan Med 2005; 10.
16. Miranda-Cruz, E.; et al. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L., *Pterocarpus hayesii* L., *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L.2012 Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 11(4): 354 – 361.

17. Lourenção, F. Efecto del extracto foliar de *Psidium cattleianum* sobre la desmineralización del esmalte y la composición del biofilm dental *in situ*. Escuela de Odontología de Araçatuba, UNESP - Univ Estadual Paulista, R: José Bonifácio 1193, CEP: 16015-050, Araçatuba-SP, Brasil. Archives of Oral Biology. ELSEVIER Volume 57, Issue 8, August 2012, Pages 1034-1040 http://ac.els-cdn.com/S000399691200057X/1-s2.0-S000399691200057X-main.pdf?_tid=fe7d4da6-50d3-11e7-999d-00000aacb35d&acdnat=1497425889
18. Rodríguez, R; Lafourcade A.; Pérez L. Hojas de *Psidium guajava* L *Psidium guajava* L. leaves Departamento de Farmacia. Universidad de Oriente. Cuba 2012 bvs.sld.cu/revistas/far/vol47_1_13/far14113.htm
19. Bui, TB; Craig; BJ; Mitchell, JC. "Evaluation of the interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its effect on root dentin. [Abstract]. J of Endodontics 2008; 33:966-9.
20. Basrani, BR; Manek, S; Sodhi, RNS; Fillery, E; Manzur, A. "Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. [Abstract]. J of Endodontics 2007; 33:966-9.
21. Gamboa, F; Herazo, B.; Martínez M. Control Microbiológico Sobre *Streptococcus Mutans* y su acción acidogénica. Universitas Scientiarum Departamento de Microbiología (Facultad de Ciencias) y Centro de Investigaciones Odontológicas. Bogotá, D.C., Colombia. Revista de la Facultad de Ciencias Enero-junio de 2004 Pontificia Universidad Javeriana Vol. 9, 1:10
22. Ercan, E; Özekinci, T; Atakul, F; Gül, K. Antibacterial of 2% Chlorhexidine gluconate and 5.25% Sodium Hypochlorite in infected root canal: In Vivo study. [Abstract]. American Association of Endodontists 2004; February 30(2):50-53

23. Lin, J; Puckree, T; Mvelase, TP. Anti-diarrhoeal evaluation of some medicinal plants used by Zulu traditional healers. J Ethnopharmacol. 2002;79(1):53 - 6.
24. Martínez, MJ; Molina, N, Boucourt, E;, Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). Rev Cubana Plant Med. 1997;2(1):12-4.
25. Pahlow, M. 1981. El gran libro de las plantas medicinales. Editorial Everest Mexicana. S. A. pp 709-711.
26. Rogers, A.H.; Van Der Hoeven, J.S.; Mikx, F.H Effect of Bacteriocin production by *Streptococcus mutans* on the plaque of gnotobiotic rats. Infection and Immunity 23 (2):560-6.
27. Fu, H; Luo, Y; Zhang, D. Studies on chemical constituents of leaves of *Psidium guajava* Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2009 Mar;34(5):577-9
28. Albado, PE; Saez, FG; Grabiell, AS. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). 2001.Rev Med Hered 12: 16 - 19.
29. Ferreira, LMR; et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2006. 105: 137 - 147.
30. Asolini, FC; Tedesco, AM; Carpes, ST; Feraz, C; Alencar, SM. Antioxidant and antibacterial activities of phenolic compounds from extracts of plants used as tea. 2006, Braz J Food Technol 9: 209 - 215.
31. Shiva, RCM. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. 2007. Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, España.

32. Isla, M; Arias, M;, Ordoñez, A; Zampini, I; Sajur, S; Ferullo, M; Nieva, MI; et al.. Especies vegetales de interés regional con potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica, alimenticia y agricultura. 2007. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 6: 411 - 412.
33. Roig, JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Ciencia y Técnica. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1988:485-7.
34. Aguilar, A; Camacho, JR; Chino, S; Jácquez, P; López, ME. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México.
35. Argueta, VA; Cano, A; Rodarte, M. 1997. Atlas de las Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista, México
36. Barquero, AA. 2007. Plantas sanadoras: pasado, presente y futuro. Rev Quím Viva 6: 19 - 35.
37. Morón, F; Martínez, MC; Morón, D. Disminución del tránsito intestinal en ratones por tintura de guayaba (*Psidium guajava* L.). Rev Cubana Plant Med 1999; 4(2): 54-6. 14.
38. Rattanachaikunsopon, P; Phumkhachorn, P. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajav*. J Med Plant Res 2010; 4 (5): 393-396.
39. Lasala, A. Endodoncia. Cuarta edición. Ed. Salvat México DF 1993.pp.377.
40. Hollaar V; Wierink, M; Putten, G; Swart, BD; Baat, C. Effect of daily application of a 0.05% chlorhexidine solution on the incidence of (aspiration) pneumonia in care home residents: design of a multicentre cluster randomised controlled clinical trial. BMJ Open. 2015;29;5

41. Cohen, S y Burns, RC. Endodoncia: Los caminos de la pulpa. 4ta. Ed. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires 1999. p. 206,209 y p.488-492.
42. Grossman, L; Meiman, BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. J Amer Dent Ass 1941; 28(2):223-225.
43. Bral, M; Brounstein, N. Antimicrobianos y enfermedades periodontales. Clínicas Odontológicas Norteamericanas. Ed.Interamericana; 1988, 2:234-239.
44. Nava, R. y Romero, N. Uso de clorhexidina. PO 1995;16:18-26.
45. Ojeda-Garces, JC; Oviedo-Garcia, E. And Salas, LA. Streptococcus mutans y caries dental. *CES odontol.* [online]. 2013, vol.26, n.1, pp.44-56. ISSN 0120-971X.
46. Negroni, M; Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3rd ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
47. Svanberg, M; Loesche, W.J Implantation of Streptococcus mutans on tooth surfaces in man. Archives of Oral Biology
48. Tanzer, J.M.; Fisher, J Basic Concepts of Streptococci and Streptococcal diseases. Ediciones Chertsey Reedbooks Ltd. London, England. 200 págs.
49. Shibata, Y; Ozaki, K; Seki, M; Tanaka, H; Nakano, Y; Shibata, Y; et al. Analysis of Loci Required for Determination of Serotype Antigenicity in Streptococcus mutans and Its Clinical Utilization. J. Clin. Microbiol. 2003;41(9):4107-12
50. Inaba, H; Amano, A. Roles of Oral Bacteria in Cardiovascular Diseases - From Molecular Mechanisms to Clinical Cases: Implication of Periodontal Diseases in Development of Systemic Diseases. Journal of Pharmacological Sciences. 2010;113(2):103-9.

51. Nakano, K; Inaba, H; Nomura, R; Nemoto, H; Takeda, M; Yoshioka, H. et al. Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *Journal of clinical microbiology*. 2006 Sep;44(9):3313-7
52. Guerrero Hurtado Juana del Carmen, Ortiz Rubio Zoila Mercedes, Peralta Berrospi Luis Fernando, Pérez Azahuanche Fredy Romel. Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a clorhexidina. *Rev. Cubana Plant Med.* 2018 Dic 24; 18(2):224-236.
53. Chero, D; y Ruiz, M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* (guayaba) y *Medicago sativa* (alfalfa) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Rev. Salud & Vida Sipanense*. 2016;3(2):6 -12
54. Neira González Adriana María, Ramírez González Martha Beatriz, Sánchez Pinto Nidia Lizbeth. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. *Rev Cubana Plant Med* 2018 Dic 29;10(3-4).

ANEXOS

ANEXO 01: Ficha De Recolección De Datos Del Extracto Etanólico De La Hoja De Guayaba

Nombre del operador: **Montenegro Pareja David** Fecha: **01/03/17**

Nombre del extracto: **Hoja de la guayaba (*Psidium Guajava*)**

Nombre del microorganismo: ***Streptococcus mutans* (ATCC 25175)**

A que concentración Inhibitoria:

32mg/ml ,16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.50 mg/ml, 0.25 mg/ml

Evaluación: **(CMI)**

Extracto etanólico de la hoja de guayaba				
Cepas: <i>Streptococcus mutans</i>				
E.E.G	Nº DE Tubos de ensayo	Turbidez NTU de la bacteria	Turbidez NTU de la bacteria	Turbidez NTU de la bacteria
32mg/ml	1	640	638	642
16mg/ml	2	320	322	318
8mg/ml	3	160	158	158
4mg/ml	4	80	78	82
2 mg/ml	5	40	38	38
1 mg/ml	6	20	18	18
0.50 mg/ml	7	10	8	12
0.25 mg/ml	8	5	3	3

✓ CMI (0.50mg/ml , al 20 % de turbidez de la bacteria,Nºde tubo 7)

**ANEXO 02: Ficha De Recolección De Datos Del Control Positivo De Clorhexidina Al
0.12%**

Nombre del operador: **Montenegro Pareja David** Fecha: **01/03/17**

Nombre del extracto: **Hoja de la guayaba (*Psidium Guajava*)**

Nombre del microorganismo: ***Streptococcus mutans* (ATCC 25175)**

Control positivo: **Clorhexidina al 0.12 %**

Control de clorhexidina al 0.12 %		
Concentración	Cepa	Halo de inhibición
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	14mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	13mm
0.12 %	<i>Streptococcus mutans</i>	10mm

✓ Control positivo efectividad de inhibición contra el *Streptococcus mutans*

ANEXO 03:**Tabla de Medias para Turbidez de las concentraciones del Extracto Etanólico de la hoja de Guayaba con intervalos de confianza del 95.0%**

Nivel	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
0.25	3	3.66667	0.942809	1.35541	5.97792
0.5	3	10.0	0.942809	7.68875	12.3113
1	3	18.6667	0.942809	16.3554	20.9779
16	3	320.0	0.942809	317.689	322.311
2	3	38.6667	0.942809	36.3554	40.9779
32	3	640.0	0.942809	637.689	642.311
4	3	80.0	0.942809	77.6887	82.3113
8	3	158.667	0.942809	156.355	160.978
Total	24	158.708			

ANEXO 4: Fotografías



Jardín botánico de plantas medicinales de la Universidad Nacional de Trujillo



Recolección de hoja de guayaba



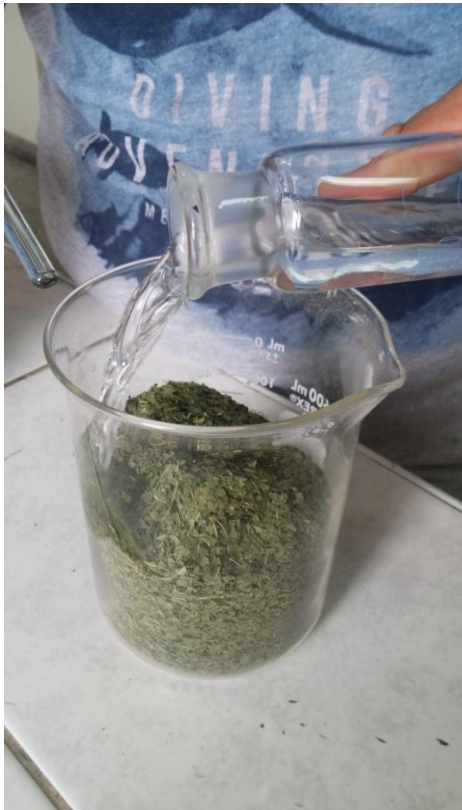
Secado de hojas en estufa



Secado de hojas en estufa 45 °C por 48 hrs



Se procedió a pesar las hojas de guayaba



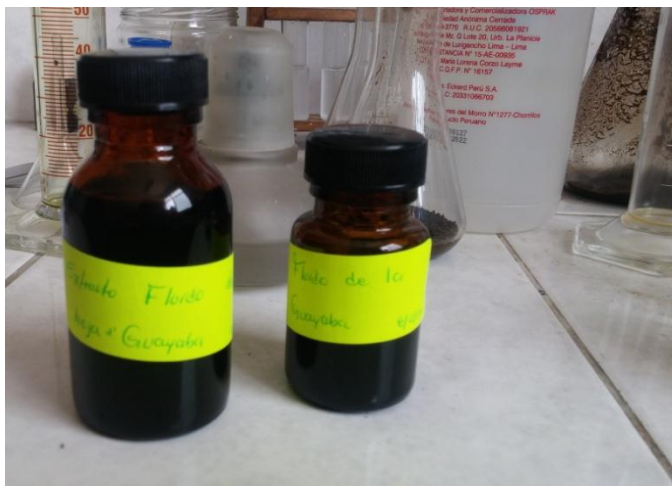
Volviendo en partículas las hojas de guayaba



Colocamos al livixiador.



Obtención de extracto de la guayaba



Extracto etanolico de la guayaba



Activación del mutans



realización de investigación

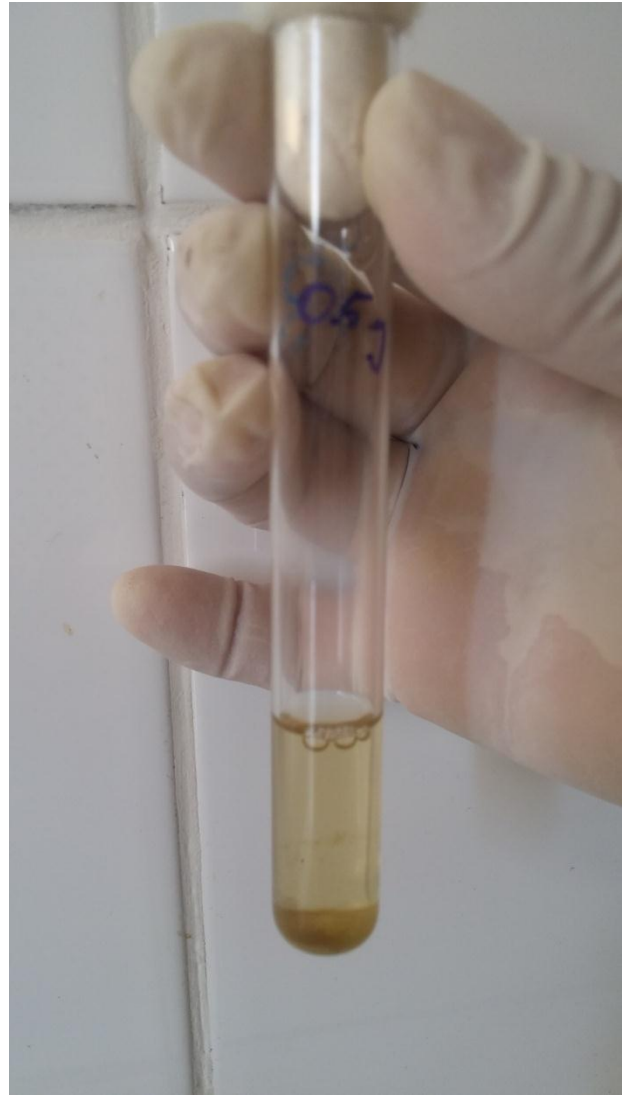
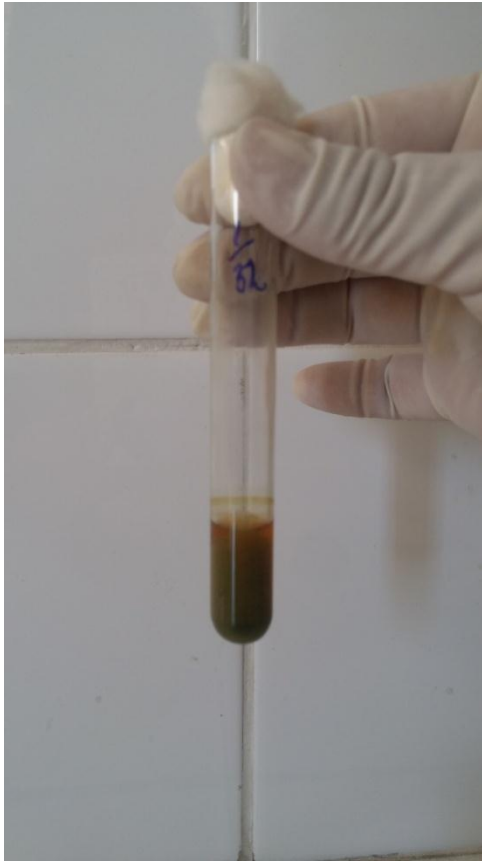




Dejamos unas 48 hrs en la jarra de Gaspar y en el horno 37°C



Lectura de tubos de ensayo

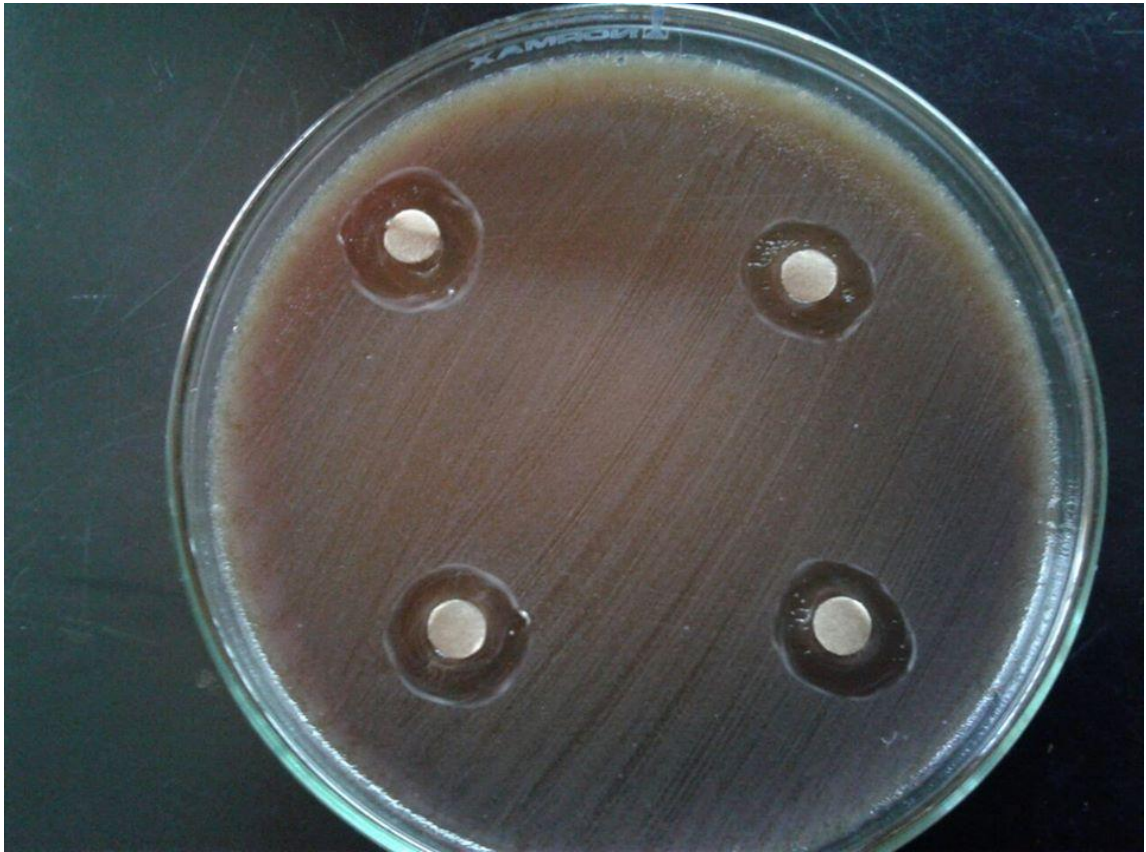




Colocando los discos de Clorhexidina al 2 %



Colocando los discos d Clorhexidina al 2 %



Halos de inhibition de 14 mm

