



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL BULBO DE
Allium sativum (AJO) SOBRE CEPAS DE
*Streptococcus mutans***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA:

**ARMAS ZA VALETA, SHARON BROOKS NISSEITH
ORCID: 0000-0002-7780-6307**

ASESOR:

**SÁNCHEZ MORENO, HÉCTOR MELVIN
ORCID:0000-0003-0970-6301**

TRUJILLO – PERÚ

2019

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Armas Zavaleta, Sharon Brooks Nisseith

ORCID: 0000-0002-7780-6307

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Sánchez Moreno, Héctor Melvin

ORCID: 0000-0003-0970-6301

Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, Facultad de Ciencias de la
Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Trujillo, Perú

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega.

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla.

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau.

Miembro

Sánchez Moreno Héctor Melvin.

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios:

*Agradezco a Dios padre, por ser mi
guía y darme la fuerza necesaria
para superar los obstáculos
presentados en el sendero de esta
etapa de mi vida.*

A mi madre:

*Por estar siempre presente en
los buenos y peores momentos
de mi vida, brindándome su
apoyo incondicional y su amor
maternal.*

***A la Universidad Católica Los Ángeles
de Chimbote por la enseñanza brindada
en la formación académica.***

DEDICATORIA

De carácter muy especial a mi abuelo

Marcos Constante, por brindarme su

Amor y su apoyo incondicional,

siendo un ejemplo de vida.

A mi madre Juana y abuela Estela

por estar siempre presente, siendo

mí guía en esta etapa de mi vida.

A mis hermanos Chris, Priscila,

Mirella, Brando y Grace que son

la parte fundamental en mi vida.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo experimental, de nivel cuantitativo y corte transversal. Se realizó con el objetivo de demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum*, (ajo) sobre *Streptococcus mutans*. Para este trabajo de investigación se utilizaron 12 placas distribuidos en cuatro grupos, grupo control (etanol 70°), grupo estándar (clorhexidina 0.12%), grupo experimental (extracto hidroalcohólico 40%) y grupo experimental (extracto hidroalcohólico 80%) las cuales fueron cultivadas con *Streptococcus mutans* en medio de Agar Mueller Hinton enriquecido con Sangre. Para evaluar la sensibilidad antibacteriana se utilizó el método de Kirby -Bauer (difusión en agar) para medir el diámetro de los halos de inhibición, obtenidos a las 24 horas. El diámetro de los halos de inhibición para el grupo estándar 25.56 mm; para el extracto 40% 23.14 mm, 80% 25.68 mm y para el grupo control 6mm. En el análisis estadístico de los datos se observó una diferencia estadísticamente significativa en los diferentes grupos ANOVA ($P < 0,001$), según T-STUDENT el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* al 40% y 80% y el efecto antibacteriano de clorhexidina son similares al no haber diferencias significativas. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: *Allium sativum*, Extracto hidroalcohólico, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

This research work, experimental, quantitative level and cross section. It was performed with the objective of demonstrating the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the *Allium sativum* bulb, (garlic) on *Streptococcus mutans*. For this research work, 12 plates distributed in four groups were used, control group (70° ethanol), standard group (0.12% chlorhexidine), experimental group (40% hydroalcoholic extract) and experimental group (80% hydroalcoholic extract) which were cultivated with *Streptococcus mutans* in the middle of Mueller Hinton Agar enriched with Blood To evaluate the antibacterial sensitivity, the Kirby-Bauer method (agar diffusion) was used to measure the diameter of the inhibition halos, obtained at 24 hours. The diameter of the inhibition halos for the standard group (25.56 mm); for the extract 40% (23.14 mm), 80% (25.68 mm) and for the control group (6mm). In the statistical analysis of the data a statistically significant difference was observed in the different ANOVA groups ($P < 0.001$), according to T-STUDENT the antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the *Allium sativum* bulb at 40% and 80% and the antibacterial effect of Chlorhexidine are similar as there are no significant differences. It was concluded that the hydroalcoholic extract of the *Allium sativum* bulb (garlic) has an antibacterial effect in vitro on *Streptococcus mutans*.

Keywords: *Allium sativum*, Extract, Hydroalcoholic, *Streptococcus mutans*.

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO	i
JURADO EVALUADOR DE TESIS	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
III. HIPÓTESIS	12
IV. METODOLOGÍA	13
V. RESULTADOS.....	25
VI. CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* a concentraciones de 40 % y 80% sobre cepas de *Streptococcus mutans* incubado a 24 horas, expresados los halos en diámetro de inhibición (mm).

..... 25.

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* sobre cepas de *Streptococcus mutans* de los diferentes grupos experimentales incubado a las 24 horas.....25

.

I. INTRODUCCIÓN

La etnobotánica es la disciplina que se encarga de estudiar la relación que existe entre las plantas y el hombre; y cómo influyen las plantas en el desarrollo de las diversas culturas desde tiempos antiguos. Esta disciplina es una principal referencia de como el hombre puede utilizar la medicina convencional y así mismo culturizarse de manera general en cuanto al uso adecuado y saber de las principales plantas sus propiedades biológicamente activas utilizadas en la terapéutica, en cuanto a su desarrollo y evolución en base a estudios las plantas en la actualidad se usan como tratamiento complementario por sus propiedades terapéuticas ^(1,2).

La placa dental es la principal causa de caries dental y enfermedad periodontal. La placa es un hábitat para diferentes microorganismos. Mientras que la remoción de placa es necesaria para la prevención de la caries dental y las enfermedades periodontales, un tratamiento eficaz también debe garantizar la reducción de las bacterias de la placa. La eliminación mecánica de la placa generalmente es inadecuada y, por lo tanto, los agentes químicos, generalmente los antibióticos, también se deben usar en el proceso de tratamiento ⁽³⁾.

Sin embargo, los antibióticos a menudo tienen efectos secundarios indeseables. Aparición de resistencia a los medicamentos; cambios moleculares en los organismos, lo que podría dar lugar a una mayor virulencia; y el desarrollo de hipersensibilidad a medicamentos son los efectos indeseables notificados con mayor

frecuencia por el uso de antibióticos ⁽³⁾. Los efectos secundarios de los antibióticos, y particularmente el creciente problema de la resistencia a los antibióticos, enfatizan la necesidad de soluciones alternativas ^(4,5).

Las enfermedades orales, como la caries dental y la enfermedad periodontal son problemas de salud pública importantes en todo el mundo y la salud bucal deficiente tiene un efecto profundo en la salud general y la calidad de vida. La caries dental sigue siendo un problema de salud importante en la mayoría de los países industrializados, ya que afecta al 60 a 90% de los niños en edad escolar y a la gran mayoría de los adultos ⁽⁶⁻³⁾.

De acuerdo a lo investigado por Clarke; fue el primero en sugerir que la caries se debe a una infección de los dientes, que afirmó fue "por un estreptococo hasta ahora no descrito, *Streptococcus mutans*". Esta enfermedad ubicua es el resultado de la interacción de bacterias específicas y los constituyentes de la dieta dentro de la placa. Un biofilm natural formado en las superficies de los dientes ⁽⁷⁾.

Streptococcus mutans son cocos Gram positivos, no móviles, facultativos, microorganismos anaeróbicos, que pueden metabolizar los carbohidratos y se consideran el principal agente etiológico de la caries dental ⁽⁸⁾.

En efectos las técnicas aplicadas en la higiene oral a nivel de microorganismo, como *Streptococcus mutans*, son atractivas para el cuerpo médico odontológico ya que

aplica como atención preventiva. Es por ello que se tomó la decisión con respecto a la incorporación de agentes antimicrobianos en la profilaxis dental. Un método profiláctico establecido con eficacia en la década de mil novecientos sesenta fue el enjuague bucal para la prevención de la caries dental que demostró eficacia en la reducción de 20 y 50 %.

Hace más de veinte años que asido estudiada la clorhexidina, como agente estándar de oro contra los estreptococos mutans y la caries dental. Pero ya en la actualidad el enfoque se desarrolló en la investigación de productos naturales que respalden efectos antibacterianos derivados de la hierba y esencialmente en la prevención de la caries.

El uso de la medicina alternativa hoy en día trata de establecer efectos terapéuticos a través de estudios farmacológicos, por el cual es utilizado por ser económico y accesible para el paciente que trata de buscar la medicina a base de hierbas y productos naturales. ⁽⁹⁾. Diversos estudios evidencian la inhibición bacteriana del *Streptococcus mutans* con la exposición de variedad de extractos debido a sus diferentes componentes, especialmente el ajoeno y alicina ⁽⁷⁻⁸⁾.

En el presente informe pretende considerar productos que puedan incorporarse como alternativos o suplir a los medicamentos tradicionales ya reconocidos y referenciados de diversas investigaciones que tienen como objetivo importante el uso de las plantas medicinales. Un agente antibacteriano natural como el *Allium*

sativum sobre cultivos de *Streptococcus mutans* sería de importante relevancia a nivel clínico ya que podría ser utilizado como profiláctico en el tratamiento de caries.

De la perspectiva problemática anteriormente expuesta nos planteamos el siguiente problema de investigación: ¿El extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (Ajo) presentará efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* in vitro?

OBJETIVO GENERAL:

- ❖ Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum*, (ajo) sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ❖ Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* sobre cepas de *Streptococcus mutans* mediante el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento del microorganismo.
- ❖ Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) en las concentraciones de 40% y 80% y el efecto antibacteriano de clorhexidina al 0.12 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1.- Antecedentes

Guerrero en el 2018; evaluó el efecto in vitro del extracto acuoso de *Allium sativum* “ajo” sobre cultivos de bacterias patógenas productores de β -lactamasas, conformada por cepas *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*.; el cual se determinó mediante el promedio del diámetro de los halos de inhibición por cada patógeno en estudio, donde se prepararon concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%. Los resultados del extracto acuoso de *A. sativum* presenta efecto inhibitorio al 100% de concentración para *Escherichia coli* control 19,4 mm; *Klebsiella pneumoniae* control 26.9 mm. El cual concluyo que el extracto acuoso de *A. sativum* presentó actividad inhibitoria sobre cultivos de *E. coli* y *K. pneumoniae*, dependiendo de la concentración utilizada ⁽¹⁰⁾.

Pava en el 2016; comprobó el extracto etanolico de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* tuvo acción antimicrobiana sobre *Porphyromona gingivalis* a una concentración de 280 mg/ml. El extracto acuoso de *Allium sativum* mostro actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli* a una concentración de 150 mg/ml. Se observó que la mayor inhibición sobre *Porphyromona gingivalis* se dio por parte del extracto acuoso de *Allium sativum* obtenido en la metodología 1 a una concentración de 280 mg/ y sobre *Staphylococcus aureus* el extracto acuoso de *allium sativum* a una concentración de

150 mg/ml obtenido de la metodología 2. Presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, quinonas, cumarinas, terpenos y esteroides en *Allium sativum* y *Zingiber officin*⁽¹¹⁾.

Munayco en el 2014; investigo el efecto antimicrobiano y antifúngico del extracto de *Allium sativum* frente a cepas ATCC de *S. mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Lactobacillus casei* y *C. albicans* en diversas concentraciones aplicando como control positivo de bacterias y hongos el ciprofloxacino y fluconazol. Se determinó que el extracto hidroalcoholico presentó efecto positivo antimicrobiano contra la *S. mutans*, *Capnocytophaga sputigena* y *C. albicans* a exclusión del *Lactobacillus casei* que presento resistencia ⁽¹²⁾.

Guardia en el 2014; determino la acción antimicrobiana del Ajo en diferentes presentaciones extracto puro, extracto alcohólico y tintura ante el *Estafilococo aureus*, *Estreptococo pyogenes* y la *Cándida albicans* en infecciones bucofaríngeas. *S. aureus* ante el extracto puro mostró mayor halo de inhibición que el extracto alcohólico y la tintura, para el *S. pyogenes* a las 24 horas el extracto puro produjo mayor halo de inhibición que el extracto alcohólico y Tintura no produjo ningún halo de inhibición. *C. albicans* a las 24 horas el extracto produjo mayor halo de inhibición que el extracto alcohólico y la tintura. Los resultados determinaron que tintura, extracto alcohólico, extracto puro tienen acción antimicrobiana frente a bacterias y hongos en comparación con la Eritromicina, Penicilina y Nistatina ⁽¹³⁾.

Álvarez en el 2014, comprobó el efecto antibacteriano del extracto del *Allium Savitum* como enjuague bucal. Para su investigación trató 6 pacientes, 3 de ellos presentaban gingivitis, los otros 3 presentaban periodontitis. Tanto a los pacientes con gingivitis como los que presentaron periodontitis se les aplicó el enjuague por dos semanas, período en el cual no se presentaron complicaciones de tipo infeccioso; se observó una regeneración casi completa del tejido afectado durante el tratamiento. Después del tratamiento en una cita de control los pacientes no presentaron inflamación ni sangrado gingival ⁽¹⁴⁾.

Arévalo, (2013). Evaluó la sensibilidad de los cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente al extracto de *Allium sativum* “Ajo” con un grupo control Cefalexina para *Staphylococcus aureus*, Vancomicina para *Staphylococcus epidermidis* y Ciprofloxacino para *Pseudomonas aeruginosa*. Se observó mayor acción antibacteriana a la concentración del 100% extracto de *Allium sativum*⁽¹⁵⁾.

2.2.- Bases Teóricas

Plantas Medicinales

La planta medicinal se basa en el tratamiento no farmacológico terapéutico, como una opción de la medicina convencional en donde se usa “sus extractos en diversas formas de preparación” por sus propiedades curativas sobre el organismo ⁽¹⁶⁾.

Droga vegetal

Planta que posee principios activos englobados en los diferentes órganos del vegetal y que contienen un efecto terapéutico ⁽¹⁷⁾.

Principio Activo

Componentes químicos que constituyen y depende de su concentración y del medio para la acción farmacológica de la droga ⁽¹⁸⁾.

Extracto hidroalcohólico

Es la extracción de una planta, obteniendo líquido concentrado depurado utilizando como medio solvente el alcohol ⁽¹⁹⁾.

***Allium sativum* (ajo)**

La planta se desarrolla en clima templado frío, de origen perteneciente de Asia Central ⁽¹²⁾. Presenta un cilíndrico tallo recto después de la floración, este puede llegar a medir hasta los 50 centímetros de altura; brotan de un bulbo subterráneo, las hojas contienen nervios paralelos siendo planas y finas en la parte baja ⁽²⁰⁾.

Componentes activos.

Posee principios activos ricos en flavonoides; alicina y ajoeno, en aminoácidos; la leucina, en vitaminas; vitamina A, vitamina C, vitamina D. Su aceite esencial está compuesto por principios azufrados; garlicina, alicina y ajoeno. Las propiedades antibacterianas son atribuidas a sus componentes azufrados, cada una responsable de una característica principal, la alicina se le atribuye ser sustancia antibacteriana,

desprendiendo un olor característico. El ajoene preside de tener efecto antimicótico y antibacteriano ⁽²⁰⁾.

Por sus grupos hidroxilo y pertenecer al grupo de fenoles estos antagonizan la función del *Streptococcus mutans* ⁽²⁰⁾.

Alicina

Corrales, en el 2014 afirma a la alicina se le atribuye ser sustancia antibacteriana. Componente natural azufrado con propiedades biológicas, capaz de poder inhibir el desarrollo de hongos, bacterias hasta incluso de cepas resistentes a antibióticos ⁽¹⁸⁻¹⁹⁾. Compuesto obtenido al triturar el ajo fresco la aliina un (aminoácido), al conjugarse con Alline-liasa (proteína) quedando en alicina. Sustancia poco estable ⁽²¹⁾.

Ajoeno

Principal componente, de estabilidad con propiedades antimicóticas, antiparasitarias, antitrombóticas. Se obtiene por la ruptura de la alicina ⁽²²⁾. Este mecanismo se basa en un desorden de los fosfolípidos en la membrana, se manifiesta otorgándole efecto antibacteriano sobre cepa de *Streptococcus m* ⁽²¹⁾.

Aplicaciones terapéuticas

El ajo posee de propiedades tanto como antiséptico, diurético, hipotensor, hipoglucemiante, antiagregante plaquetario. Desde tiempos antiguos este se emplea como bactericida en infecciones, difteria, cólera, demostrando también su uso para erradicar especies dañinas del colon. Uno de sus componentes, la alicina poseedora con efectos antibacterianos ⁽²³⁾.

Microflora bucal

La colonización está representada por la sacarosa y su ruptura en glucosa y fructuosa depende de microorganismos específicos. Por la presencia de sacarosa las bacterias de Streptococcus m. sintetizan glucanos insolubles que actúan como adherentes extracelulares que favorecen su colonización ⁽²⁴⁾.

Streptococcus m.

La composición bacteriana de la placa bucal está asociada a la caries dental dentro de las cuales está presente los Streptococcus mutans son Streptococcus orales. El Streptococcus m. fracciona la sacarosa de la ingesta en la dieta, produciendo ácido y polisacáridos extracelulares (dextrano, levano, mutano). Estos compuestos ácidos perjudican la dentina a nivel bucal. Los polisacáridos quince extracelulares se unen a células epiteliales exfoliativas, restos de comida, moco y bacterias para crear la placa dental ⁽²⁵⁾.

Clorhexidina

La clorhexidina, es una biguanida, bactericida de amplio espectro ante una gran variedad de bacterias, los estudios indican que no es irritante y no presenta capacidad de absorción, presenta un efecto entre 15 a 30 segundos de tiempo y dura hasta 6 horas ⁽²⁶⁾. Uno de los agentes antibacterianos utilizado para irrigar las zonas afectadas por bacterias es el uso de la clorhexidina, la cual viene en distintas concentraciones y propiedades químicas. Es un compuesto con una variedad de usos, y es considerado como el agente más eficaz en tratamientos de enfermedades

periodontales. El mecanismo de acción de la clorhexidina se basa en reducir la formación de la biopelícula adquirida, alterando el desarrollo de las bacterias. Estos agentes se pueden conseguir en digluconato, acetato e hidrocloreuro ⁽²⁶⁾.

III. HIPÓTESIS

3.1.- Hipótesis alternativa (H1)

- ❖ El extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) si tiene efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

3.2.- Hipótesis Nula (H0)

- ❖ El extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) no tiene efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1-Diseño de la Investigación

El presente trabajo de investigación fue de diseño experimental de nivel cuantitativo y corte transversal.

Grupo control:

Conformado por 03 placas con medio de cultivo de *Streptococcus mutans* y 4 discos de etanol 70°, se incubo a temperatura de 35°C por un tiempo de 24 horas, finalizado el tiempo se procedió a la lectura de los resultados de halos de inhibición, demostrando que no tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

Grupo estándar:

Conformado por 03 placas con medio de cultivo de *Streptococcus mutans* y 4 discos de Clorhexidina 20ul. Se incubo a temperatura de 37°C por un tiempo de 24 horas, finalizado el tiempo se procedió a la lectura de los resultados de halos de inhibición.

Grupo experimental 01:

Conformado por 03 placas con medio de cultivo de *Streptococcus mutans* y 4 discos con 20ul del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* al 40%. Se incubo a temperatura de 37°C por un tiempo de 24 horas, finalizado el tiempo se procedió a la lectura de los resultados de halos de inhibición, para demostrar si el extracto hidroalcohólico presenta efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

Grupo experimental 02:

Conformado por 03 placas con medio de cultivo de *Streptococcus mutans* y 4 discos con 20ul del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* al 80%. Se incubó a temperatura de 37°C por un tiempo de 24 horas, finalizado el tiempo se procedió a la lectura de los resultados de halos de inhibición, ara demostrar si el extracto hidroalcohólico presenta efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.

4.2- Población y Muestra

Población vegetal:

La planta *Allium sativum*, crece en la provincia de Pusunchas, Distrito de Otuzco, Departamento la Libertad.

Muestra

Se reunieron 70g del bulbo de *Allium sativum* en la provincia de Pusunchas, Distrito de Otuzco, Departamento la Libertad, estos fueron escogidos bajo los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios inclusión

- ❖ Bulbos de *Allium sativum* de tamaños homogéneos.
- ❖ Bulbos de *Allium sativum* sanos.
- ❖ Bulbos de *Allium sativum* con ausencia de Oxidación.

Criterios exclusión

- ❖ Bulbos de *Allium sativum* de diferente tamaño.
- ❖ Bulbos de *Allium sativum* lacerados.
- ❖ Bulbos de *Allium sativum* con presencia de Oxidación.

Población biológica

Cepa *Streptococcus mutans*, fue facilitada por la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. Ubicada en la Provincia de Trujillo, departamento de la Libertad.

Criterios inclusión

- ❖ Cepa *Streptococcus mutans* fuera de contaminación
- ❖ Material esterilizado

Criterios exclusión

- ❖ Cepa *Streptococcus mutans* contaminada.
- ❖ Material no esterilizado.

4.3.-Definición y Operacionalización de Variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDIDA
<p>Independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (Ajo)</p>	<p>Son los compuestos químicos concentrados extraídos del bulbo de <i>Allium sativum</i> (Ajo).</p>	<p>Se utilizó dos concentraciones del extracto.</p>	<p>Extracto hidroalcohólico <i>Allium sativum</i> al 40%</p> <p>Extracto hidroalcohólico <i>Allium sativum</i> al 80%</p>	<p>Variable cualitativa Nominal.</p>
<p>Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>Bacteria Gram positiva aerobia facultativa, precursora de la caries dental.</p>	<p>Se demostró mediante la medición de inhibición alrededor del disco presente.</p>	<p>mm (milímetros)</p>	<p>Variable cuantitativa de razón.</p>

4.4 Técnicas e Instrumentos

Preparación del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum*

Se extrajo el bulbo de ajo que en total fue de 70 g de ajo (*Allium sativum*), un ajo con bulbos frescos de alta calidad. Inicialmente con agua corriente para limpiar y con agua destilada, luego retire la cascara del ajo, después corte los bulbos en pequeñas rodajas y deposite en un frasco de color ámbar de capacidad de 100 ml y adicione el solvente etanol 70° hasta cubrir completamente el material vegetal, se agito y se tapó. Se macero por un periodo de 10 días, agitando esporádicamente el contenido. Al finalizar el periodo de maceración, se filtró el macerado con papel filtro Whatman N.º 1⁽²⁷⁾.

La solución resultante, fue llevada a sequedad a un rotavapor a presión reducida y temperatura controlada, no mayor a 45°C; equipo que se utilizó para eliminar el solvente y obtener un residuo seco del extracto hidroalcohólico; luego se pesó los residuos secos y se guardó en refrigeración a 2°C en un frasco de color ámbar. Al finalizar se obtuvo como peso neto 28 g de extracto, logrando como porcentaje de rendimiento 40%. A partir del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) puro (100%) se prepararon 2 concentraciones de 40% y 80% respectivamente. Para eso se procedió a realizar las diluciones utilizando como solvente agua (H₂O). Las concentraciones obtenidas se colocaron en un frasco color ámbar sin exposición a la luz, para evitar alterar su composición química del extracto. (ver anexo N° 01)⁽²⁷⁾.

Método Kirby – Bauer (difusión en agar)

La actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico se evaluó empleando la técnica de difusión en agar (Método de Kirby – Bauer) .Se elaboró la suspensión del inóculo (*Streptococcus mutans*) hasta alcanzar el estándar de turbidez de 0.5 de Mc Farland, equivalente a 1.5×10^8 CFU/ml , seguidamente se realizó el sembrado en las placas de Mueller Hinton Sangre , se colocaron los discos con 20 ul del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* de las concentraciones de 40% y 80% para los grupos experimentales y clorhexidina al 0.12% para el grupo de control estándar de referencia , con la ayuda de una micropipeta regulable.

Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas, finalizado el tiempo de incubación, se procedió con la medición del diámetro de inhibición presentes alrededor del disco, para ello se utilizó una regla milimetrada 0.05(vernier)⁽²⁸⁾.

Preparación de discos de Sensibilidad

Para su preparación se utilizó papel filtro con un perforador básico. Estos discos fueron esterilizados en autoclave a 121°C x 15 libras de presión x 15 minutos⁽²⁸⁾.

Preparación del medio de cultivo

El medio adecuado para el crecimiento de bacterias es el Agar Mueller Hinton ya que presenta excelente reproducibilidad de las pruebas de sensibilidad y se suplementa sangre al 5%, ya que este permite realizar la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos para organismos *Streptococcus mutans*, se agrega al medio antes de

distribuirlo a las placas Petri, preparándose así Agar Mueller Hinton Sangre.

El agar Mueller Hinton se fundió a 80°C y 100°C utilizando un mechero Bunsen. Se dejó solidificar a temperatura de 45°– 50°C hasta que el exceso de humedad se evapore⁽²⁹⁾

Su distribución se hizo en placas Petri estériles, en volumen apropiado para que el espesor sea de 4mm sobre la superficie horizontal (25 -30 mL en placas de 9 cm de diámetro) colocándolas verticalmente con las tapas entreabiertas⁽²⁹⁾.

Inoculación de las placas

Se selecciono una de las placas incubadas por 24 horas con cultivo (*Streptococcus mutans*) y con el apoyo de un hisopo estéril, se seleccionaron colonias y se preparó una suspensión directa en solución salina fisiológica estéril en un tubo de ensayo. La suspensión debe ser ajustada hasta obtener una turbidez equivalente a la escala 0.5 del Nefelómetro Mc. Farland (1.5×10^8 UFC/mL).

Posterior a los 15 minutos transcurridos del ajuste de turbidez del inóculo, se escogió un hisopo estéril el cual se sumergió en la suspensión, se giró el hisopo consecuentemente presionando la pared interior del tubo de ensayo, pasando el nivel del líquido al fin de remover el exceso. Seguido se inocularon con el hisopo las superficies secas de la placa Petri con Agar Mueller Hinton Sangre, mediante la forma de zigzag en tres direcciones para lograr distribuir la bacteria uniformemente en toda la superficie del agar. Al termino, se dejó secar el inóculo a temperatura ambiente durante 5 minutos para evitar cualquier exceso de humedad sea absorbido

(28).

Aplicación de los discos

Se colocaron los discos con 20µl del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* al 40% y 80% en la superficie del Agar Mueller Hinton Sangre cultivadas con cepas de *Streptococcus mutans*, con la ayuda de una pinza estéril se presionó cada disco con suma delicadeza para lograr un contacto uniforme con el medio. Para su identificación se marcaron con un plumón las placas sembradas, colocando el nombre, concentración, fecha para su registro ⁽²⁸⁾.

Se empleó como control estándar a clorhexidina al 0.12% y teniendo como grupo control negativo a etanol al 70°.

Incubación

Las placas Petri se incubaron en posición invertida para que el agua de condensación (desprendida por el calor de la estufa) no altere la siembra, se llevó las placas a la estufa a 37°C por 24 horas, utilizando la jarra Gaspak aplicando el método de la vela para brindarle condiciones de anaerobiosis, CO₂ al 5%; y así lograr una adecuada incubación de los microorganismos ⁽²⁹⁾.

Lectura de resultados

Finalizado el tiempo de incubación, se procedió con la medición del diámetro de inhibición para ello se utilizó una regla milimetrada 0.05(vernier).

Escala de Duraffourd:

Escala aplicada que determina de manera cualitativa el efecto inhibitorio in vitro, según el diámetro de los halos de inhibición.

- ❖ (-) Nula, establecida para un diámetro inferior a 8 mm.
- ❖ (sensible +) Sensibilidad limite, establecida para un diámetro entre 8 a 14 mm.
- ❖ (Muy sensible ++) Medio, establecida para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- ❖ (+++) Sumamente sensible, establecida para un diámetro superior a 20 mm.

4.5-Plan de Análisis

Los resultados obtenidos fueron procesados aplicando el programa de datos en Microsoft Excel, se usó la prueba de ANOVA para comparar los promedios del diámetro de inhibición de los grupos experimentales y la T- student (prueba paramétrica) para comprobar mediante el promedio de inhibición cuál de los grupos experimentales comparados presenta diferencia significativa, esta prueba permite comparar la hipótesis nula con la hipótesis afirmativa para poder determinar la diferencia significativa.

4.6.- Matriz de Consistencia

Título de la Investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Diseño de la Investigación	Variables	Definición Operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (Ajo) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> .	¿El extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (Ajo) presentará efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> in vitro?	<p>Objetivo General Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i>, (ajo) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Objetivos Específicos Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> mediante el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento del microorganismo.</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) en las concentraciones de 40% y 80% y el efecto antibacteriano de clorhexidina al 0.12 % sobre <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>Hipótesis alternativa (H1) El extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) si tiene efecto antibacteriano sobre cepas <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Hipótesis Nula (H0) El extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (ajo) no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	La presente investigación fue de tipo experimental de Nivel Cuantitativa y Corte Transversal.	<p>Independiente Extracto hidroalcohólico del bulbo de <i>Allium sativum</i> (Ajo).</p> <p>Dependiente Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>Concentraciones del extracto hidroalcohólico al 40% y 80%.</p> <p>Se demostró mediante la medición del diámetro de inhibición del crecimiento del microorganismo.</p>	<p>Indicador: Extracto hidroalcohólico 40%</p> <p>Extracto hidroalcohólico 80%.</p> <p>Escala de medición: Cualitativa Nominal</p> <p>Indicador: mm(milímetros)</p> <p>Escala de medición: Variable Cuantitativa de razón.</p>	<p>Se aplico la prueba estadística de ANOVA</p> <p>T-student</p>

4.7.-Principios Éticos

El presente trabajo de investigación de tipo experimental, in vitro el cual se trabajó con medios de cultivo (bacterias), acatando las normas establecidas del Manual de Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología; utilizando las técnicas y/o procedimientos en el laboratorio de manera adecuada y responsable para prevenir posibles eventos de contaminación tanto para el medio ambiente y para las personas que participaron en el desarrollo del mismo ⁽³⁰⁾.

El trabajo citado se basó en los principios éticos que establece el código de ética para la investigación de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, los cuales consisten en ⁽³¹⁾:

Protección a las personas: La persona en toda investigación es el fin y no el medio, por ello se requiere cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio ⁽³¹⁾.

Justicia: El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas ⁽³¹⁾.

Integridad científica: El investigador debe regirse bajo la integridad y la rectitud de la actividad científica, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que pueden afectar a quienes participan en una investigación ⁽³¹⁾.

Consentimiento informado: En toda investigación se debe contar con la manifestación de voluntad, informada, libre; mediante la cual las personas como

sujetos investigadores o titular de los datos consienten el uso de información para los fines específicos establecidos en el proyecto ⁽³¹⁾.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 1. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* a concentraciones de 40 % y 80% sobre cepas de *Streptococcus mutans* incubado a 24 horas, a través de halos de inhibición de crecimiento(mm).

EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
Etanol 70°	Clorhexidina	Extracto A.s 40%	Extracto A.s 80%	Anova P
12	12	12	12	
6.0	25.56	23.14	25.68	0.001
0.0	0.52	0.79	0.55	

*Sig. P (<0.05)

A.S: *Allium sativum*

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* sobre cepas de *Streptococcus mutans* de los diferentes grupos experimentales incubado a las 24 horas.

GRUPOS
Comparación efecto antibacteriano

Parámetros	Clorhexidina	Exp.1 40%	Exp.2 80%	t
Muestra	12	12	12	8.75
Promedio	25.56	23.14	25.68	0.56
Desviación estándar	0.52	0.79	0.55	9.06
t				0.00

PRUEBA T- STUDENT

Leyenda:

Exp.1: Extracto hidroalcohólico 40%

Exp.2: Extracto hidroalcohólico 80%

5.2 Análisis de Resultados

El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* sobre *Streptococcus mutans* fue evaluado de la siguiente manera.

En la tabla 01: se evaluó los diferentes grupos experimentales iniciando por el grupo control, este presenta el diámetro del halo de 6mm por el cual no presenta actividad antibacteriana. Los resultados para el grupo control estándar, Clorhexidina 0.12% presentan el diámetro de inhibición de 25.56 mm dato que explica la sensibilidad para *Streptococcus mutans*. La concentración del extracto al 40% para el grupo experimental 01, se observa un diámetro promedio de 23.14 mm y grupo experimental 02 al 80% 25.68mm.

En base al recojo de resultados estos se compararon en un rango establecido para medir su sensibilidad en base al diámetro de inhibición. Así mismo la acción antibacteriana del extracto hidroalcohólico al 80% fue significativamente mayor al 40% y presenta una igualdad de acción antibacteriana con Clorhexidina 0.12%. Para comparar todos los grupos experimentales, se aplica la prueba paramétrica (ANOVA), con un valor de significancia 0.001, lo que explicaría que existe una diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto, el extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* si tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados de este estudio, se asemejan a lo encontrado por Munayco, quien refiere que el extracto de *Allium sativum* presentan actividad antibacteriana y antifúngica sobre varias cepas *C. sputigena*, *L. scasei* y *C. albicans*. Munayco utilizó el extracto del bulbo de *Allium sativum* logrando obtener halos de inhibición de 20mm y 24mm en *Capnocytophaga sputigena* y *C. albicans*, en cambio en el presente trabajo obtuvo mayor promedio de halo de inhibición de 25.68 mm correspondiente a la concentración del 80%.

El mecanismo de acción para la actividad antibacteriana que presenta los compuestos sulfurados se atribuye principalmente a la alicina componente biológico y bioquímicamente activo del *Allium sativum*. Este es reactivo al estar expuesto al aire se transforma en disulfuro de dialilo el cual posee efectos antibacterianos, y la reducción por la cisteína interrumpirá el enlace disulfuro en las proteínas presentes microbianas ⁽²⁶⁾. Así, el ajo actúa inhibiendo la fosfatidilcolina generando desorden en el empaquetamiento de los fosfolípidos de la membrana bacteriana mediante la

interacción de los grupos sulfhidrilos de los residuos de cisteína ⁽²⁶⁾.

El mecanismo de acción de la clorhexidina se basa en reducir la formación de la biopelícula adquirida, alterando el desarrollo de las bacterias ⁽²⁹⁾. Su La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas, esta precipita el citoplasma y interfiere con la función de la membrana; inhibiendo la utilización del oxígeno, lo que ocasiona disminución de los niveles de ATP y la muerte celular ⁽²⁹⁾.

En la tabla 02: se realizó la comparación mediante la prueba de T-STUDENT del grupo control estándar y los dos grupos experimentales del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* a concentración de 40% y 80% frente a Clorhexidina.

Al comparar el efecto antibacteriano de las dos concentraciones del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* y Clorhexidina 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* , se demostró que la concentración al 80% presento igual efecto antibacteriano que la clorhexidina y al 40% presento una diferencia significativa entre los promedios del diámetro de inhibición, pero entre la concentración de 40% y 80% si existe una diferencia significativa del promedio del diámetro de halos , lo que indica que el extracto de *Allium sativum* a la concentración de 80% tuvo mayor efecto antibacteriano.

Los resultados demostraron que el *Streptococcus mutans* es sensible a la acción del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* , a mayor concentración se obtiene mayor diámetro de inhibición.

VI. CONCLUSIONES

- ❖ El extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) demostró efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- ❖ El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico se determinó mediante el diámetro de los halos de inhibición al 40% (23.14mm) y con mayor halo de inhibición al 80% (25.68mm).
- ❖ El extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum* (ajo) al comparar demostró que la concentración al 80% presento igual efecto antibacteriano que la clorhexidina 0.12% y al 40% presento una diferencia significativa entre los promedios sobre *Streptococcus mutans*.

RECOMENDACIONES

- ❖ Es recomendable incentivar como medicina natural el *Allium sativum*, por sus alcances en propiedades terapéuticas, siempre regido a un estándar de dosis adecuado.
- ❖ Se recomienda trabajar un proyecto, para la formulación de un jarabe dental libre de su olor característico hecho a base de *Allium sativum* (Ajo).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baltazar C. La etnobotánica y su importancia como herramienta para la articulación entre conocimientos ancestrales y científicos. Monografía. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación. Bogotá, 2016. [Citado 15 de junio, 2019]. Disponible en: <http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/3523/1/Carre%C3%B1oHidalgoPabloCesar2016.pdf>
2. Rodríguez Y. Etnobotánica, diversidad fitoquímica y conservación de especies de interés medicinal en el Parque Nacional Viñales. Habana, CUBA: Editorial Universitaria, 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=418369>
3. Olivares C. Calixto M. Plantas medicinales utilizadas en odontología. Kiru.2006; 3 (2): 80- 5. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <http://www.usmp.edu.pe/servicio/2006rv2/kiru7.pdf>
4. Contrell S, Plumer S. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Microbiology Group, School of Biosciences, University of Wales, Cardiff, UK. 2014.[Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <https://springer.com/article/10.1007%2Fs002530100722>

5. Días L. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Mintostachys Griseb* (Muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2811/Diaz_lk.pdf?sequence=1&isAllowed=y

6. Thomas A, Thakur S. Comparison of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine, sodium fluoride, fluoride with essential oils, alum, green tea, and garlic with lime mouth rinses on cariogenic microbes. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2015. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <http://www.jispcd.org/article.asp?issn=22310762;year=2015;volume=5;issue=4;spage=302;epage=308;aulast=Thomas>

7. Sundas S, Rao A. Comparative evaluation of chlorhexidine and sodium fluoride mouthwashes on streptococcus mutans. *Journal of Nepal Dent Association*. 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/235525979_Comparative_evaluation_of_chlorhexidine_and_sodium_fluoride_mouthwashes_on_streptococcus_mutans.

8. Ponce A, Millones A. Antibacterial effectiveness of natural products against. In *Crescendo Ciencias de la salud*. 2015. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <https://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendo-salud/index>

9. Purca P. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3092/urca_pt.pdf?sequence=1&isAllowed=y

10. Moromi N, Martínez C. Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina*. 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/odont/article/view/3011> index.php/

11. Marcantoni M. Ecología de la Cavidad Bucal. In Negroni M. *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica*. 2nd ed. 2018. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: http://www.odonto.unam.mx/sites/default/files/inline-files/2_microbiologia.pdf

12. Munayco P, Moromi N. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Instituto de Investigación Estomatológica Universidad Nacional Mayor de San Marco, 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <https://revistas.investigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odon/article/view/5400/5855>

13. Navarro V, Villarreal M. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican Ethnopharmacol traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *J.of.* 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en : <https://pdfs.semanticscholar.org/e51b/462e92fa22689046d339c8bec2bc0e1047e.pdf>

14. Marcantoni M. Ecología de la Cavidad Bucal. In Negroni M. *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.* 2nd ed. Argentina: Medica Panamerica; 2014. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: http://www.odonto.unam.mx/sites/default/files/inline-files/2_microbiologia.pdf

15. Negroni M. *Microbiología Bucal III: Ecología de la cavidad bucal.* In *Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica.* 2015. [Citado 15 de junio del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v28n2/v28n2a09.pdf>

16. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Callería District. *J Ethnopharmacol.* 2005; 99 (2): 309–12. [Citado 15 junio 2019] Disponible en: Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants

17. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 -2 023. Organ Mund la Salud. [Internet].2013;72. Availablefrom: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>

18. Nancy J, Ruiz-P, Myriam A Aspectos farmacocinéticos del fluconazol [Internet]. *Rev Fratianni F, Riccardi R, Spigno P, Ombra MN, Cozzolino A, Tremonte P, et al. Biochemical Characterization and Antimicrobial and Antifungal Activity of Two Endemic Varieties of Garlic (Allium sativum L.) of the Campania Región, Southern Italy. J Med Food [Internet]. 2016. [citado 15 Junio 2019];19(7):686–91.* Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2016.0027>

19. Daniel Danladi, Aisha Haruna ABKM. Antifungal Activity of Garlic (Allium sativum) Extract on Some Selected Fungi. *J Med Herbs Ethnomedicine [Internet]. 1970 Jan 1 [citado 15 Junio 2019];12–4.* Available from: <http://updatepublishing.com/journal/index.php/jmhe/article/view/3383>

20. Salvador Ilana I, Loring Barillas K. Plantas medicinales en España. uso, propiedades y precauciones en la actualidad [tesis]. España junio 2017 facultad de farmacia universidad complutense [Citado 15 de agosto 2019] Disponible En:
<http://147.96.70.122/web/tfg/tfg/memoria/irene%20salvador%20llana.pdf>
21. Miguelañez B, Pastor M, Sarría B. Estado actual de la etiología de la caries dental. Revisión bibliográfica del último año [internet]. Univ. Rey. Ju. Carl. 2007 [citado el 15 de agosto del 2019]. disponible en:
https://biopat.es.urje.es/conganat/files/2006-2007_G13.pdf
22. Robles G. Efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal y el Clotrimazol sobre cultivos de *Cándida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016 (In vitro antimycotic effect of garlic solution (*Allium sativum*), colloidal oats (*Avena sativa*) and Clotrimazole on cultures of *Cándida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016). Cienc Desarro [Internet]. 2017 Dec.22 [cited 15 Junio del 2019];20(2):49 Available from:
<http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/article/view/1488>
23. Lowbury E, Lilly A. Use chlorhexidine detergent solution and other methods of skin disinfection. Br Med J. 1973;1 (5852): 510-515.

24. Gerd N, Larsson L, Christensen K, Christensen P, Dykes A. Chlorhexidine for prevention of desinfection with Group B streptococcus. Effect washing with chlorhexidine. *Eur Odontología Reproduct Biol.* 1989; 31(3): 221-226.

25. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002.

26. Ball AJ, Carr W, Gillespie A, Kelly M, Simpson A, Smith J. Bladder irrigation with chlorhexidine for the prevention of urinary infection after transurethral operations. A prospective controlled study. *J Urol.* 1987; 138(3): 491-494.

27. Robles G. Efecto antimicótico in vitro de la solución de ajo (*Allium sativum*), la avena coloidal (*Avena sativa*) y el Clotrimazol sobre cultivos de *Cándida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016 (In vitro antimycotic effect of garlic solution (*Allium sativum*), colloidal oats (*Avena sativa*) and Clotrimazole on cultures of *Cándida albicans* (ATCC 10231), Trujillo - 2016). *Cienc Desarro* [Internet]. 2017 Dec.22 [citado 15 agosto 2019];20(2):49 Available from: <http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/article/view/1488>

28. Bernal R. M, Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer Biomédica. [Internet] [citado 15 agosto 2019];4(3-4):112
Available.from:<http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/articloe/view/1891>.
29. Fernández B, Guarro J. Universidad Rovira i Virgili. Facultad de Medicina i Ciencias de la Salud de Reus., Universitaria Rovira i Virgili. departamento de Ciencias diques siques. Universitaria Rovira Virgili. Unidad de Microbiología. sensibilidad antifúngica de los dermatofitos tesis doctoral [Internet]. TDX (Tesis. Doctoral sen Xarxa). [Universitat Rovira.i Virgili];2006 [cited 15 agosto 2019]. Disponible en:
<https://www.tdx.cat/handle/10803/8718;jsessionid=FB3A6477F8C99B94E0598027F478F4>
30. Fica A, Ruíz G, Yunes A. Normas de manejo de desechos hospitalarios REV. Medwave. [Internet] 2008 [citado 10 septiembre 2019];3(3)Disponible en:
<tp://www.digesa.minsa.gob.pe/DEPA/residuos> / Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

31. Código de ética de la Investigación. Versión 001. Aprobado por acuerdo del Consejo Universitario con Resolución N° 0973-2019-CU-Uladech católica, de fecha 15 de agosto de 2019. [Citado 10 septiembre 2019]. Disponible en: [https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo -de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf](https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf)

ANEXOS:

Anexo 01: Concentración final del extracto hidroalcohólico del bulbo de *Allium sativum*.

Volumen extracto hidroalcohólico	Volumen H ₂ O	Volumen final	Concentración
35.2 ml	52.8 ml	88 ml	40%
70.4 ml	17.6 ml	88 ml	80%

Anexo 02: Diámetro de inhibición en mm. Control estándar (clorhexidina) sobre *Streptococcus mutans* a 24 hrs.

	Estándar farmacológico (Clorhexidina)				Valor promedio	Desviación estándar
Placa 01	25	26	25.2	25	25.3	0.476095229
Placa 02	25.2	25	26	26.3	25.62	0.623832242
Placa 03	26.4	26.2	25.9	26	25.55	0.640312424
					25.68	0.554040