



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES  
CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO  
HIDROETANÓLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE  
*Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019**

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

**AUTORA  
CRUZ ZUMARAN, KATIA YERALDIN  
ORCID: 0000-0002-6683-2454**

**ASESORA  
HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA  
ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2022**

## **2. Equipo de trabajo**

### **AUTOR**

Cruz Zumaràn, Katia Yeraldin

ORCID: 0000-0002-6683-2454

Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, Estudiante de Pregrado,  
Trujillo, Perú

### **ASESOR**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de  
Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología,  
Trujillo, Perú

### **JURADO**

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID ID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio

ORCID ID: 0000-0002-5873-132X

Ángeles García, Karen Milena

ORCID ID: 0000-0002-2441-6882

### 3. Firma del jurado y asesor

---

Mgtr. DE LA CRUZ BRAVO, JUVER JESÚS

PRESIDENTE

---

Mgtr. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO

MIEMBRO

---

Mgtr. ÁNGELES GARCÍA, KAREN MILENA

MIEMBRO

---

Mgtr. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ASESOR

## 4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria

### Agradecimiento

**A Dios**, por haberme dado vida, salud y fuerza, para lograr mis objetivos, además de mucha paciencia y persistencia.

**A mi institución Policial**, mis jefes de Unidad por brindarme su apoyo moral en todo momento, motivándome a no darme por vencida y pensar que todo en esta vida tiene solución y todo es posible con esfuerzo y dedicación. No dejando de cumplir con mis obligaciones y funciones como efectivo policial.

**A mis docentes** que me brindaron su apoyo, que resolvieron mis dudas y me alimentaron con sus conocimientos, reflejados en sus experiencias de esta hermosa carrera de Odontología, me motivaron a no darme por vencida y seguir con esa superación por terminar mi segunda carrera.

## **Dedicatoria**

**A Dios**, por haberme dado vida, salud y fuerza, para lograr mis objetivos, además de mucha paciencia y persistencia.

**A mis padres**, Carlos Rodríguez Luna Victoria y Madrid Zumaràn Rosado por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su infinito amor.

**A mi tío**, General de División EP Manuel Rodríguez Luna Victoria, por su apoyo incondicional en todo momento, por sus consejos, sus valores, para seguir superándome en mi profesión.

## 5. Resumen

La investigación tuvo por **objetivo:** Comparar, *in vitro*, el efecto antibacteriano entre los extractos hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** De tipo cuantitativo, experimental, transversal y prospectivo. La población estuvo conformada por 40 muestras distribuidas en 4 grupos de 10, en donde fueron sometidos a los extractos hidroetanólicos de *G. americana* al 20%, al 40%, al 60% y al 0.12% fue clorhexidina. Los grupos experimentales fueron sometidos a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  ufc/ml de *S. mutans* ATCC 25175, utilizando el método de difusión en agar o método Kirby Bauer. El efecto antibacteriano se determinó mediante el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por cada concentración. La prueba estadística de Kruskal-Wallis logró determinar la diferencia significativa entre cada concentración evaluada. **Resultados:** Se pudo determinar que el *S. mutans* ATCC 25175 presentó sensibilidad a todas las concentraciones, al 20% presentó un halo de 8.75 mm clasificado como sensible, al 40% presentó un halo de 13.41 mm clasificado como muy sensible y al 60% presentó un halo de 16.97 mm clasificado como muy sensible. **Conclusión:** El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) presentó mayor efecto antibacteriano para la concentración al 60% comparada con las otras dos concentraciones (20% y 40%) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras claves:** Antibacteriano, cáscara, extracto, *Streptococcus mutans*,

## Abstract

The research **aims** to: compare, in vitro, the antibacterial effect between the hydroethanolic extracts of the skin and pulp of *Genipa americana* (Jagua) on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Methodology:** The population consisted of 40 samples distributed in 4 groups of 10, where they were subjected to hydroethanolic extracts of *G. americana* at 20%, 40%, 60% and 0.12% respectively. **Results:** *S. mutans* ATCC 25175, using the agar diffusion method or Kirby Bauer method. The antibacterial effect was determined by the diameter of the bacterial growth inhibition halos produced by each concentration. The Kruskal-Wallis statistical test was able to determine the significant difference between each concentration evaluated. Results: *S. mutans* ATCC 25175 presented sensitivity at all concentrations, 20% presented a halo of 8.75 mm classified as sensitive, 40% presented a halo of 13.41 mm classified as very sensitive and 60% presented a halo of 16.97 mm classified as very sensitive. **Conclusion:** The hydroethanolic extract of the rind and pulp of *Genipa americana* (Jagua) presented greater antibacterial effect for the 60% concentration compared to the other two concentrations (20% and 40%) on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Keywords:** antibacterial, *extract*, shell, *Streptococcus mutans*.

## 6. Contenido

1. Título de la tesis.....	i
2. Equipo de trabajo .....	ii
3. Firma del jurado y asesor .....	iii
4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria .....	iv
5. Resumen.....	vi
6. Contenido.....	viii
7. Índice de tablas y gràficos .....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISÒN DE LA LITERATURA .....	4
III.HIPÒTESIS .....	20
IV.METODOLOGÌA.....	21
4.1 Diseño de la investigación .....	21
4.2. Población y muestra.....	22
4.3 Definición y operacionalización de variables .....	24
4.4Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	25
4.5 Plan de análisis .....	30
4.6 Matriz de consistencia .....	31
4.7 Principios éticos y legales.....	32
V.RESULTADOS.....	33
5.1.Resultados .....	33
5.2 Análisis de los resultados.....	36
VI.CONCLUSIONES .....	40
Aspectos complementarios.....	41
Referencias Bibliográficas.....	42
Anexos.....	47

## 7. ÍNDICE DE TABLAS Y GRAFICOS

### Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Trujillo 2019.....	33
Tabla 2: Test de Duncan, efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Trujillo 2019.....	35

## Índice de gráficos

Gráfico 1: Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Trujillo 2019. ....	34
---	----

## I. INTRODUCCIÓN

En la odontología, la caries, es descrita como una patología infecciosa que induce la desmineralización de las piezas dentarias y por ende forma una lesión cariosa. Esta enfermedad presenta una etiología multifactorial que involucra muchos factores, entre ellos el factor microbiano. Los estudios indican que, uno de los microorganismos causantes de la caries es el *Streptococcus mutans*, el cual pertenece a los anaerobios facultativos. <sup>1</sup>

*Streptococcus mutans*, es un Gram positivo de interés cariogénico, se encarga de producir glucanos extracelulares, a partir de la sacarosa y produce ácidos. Algunos estudios, realizan estudios en la saliva, con el propósito de identificar pacientes con alto riesgo cariogénico. <sup>2</sup>

Según la OMS, indicó que el 80% de individuos dependen de la medicina tradicional en el uso de enfermedades leves, asimismo, en los países desarrollados, el 25% de los fármacos están basados en las hierbas medicinales y sus derivados <sup>3</sup>.

*Genipa americana*, es un árbol de 15 a 20 metros de altura, presenta hojas redondeadas, decusadas, de 8 a 30 centímetros de largo. Algunos estudios han demostrado que dicha planta presenta efectos antibacterianos en algunas bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Aunque no se han reportado estudios sobre bacterias de la cavidad oral, los investigadores indican que presenta efecto antibacteriano sobre bacterias Gram positivas. <sup>4</sup>

Dado lo escrito anteriormente, se formuló el siguiente enunciado del problema: ¿Cuál es el efecto antibacteriano de tres concentraciones del

extracto hidroetanólico de la cascara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo-2019? Es por ello que, el objetivo general de este estudio fue comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) de tres concentraciones sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo 2019; y como objetivos específicos evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* sobre cepas de *Streptococcus mutans*(Jagua) ATCC 25175, al 20%, al 40%, al 60%, en la Provincia de Trujillo durante el año 2019.

Por otro lado, la investigación se justifica convenientemente ya que existen estudios limitados sobre el uso de algunas plantas medicinales como de *Genipa americana* sobre *Streptococcus mutans*, además, con los resultados de este estudio, se pueden elaborar productos odontológicos con efectos antibacterianos a un bajo costo y muy efectivos que permitan disminuir el riesgo cariogénico en nuestra comunidad trujillana. Los productos naturales se han convertido en una buena opción porque, han demostrado mediante investigaciones científicas que presenta actividades farmacológicas que le otorgan propiedades medicinales. Esta investigación es factible de realizar, debido a que se cuenta con la especie vegetal, infraestructura y personal para ejecutar la investigación.

La metodología fue de enfoque cuantitativo, el diseño del estudio fue experimental, transversal, prospectivo y analítico. Para este estudio se elaboraron extractos hidroetanólicos de la cáscara y pulpa de *Genipa*

*americana*(Jagua)sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, al 20%, al 40%, al 60%, y un control positivo que fue gluconato de clorhexidina al 0,12%.

En los resultados se encontró que *S. mutans* ATCC 25175 presentó sensibilidad a todas las concentraciones, para la concentración del extracto al 20% presentó un halo de 8.75 mm clasificado como sensible, la concentración del extracto al 40% presentó un halo de 13.41 mm clasificado como muy sensible y la concentración del extracto al 60% presentó un halo de 16.97 mm clasificado como muy sensible, concluyéndose que el extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) presentó mayor efecto antibacteriano para la concentración al 60% en comparación con las otras dos concentraciones sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La investigación consta de tres apartados principales: introducción, enunciado del problema, los objetivos; justificación; revisión de la literatura y la hipótesis de investigación. Seguido la metodología estableciendo el tipo, nivel y diseño de investigación, población y muestra, la operacionalización de variables; técnica e instrumento de recolección de datos, plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos. Finalmente se presentó los resultados mediante tablas y gráficos cada uno con su interpretación, el análisis de resultados, conclusiones y recomendaciones.

## II. REVISION DE LA LITERATURA

### Antecedentes

### Internacionales

**Rivadeneira A.<sup>6</sup> (Ecuador, 2018).** Se realizó un estudio sobre “Determinación de la actividad bactericida de los compuestos fenólicos presentes en la (*Genipa americana* L.) frente a *Staphylococcus aureus*”. El **Objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de la jagua. **Metodología:** Para el estudio se elaboraron extractos de la cáscara y pulpa, etanólicos en concentraciones de 1:10, 1:50, 1:100, 1:1000 y un extracto puro al 100%, los extractos fueron agregados sobre las cepas de *S. aureus*, previamente activadas y sembradas en un medio de cultivo. La actividad antibacteriana se midió según los halos de inhibición bacteriana. Los **Resultados** indicaron que, el extracto con etanol de la pulpa obtuvo un mayor halo inhibitorio con el extracto puro con un promedio de 12.3 mm, el extracto con etanol de la cáscara 6.3 mm, el extracto con metanol de la pulpa 7.6 mm y el extracto con metanol de la cáscara 8 mm, todos con el extracto puro. En **Conclusión**, los extractos con etanol y metanol con el extracto puro presentaron mayor efecto antibacteriano.

**Brandao F, et al.<sup>7</sup> (Brasil, 2017).** Realizo un estudio sobre “Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de genipa, baru y taruma”. El **Objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano de Jagua en

diferentes bacterias. **Metodología:** Para el estudio se elaboró un extracto hidroalcohólico de la pulpa, cáscara y semilla de jagua en concentraciones de 10%, 20% y 30%, estos extractos fueron agregados sobre las cepas de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, y *C. albicans* activados y sembrados en un medio de cultivo. El efecto antibacteriano se midió por el método de difusión de disco. Los **Resultados** indicaron que, para el extracto de la cáscara obtuvo mejores resultados en la concentración al 30% en *S. aureus* obtuvo 4.67 mm, para *E. coli* 2.33 mm, y *P. aeruginosa* 1.67 mm, para el extracto de la pulpa obtuvo mayores efectos al 30% sobre *Staphylococcus aureus*, con 6.50 mm y para el extracto de la semilla al 30% se obtuvo 4.33 mm. **Conclusión**, todos los extractos mostraron potencial para la actividad antimicrobiana, particularmente los extractos de pulpa de jagua.

**Silva P, et al.** <sup>4</sup> (Brasil, 2017). Realizo un estudio sobre “Citotoxicidad in vitro y actividades biológicas de extractos etanólicos de *Genipa americana* (Rubiaceae)”. El **Objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de jagua en diferentes bacterias. **Metodología:** Para el estudio se elaboraron extractos etanólicos de las hojas y frutos de jagua en concentraciones de 10, 2.5, 1, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/mL, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* previamente activados y sembrados en un medio de cultivo. Se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los **Resultados** indicaron que, para los extractos de las hojas no se obtuvieron resultados por no presentar efectos antibacterianos, mientras que en los extractos del fruto para

*Escherichia coli* en la concentración de 1 mg/ml se obtuvo halos de inhibición de 13 mm al igual que 2.5 mg/mL y para 10 mg/mL se obtuvo 14 mm y para *S. aureus* en las mismas concentraciones halos de 11mm, 14 mm y 18 mm. **Conclusión**, el extracto del fruto de Jagua presenta efectos antibacterianos desde la concentración de 1 mg/mL.

**Menengueti T, et al.<sup>8</sup> (Brasil, 2016)**. Realizo un estudio sobre “Aislamiento de compuestos antimicrobianos de Jenipapo (*Genipa americana* L.) Frutas”. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del fruto de jagua en bacterias Gram positivas y negativas. **Metodología:** Para el estudio se elaboró un extracto crudo de la pulpa de jagua en concentraciones del 256µg/mL-1 y 128 µg/mL-1, estos extractos fueron expuestos sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*. Los **Resultados** indicaron que, para la concentración de 256 µg/mL-1 obtuvo una inhibición de 61.4% contra *E. coli*, 62% contra *S. aureus* y 53.9% hacia *E. faecalis*, para la concentración de 128 µg/mL-1 se obtuvo 47.6%, 38.9% y 17.3% contra *E. coli*, *S. aureus* y *E. faecalis*. **Conclusión**, el extracto crudo de la pulpa de jagua presentó efecto antibacteriano frente bacterias Gram positivas y negativas.

**Gabas G, et al.<sup>9</sup> (Brasil, 2015)**. Realizo un estudio sobre “Actividades antimicrobianas y antioxidantes de un extracto de etanol de *Genipa americana*”. **Objetivo:** Evaluar la presencia de polifenoles, actividad antimicrobiana y antioxidantes del extracto de etanol de *G. americana*. **Metodología:** Las hojas fueron cosechadas en Brasil. Este

material se maceró con etanol durante cinco días. El extracto etanólico se probó frente a aislados clínicos de *Staphylococcus intermedius* y *Pseudomonas aeruginosa*, obtenidos de perros que presentaban dermatitis. El método ABTS se utilizó para determinar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles se determinó con Folin-Ciocalteu. Los **Resultados** indicaron que el contenido total de polifenoles en el extracto de *G. americana* fue de 111,73 mg/100g, mientras que la actividad antioxidante correspondió a 89 mM/g. Las MIC fueron de 1,25 mg / ml para ambas cepas de bacterias. **Conclusión:** el extracto etanólico de las hojas de jagua presentaron efectos antibacterianos.

### **Nacionales**

**Mango E, et al.<sup>5</sup> (Lima, 2018).** Realizo un estudio sobre “Obtención de polifenoles de hojas de *Genipa americana* (jagua) y evaluación de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos”. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano de las hojas de jagua. **Metodología:** Para el estudio se elaboraron extractos etanólicos de las hojas de jagua en concentraciones del 50 y 100%, las cuales fueron agregadas sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, activadas y sembradas en un medio de cultivo, las cuales fueron incubadas por 24 a 48 horas. Se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. **Resultados:** no se observaron halos de inhibición bacteriana. **Conclusión:** Los extractos de las hojas de jagua no presentaron efecto antibacteriano.

**Crisóstomo A.<sup>10</sup> (Huánuco, 2014).** Se realizó un estudio sobre “Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto del Jagua (*Genipa americana*) Frente a *Staphylococcus sp*”. **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana del fruto maduro de *Genipa americana* (jagua), frente a *Staphylococcus sp*. **Metodología:** Se recolecto una cepa de la mucosa oral para aislarla y posteriormente hacer un antibiograma, como muestra se usó la muestra de Jagua. Se hizo 7 tratamientos y 8 repeticiones. El TI fue el tratamiento control, TII, TIII Y TIV fueron soluciones del extracto de jagua al 50%,75% y 100% respectivamente; TV se utilizó La pulpa y finalmente en TVI y TVII se utilizaron discos de sensibilidad antibacteriana de eritromicina y amoxicilina + ácido clavulánico respectivamente. **Resultados:** Se obtuvo halos de inhibición más representativos en los TIII (75%) y TIV (100%) con halos promedio de 17.1 mm y 22.6 mm, estadísticamente similar actividad antibacteriana que la amoxicilina + ácido clavulánico. En **conclusión**, por los resultados hallados podemos afirmar que la fruta posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus sp*.

**Mesones G, et al.<sup>11</sup> (Iquitos, 2007).** Realizo un estudio sobre “Efecto antimicrobiano de *Bixa orellana* "achiote", *Genipa americana* "huito" y *Pistia stratiotes* "huama" sobre agentes que producen infecciones dérmicas y vaginales”. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano de *Genipa americana*. **Metodología:** Para el estudio se elaboró un extracto acuoso del fruto maduro de jagua en concentraciones del 1, 1.5, 2, 2.5, y 3 mg/ml. Los extractos se agregaron sobre las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y

*Pseudomonas aeruginosa*, las cuales se activaron y sembraron en un medio de cultivo. Se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los **Resultados** indicaron que, para *E. coli* la concentración de 3mg/ml obtuvo un halo mayor de 17.6 mm, para *S. aureus* un halo de 18.4 mm, para *P. aeruginosa* fue 12.7 mm. **Conclusión:** los extractos acuosos en diferentes concentraciones presentaron efectos antibacterianos en las bacterias estudiadas.

## **Bases teóricas de la investigación**

### Caries Dental

#### Concepto

La Organización Mundial de la Salud, indica que la caries es un proceso infeccioso, localizado, el cual tiene un inicio una vez que la primera pieza dentaria erupciona, en la cual se encarga de reblandecer el esmalte dental y si no es tratada evoluciona hasta formar una cavidad en la superficie dental.<sup>12</sup>

La destrucción de la pieza dentaria es a causa de la producción de los ácidos producto de las bacterias en el biofilm dental. La caries, de manera clínica, se caracteriza por presentar un color diferente, perdiendo la translucidez, y calcio de tejidos duros de la pieza dental. Según los métodos preventivos el uso de flúor, es uno de los métodos más eficaces para prevenir la caries dental.<sup>12</sup>

Por otro lado, es considerada como una enfermedad progresiva, y acumulativa, ya que es difícil de tratarlo cuando ésta avanza, sin embargo, un tratamiento primario o preventivo puede reducir en gran medida este problema, la cual es realizada a través del consumo de agua fluorada, aplicación de flúor en el consultorio dental, además de aplicaciones de selladores en fosas y fisuras de los molares.<sup>14</sup>

#### Etiología

Es multifactorial porque, puede desarrollarse cuando hay un huésped susceptible, alimento rico en sustratos de carbono, microorganismos y el

tiempo. También puede influir algunos factores de riesgo como la ausencia de servicios de salud, y factores físico ambientales.<sup>14</sup>

- Huésped: cuando el huésped es vulnerable debido a diversos factores heredados, la edad, trastornos endocrinos, maloclusión dentaria y trastornos salivales.<sup>16</sup>
- Microflora: dentro de ellas están los microorganismos protectores y otros que son potencialmente patógenos.<sup>16</sup>
- Tiempo: cuando hay un mayor tiempo de exposición de la pieza dentaria a los ácidos producidos por las bacterias, existe un mayor riesgo de caries.<sup>15</sup>
- Bacterias: algunas de las bacterias principales en la patología de las lesiones cariosas son *S. mutans*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*. Sin embargo, el *S. mutans*, es el microorganismo más asociado a la caries de infancia temprana, por otro lado, los *Lactobacillus* favorecen su proliferación y los *Actinomyces* se encuentran asociados a la caries radicular. Los *S. mutans* y los *Lactobacillus* se encargan de reducir el pH haciéndolo ácido con el propósito de favorecer que las bacterias colonicen la raíz de los dientes.<sup>16</sup>
- Higiene bucal: cuando hay una deficiente higiene de la cavidad bucal, el mismo medio favorece a que se forme el biofilm bacteriano y al poco tiempo ello puede favorecer la desmineralización del esmalte de las piezas dentarias, provocando la formación de una cavidad.<sup>16</sup>

## Epidemiología

Es considerada por la OMS, como una de las patologías más importantes y repetidas mundialmente y afecta en un 90% a los pacientes en edades de 5 años hasta los 17 años según la Organización Panamericana de Salud.<sup>16</sup>

En el Perú, esta enfermedad tiene alta prevalencia y aumenta su gravedad según los años de los pacientes, por lo cual, existe una necesidad de tratamiento que podría presentar un costo más elevado.<sup>16</sup>

## Microorganismos Orales

Las personas comparten el ambiente y conviven con una multitud de microorganismos. Por consiguiente, para que se produzca una patología requiere algunas causas como: la condición del microorganismo, la condición del hospedador, la condición del ambiente en que se encuentra, así como el tiempo. La boca se considera un ambiente y cuyas características propician la formación y reproducción de los microorganismos que se hallan allí.<sup>14</sup>

La boca aloja una cantidad ilimitada de microorganismos. La lengua, el surco gingival, los dientes, la saliva y otras superficies de la mucosa oral constituyen hábitats donde los microorganismos se desarrollan con éxito. Estos hábitats presentan poblaciones con cantidades ilimitadas de especies microbianas diferentes, que se integran o luchan contra otras en el mismo entorno. Por ello la microbiota oral es inestable debido todos los cambios a los que es sometida por el huésped.<sup>14</sup>

## Factor microbiano

La boca de los seres humanos, es alojada por un gran número de microorganismos antes de la presencia de cualquier pieza dentaria en los recién nacido, sin embargo, cuando los dientes aparecen por primera vez erupcionando en el medio bucal, la placa bacteriana empieza a desarrollarse sobre las superficies duras de la cavidad bucal como es el esmalte del diente, la cual se encuentra compuesta con glicoproteínas de la saliva, y al presentar una higiene bucal deficiente, los dientes, acumulan un mayor número de bacterias afectando a dichas piezas dentarias, por otro lado, las células epiteliales actúan con el propósito de evitar la acumulación de estas bacterias en el resto de tejidos como la mucosa bucal.<sup>14</sup>

La cavidad bucal, sirve de habitat para un aproximado de 700 especies que se encuentran colonizando mucosas y superficies dentarias en donde se forma el biofilm dental, dentro de los cuales, se encuentran los del género *Streptococcus*.<sup>14</sup>

### *Streptococcus mutans*

Las bacterias de la cavidad oral pertenecen a una comunidad amplia de distintas especies que van a participar en la acumulación de placa bacteriana (biofilm o biopelícula) con todas sus propiedades, funciones e interacciones. Existen microorganismos que se incluyen en la patogénesis de la caries dental (estreptococos del grupo *mutans*, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp*). De los cuales el *Streptococcus mutans*, es el más relevante asociado a esta enfermedad.<sup>13</sup>

Esta bacteria, es un coco Gram positivo, además de un productor de ácido láctico, propiónico, ácido acético y ácido fórmico. Estos circulan a través de la placa

bacteriana hacia el esmalte poroso, liberando iones de hidrogeno el cual llevara a cabo el proceso de desmineralización, esto favorece la disminucion del pH de 7 a 4.2 en 24 horas. Además, es un fermentador de glucosa, rafinosa, lactosa, entre otros. <sup>13</sup>

Este microorganismo, se ha sub clasificado en varios patrones con base en algunas propiedades como las inmunológicas, biológicas y genéticas. <sup>13</sup>

Se sub clasifican en los siguientes serotipos:

- *S. mutans*: c, e, f y k.
- *S. sobrinus*: d y g.
- *S. cricetus*: a.
- *S. rattus*: b.
- *S. ferus*: c.
- *S. macacae*: en c.
- *S. downei*: en h. <sup>15</sup>

En las personas las más estudiadas son por *S. mutans* y *S. sobrinus*. <sup>13</sup>

Factores de virulencia

Los elementos de infeccion más involucrados son:

- Acidogenicidad: el *Streptococcus* fermenta azúcares de los restos alimenticios con el propósito de generar ácido láctico, haciendo que el pH de la cavidad bucal baje, provocando la desmineralización sobre el esmalte dental. <sup>16</sup>
- Aciduridad: Es la capacidad que tiene la bacteria, de producir ácidos en la cavidad bucal, así se encuentre en un medio con pH bajo. <sup>16</sup>

- Acidofilicidad: la bacteria del *S. mutans* resiste el medio ácido bombeando protones fuera de la célula. <sup>16</sup>

#### ATCC 25175

ATCC es un microorganismo norteamericano no gubernamental sin fines de beneficio que se encarga del mantenimiento y conservación de los especímenes de cultivos celulares y microbiológicos, además, se encarga de distribuir dichos cultivos a los centros y laboratorios de investigación donde se requiere, en universidades, centros científicos y centros médicos. <sup>17</sup>

#### Propagación

- Medio: caldo de infusión agar cerebro corazón.
- Condiciones de crecimiento
- Temperatura: 37° C.
- Ambiente: aeróbico.
- Temperatura de almacenamiento: Congelado: 80 ° C o más frío.
- Liofilizado: 2 ° C a 8 ° C.<sup>19</sup>

#### Bioseguridad

Siempre se deben utilizar procedimientos de seguridad apropiados al utilizar estos materiales. <sup>17</sup>

La utilidad de este microorganismo es para fines de investigación de laboratorio. No es aplicado para humanos.<sup>17</sup>

La misión de ATCC, es servir como el reservorio principal del mundo para cultivos de referencia estándar, materiales biológicos relacionados y datos asociados, además, cuenta con la preservación permanente y su uso está al alcance de personas calificadas que se dedican a la industria, ciencia y educación.<sup>17</sup>

### Misión

- Obtener, preservar, propagar y distribuir cultivos celulares, microorganismos, virus, productos celulares y materiales biológicos utilizados y derivados de la tecnología de ADN recombinante.<sup>17</sup>
- Conservar altos estándares de autenticación, documentación y mantenimiento de las características y la viabilidad de los materiales confiados a las colecciones.<sup>17</sup>
- Ofrecer una prestación de servicio de alta calidad a profesionales en el sector científico, comercial y público.<sup>17</sup>
- Instruir a los científicos y al público sobre las diversas actividades de ATCC, siendo capacitados a través de conferencias, publicaciones y otros medios.<sup>17</sup>

### *Genipa americana*

Es una fruta que pertenece a la familia *Rubiaceae*, en el Perú crece en climas tropicales, es conocida por su nombre común como jagua, juito, huito, caruto, jenipapo, entre otros, la literatura indica que el nombre depende del lugar de origen del fruto.<sup>20</sup>

La planta de genipa, es un árbol que tiene entre 10 a 20 metros de altura, presenta hojas perennes, sus frutos, son comestibles, presentan una forma redondeada de unos 5 a 8 centímetros de diámetro. Cuando el fruto llega a tu etapa de maduración la pulpa es succulenta, muy aromática y blanda, esta fruta generalmente es consumida en jugos, mermeladas y licores. En su etapa verde, es utilizada como fuente de colorante tisular, colorante para alimentos, y pintura para cuerpo, el color que se obtiene del fruto verde generalmente es el azul.<sup>20</sup>

### Composición química

Entre los constituyentes químicos presentes en la *Genipa americana* tenemos los lípidos: ácidos grasos y fitoesteroides; compuestos polifenólicos y taninos; flavonoides: 3',4',5', 5,7-pentahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 3',4',5,7-tetrahidroxi-6,8-dimetoxiflavona, 4',5, 6,7-tetrahidroxi-3'-metoxiflavona, 4'-metoxiflavona; iridoides: Genipina que se obtiene a partir del Genipósido. Monoterpenoides: genipacetal, genipaol; alcaloides: cafeína; ácidos como el ácido tartárico y alcoholes orgánicos: como el manitol.<sup>15</sup>

La jagua, se caracteriza por presentar tres iridoides como genipin, geniposida y ácido geniposídico, Los iridoides son metabolitos secundarios que generalmente se

encuentran en muchas plantas, y se encuentran como glucósidos. El genósido es un glucósido iridoide, que se usa a menudo como un colorante natural.<sup>18</sup>

Algunos iridoideos de la fruta genipap ya han sido reportados en la literatura como, genipin, genipicacid, genipinicacid, geniposidicacid, geniposide, genameside A, genameside B, genameside C, genameside D, genipin-gentiobioside, gardenoside, shanziside, deacetylasidais éster de metilo, genipacetal, genipaol, genipamide, ácido caffeoylgeniposidic, *p* ácido-coumaroylgeniposidic, gardosideferuloyl, éster metílico scandoside, gardoside, *p* gentiobiósido-oumaroylgenipin, y gentiobiósido feruloylgenipin.<sup>18</sup>

En la actualidad, algunos investigadores indicaron la presencia de flavonoides y quercetina en las frutas por análisis de HPLC y otros trabajos describieron los flavonoides y los taninos en sus frutas por métodos colorimétricos.<sup>20</sup>

## Usos

*Genipa americana* es un fruto maduro que también es utilizado para la preparación de bebidas, mermeladas; también se pueden hacer helados y polvos azucarados. Los pobladores de la Amazonía consumen la pulpa del fruto maduro, en infusiones o bebidas, para tratar la bronquitis. También se prepara un licor macerado en aguardiente, llamado huitochado.<sup>21,22</sup>

En las zonas nativas los indígenas utilizan como pintura corporal, el fruto verde que inicialmente es incoloro, pero que luego de unas horas ocurre una reacción química al contacto con la piel, de color azul oscuro, pero llega a desaparecer poco a poco con el paso de los días, gracias a la regeneración de la epidermis. En ocasiones los

indígenas y pobladores de la zona aplican la pulpa del fruto verde tostado y frotan sobre la piel y lo utilizan como repelente. El fruto verde en infusión se usa contra las hemorragias. Hay estudios que explican su actividad bactericida; probablemente debido al fenol.<sup>23</sup>

### Propiedades

Esta planta es ampliamente utilizada en China como tratamiento hepático y enfermedades inflamatorias, asimismo, la literatura indica que el iridoide presenta efectos antitumorales, también, algunos investigadores informan que presenta agentes antimicrobianos, antiinflamatorio, antilipoperoxidativo, anticancerígeno, antidiabético, antioxidante, protector hepático, protector de neuronas del hipocampo, antitrombótico y neuroprotector.<sup>20</sup>

Otras investigaciones indican que, la genipa se ha utilizado para tratar la anemia, el cáncer de útero y el sarampión, y se ha utilizado como diurético, digestivo, laxante y antiséptico para curar.<sup>21</sup>

Los extractos de sus frutas han presentado efectos antiinflamatorios, antibacterianos y antitumorales.<sup>20</sup>

### III. HIPÓTESIS

- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 60% presenta mayor efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 60% no presenta efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Diseño de la investigación

**Experimental:** porque busca medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente.<sup>24</sup> Este estudio midió el efecto del extracto hidroetanólico sobre cepas de *S. mutans*.

De acuerdo al número de ocasiones: **Transversal**

Porque la información será tomada en un momento dado del tiempo.<sup>24</sup> En este estudio, todas las variables fueron medidas luego de 24 a 48 horas de incubación bacteriana.

De acuerdo a la planificación: **Prospectivo:**

Según Supo, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es prospectivo, porque los datos son recogidos a propósito de la investigación (primarios) y no son tomados por datos pasados (secundarios) En cada medida de las variables se colocaron los resultados en la ficha de recolección de datos.<sup>24</sup>

### **Tipo de investigación**

De acuerdo al enfoque: **Cuantitativa**

Según Supo, en su libro sobre los tipos de investigación, considera que un estudio es cuantitativo, cuando el investigador obtendrá resultados finales numéricos y porcentuales.<sup>24</sup>

## Nivel de la investigación

**Explicativo:** porque busca establecer las causas que originan un fenómeno determinado.<sup>24</sup>

### 4.2. Población y muestra

La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Criterios de exclusión

- Cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con signos de contaminación o contaminados durante el procedimiento de experimentación.

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso de la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:  $z_{\alpha/2} = 1.96$  para un  $\alpha=0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$  para un  $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (X_1 - X_2)$ , Valor asumido por no estar indicados los parámetros en estudios anteriores.

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96+0.84)^2 \times 2 \times 0.8^2 \times (x_1 - x_2)^2}{(x_1 - x_2)^2} = 2.8^2 \times 2 \times 0.8^2 = 10 \text{ repeticiones}$$

La muestra estuvo constituida por 40 repeticiones: 10 por cada grupo de estudio (extractos de la cáscara y pulpa al 20%, 40%, 60%, clorhexidina).

### 4.3 Definición y operacionalización de variables

<b>Variable Dependiente</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Valores finales</b>	<b>Tipos de variables</b>	<b>Escala de medición</b>
Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutans</i>	Conjunto de compuestos que tienen la capacidad de eliminar o reducir la proliferación de microorganismos. <sup>12</sup>	Diámetro del halo de inhibición	mm	Cuantitativa	Razón
<b>Variable independiente</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Valores finales</b>	<b>Tipos de variables</b>	<b>Escala de medición</b>
Extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de jagua	Resultado del proceso de extracción del principio activo de los componentes de la cascara y pulpa para obtener el extracto. <sup>12</sup>	Concentraciones	20% 40% 60%	Cuantitativo	De Razón

#### **4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **Técnica de recolección de datos**

Técnica: observación microbiológica.

##### **Instrumento de medición**

El instrumento fue una Ficha de recolección de datos para registrar los valores del efecto antibacteriano y dicha medición para este estudio fue un Vernier: el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Numero de Modelo 500-157-30.

Los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio. (Anexo 1).

##### **Procedimiento**

##### **Procedimiento para obtener el permiso:**

Se dirigió a las autoridades de las Facultades de Farmacia y Bioquímica; así como a la Facultad de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, con la Carta de Presentación firmada por el director de Escuela de Odontología de la ULADECH Católica, con el cual se obtuvo el permiso para ejecutar la investigación en los laboratorios de investigación de dicha institución, durante el mes de Setiembre del año 2019. (Anexo 02)

## **Protocolos de experimentación**

### **De la recolección de las cáscaras y pulpas de jagua**

Se recolectó, 1 Kg de las cáscaras de jagua y de pulpa de *Genipa americana*, fueron recolectados de la provincia de Tarapoto, región San Martín.

### **De la identificación de la planta**

Un ejemplar completo de ambas especies fue llevado al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica de la preparación de los extractos hidroetanólicos de la cáscara y pulpa de *Genipa americana*

### **De la preparación del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de jagua.**

- Preparación de la muestra vegetal

Una vez recolectadas las cáscara y pulpa, fueron seleccionadas teniendo en consideración las condiciones adecuadas, sin presencia de hongos ni gusanos, ni decoloración en caso de las cáscaras.<sup>25</sup>

- Lavado y desinfección

El lavado de las cáscaras y pulpas se realizó con abundante agua, procediendo después a una desinfección con hipoclorito de sodio a una concentración de 80 ppm.

- Secado y molienda

Para el secado se procedió a extender las cáscaras y pulpa en papel kraft. Luego se llevaron a una estufa de convección forzada (40°C). Una vez secadas las cáscaras y pulpas, se procedió a moler con ayuda de un molino.

- Tamizaje

Una vez secadas las cáscaras y pulpas están se pasaron a través de un tamiz de malla N° 20.

- Almacenamiento

Las cáscaras y pulpas fueron guardadas en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.<sup>25</sup>

- Preparación de los extractos hidroetanólicos

Se pesó 100 g de polvo, de las cáscaras y pulpas. Luego se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar y se añadieron etanol: agua (7:3) cantidad suficiente hasta cubrir cada muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclaron bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente. Se taparon los frascos y se maceraron por 7 días, se agitó durante 15 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtraron cada macerado, usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto hidroetanólico.<sup>23</sup>

A continuación, los extractos hidroetanólicos se concentraron en un rota vapor hasta obtener el extracto blando. Estos se llevaron a secar a la estufa a 40 °C.

Al producto resultante se le denominó extracto seco. Finalmente, a partir de los extractos secos obtenidos tanto de hojas y cortezas, se prepararon las concentraciones de 20%, 40% y 60%. Los extractos se guardaron en frascos

de vidrio ámbar y estarán en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.<sup>25</sup>

### **De la obtención y reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.**

Para este estudio se utilizó un cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubará a 37°C, de 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de micro aerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración Gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.<sup>26</sup>

### **De la evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.**

La evaluación del efecto antibacteriano, del extracto hidroetanólico obtenido tanto de cáscaras y pulpas de *Genipa americana*, a concentraciones de 20, 40 y 60% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.<sup>26</sup>

Para lo cual se procederá de la siguiente manera:

- Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  ufc/mL).<sup>26</sup>

- Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar MüellerHinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.<sup>26</sup>

### **Preparación de los discos con los extractos hidroetanólico obtenido tanto cáscaras y pulpas de jagua.**

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales del extracto hidroetanólico obtenido tanto de cáscaras y pulpa de *Genipa americana* a concentraciones de 20, 40 y 60% respectivamente. Luego, con una pinza estéril, los discos fueron colocados sobre las placas de Petri con

Müeller Hinton sembradas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

23, 25

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo alcohol de 70°.

### **Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.<sup>26</sup>

### **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinaron cada placa, y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco según los grupos de estudio, para lo cual se utilizaron un vernier milimetrado, abarcando el diámetro del halo. las mediciones de los halos de cada placa serán registradas en la ficha de recolección de datos.<sup>25,26</sup>

Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo.

## **4.5 Plan de análisis**

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencia de una entrada con sus valores absolutos, promedios, desviación estándar y gráficos. Siendo las tablas y gráficos creadas en el programa Microsoft Excel 2017. Para determinar si existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto de jagua frente al *Streptococcus mutans*, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis

de un diseño completamente al azar; luego una prueba de comparaciones múltiples utilizando la prueba de Duncan. Ambas pruebas con un nivel de significancia del 5%.

#### **4.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

##### **Técnica de recolección de datos**

Técnica: observación microbiológica.

##### **Instrumento de medición**

El instrumento fue una Ficha de recolección de datos para registrar los valores del efecto antibacteriano y dicha medición para este estudio fue un Vernier: el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Numero de Modelo 500-157-30.

Los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio. (Anexo 1).

##### **Procedimiento**

##### **Procedimiento para obtener el permiso:**

Se dirigió a las autoridades de las Facultades de Farmacia y Bioquímica; así como a la Facultad de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, con la Carta de Presentación firmada por el director de Escuela de Odontología de la ULADECH Católica, con el cual se obtuvo el permiso para ejecutar la

investigación en los laboratorios de investigación de dicha institución, durante el mes de Setiembre del año 2019. (Anexo 02)

### **Protocolos de experimentación**

#### **De la recolección de las cascaras y pulpas de jagua**

Se recolectó, 1 Kg de las cáscaras de jagua y de pulpa de *Genipa americana*, fueron recolectados de la provincia de Tarapoto, región San Martín.

#### **De la identificación de la planta**

Un ejemplar completo de ambas especies fue llevado al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica de la preparación de los extractos hidroetanólicos de la cáscara y pulpa de *Genipa americana*

#### **De la preparación del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de jagua.**

- Preparación de la muestra vegetal

Una vez recolectadas las cáscara y pulpa, fueron seleccionadas teniendo en consideración las condiciones adecuadas, sin presencia de hongos ni gusanos, ni decoloración en caso de las cáscaras.<sup>25</sup>

- Lavado y desinfección

El lavado de las cáscaras y pulpas se realizó con abundante agua, procediendo después a una desinfección con hipoclorito de sodio a una concentración de 80 ppm.

- Secado y molienda

Para el secado se procedió a extender las cáscaras y pulpa en papel kraft. Luego se llevaron a una estufa de convección forzada (40°C). Una vez secadas las cáscaras y pulpas, se procedió a moler con ayuda de un molino.

- Tamizaje

Una vez secadas las cáscaras y pulpas están se pasaron a través de un tamiz de malla N° 20.

- Almacenamiento

Las cáscaras y pulpas fueron guardadas en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.<sup>25</sup>

- Preparación de los extractos hidroetanólicos

Se pesó 100 g de polvo, de las cáscaras y pulpas. Luego se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar y se añadieron etanol: agua (7:3) cantidad suficiente hasta cubrir cada muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclaron bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente. Se taparon los frascos y se maceraron por 7 días, se agitó durante 15 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtraron cada macerado, usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto hidroetanólico.<sup>23</sup>

A continuación, los extractos hidroetanólicos se concentraron en un rota vapor hasta obtener el extracto blando. Estos se llevaron a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. Finalmente, a partir de los extractos secos obtenidos tanto de hojas y cortezas, se prepararon las concentraciones de 20%, 40% y 60%. Los extractos se guardaron en frascos de vidrio ámbar y estarán en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.<sup>25</sup>

#### **De la obtención y reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.**

Para este estudio se utilizó un cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubará a 37°C, de 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de micro aerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración Gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Trypticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.<sup>26</sup>

#### **De la evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.**

La evaluación del efecto antibacteriano, del extracto hidroetanólico obtenido tanto de cáscaras y pulpas de *Genipa americana*, a concentraciones de 20, 40 y 60% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.<sup>26</sup>

Para lo cual se procederá de la siguiente manera:

- Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  ufc/mL).<sup>26</sup>

- Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar MüellerHinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.<sup>26</sup>

### **Preparación de los discos con los extractos hidroetanólico obtenido tanto cáscaras y pulpas de jagua.**

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales del extracto hidroetanólico obtenido tanto de cáscaras y pulpa de *Genipa americana* a concentraciones de 20, 40 y 60% respectivamente. Luego, con una pinza estéril, los discos fueron colocados sobre las placas de Petri con Müeller Hinton sembradas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

23, 25

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo alcohol de 70°.

### **Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.<sup>26</sup>

### **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinaron cada placa, y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco según los grupos de estudio, para lo cual se utilizaron un vernier milimetrado, abarcando el diámetro del halo. las mediciones de los halos de cada placa serán registradas en la ficha de recolección de datos.<sup>25,26</sup>

Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo.

#### **4.5 Plan de análisis**

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencia de una entrada con sus valores absolutos, promedios, desviación estándar y gráficos. Siendo las tablas y gráficos creadas en el programa Microsoft Excel 2017. Para determinar si existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto de jagua frente al *Streptococcus mutans*, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis de un diseño completamente al azar; luego una prueba de comparaciones múltiples utilizando la prueba de Duncan. Ambas pruebas con un nivel de significancia del 5%.

#### 4.6 Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Población	Metodología
¿Cuál es el efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Trujillo 2019?	<p>Objetivo general</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) de tres concentraciones sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 Trujillo 2019.</li> </ul> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) al 20% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</li> <li>•Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) al 40% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</li> <li>•Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) al 60% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</li> <li>•Comparar el efecto antibacteriano del gluconato de clorhexidina 0.12% con tres concentraciones de extracto hidroetanólico de cáscara y pulpa de <i>Genipa americana</i> (Jagua) sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</li> </ul>	El extracto hidroetanólico de <i>Genipa americana</i> (Jagua) al 60% presenta mayor efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutans</i>	La población estuvo conformada por cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	<p><b>El tipo de investigación.</b> Cuantitativo.</p> <p><b>Nivel de la investigación de la tesis.</b> Explicativo.</p> <p><b>Diseño de la investigación.</b> Experimental, transversal y prospectivo.</p>

#### 4.7 Principios éticos

Este estudio, fue un estudio *In vitro*, y se realizó con muestras bacterianas dentro de un laboratorio. La investigación tomó en cuenta todos los principios y valores éticos estipulados por la Universidad ULADECH Católica.<sup>27</sup>

- **Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad.:** Las investigaciones que involucran el medio ambiente, plantas y animales, deben tomar medidas para evitar daños. Las investigaciones deben respetar la dignidad de los animales y el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios.<sup>27</sup>
- **Integridad científica:** La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, deberá mantenerse la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieran afectar el curso de un estudio o la comunicación de sus resultados.<sup>27</sup>

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1:** Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo 2019.

<i>Extractos Hidroetanólicos</i>	<i>N</i>	<i>Diámetro (mm)</i>		<i>Sig. (p)*</i>
		<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	
<i>G. americana 20%</i>	10	8.75	0.097	0.000
<i>G. americana 40%</i>	10	13.41	0.088	
<i>G. americana 60%</i>	10	16.97	0.177	
<i>Clorhexidina 0.12%</i>	10	14.36	0.052	

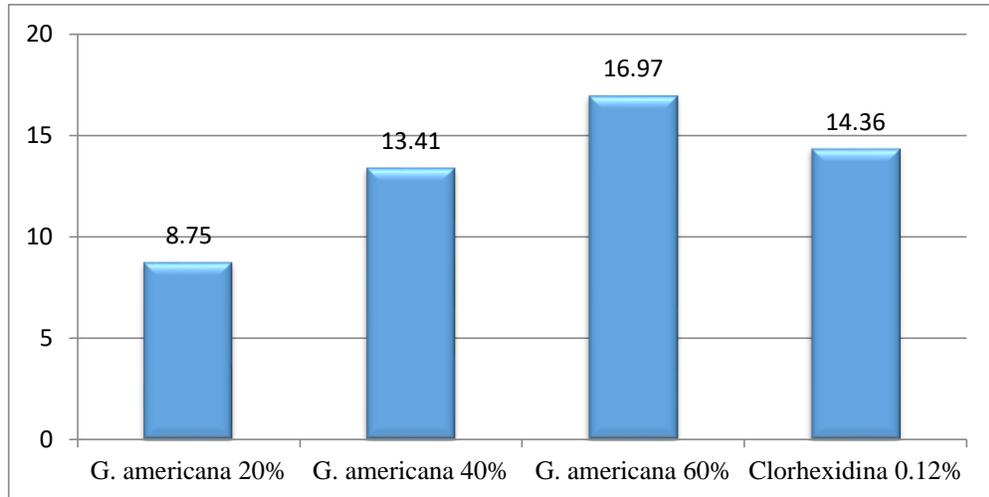
*Fuente:* Datos propios obtenidos de medición.

*p\*:* prueba KRUSKAL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

**Interpretación:** De la tabla N° 01, aplicado la prueba no paramétrica KRUSKAL WALLIS, se obtuvo ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadística entre los extractos evaluados y control.

Es decir, si existe diferencia estadísticamente significativa entre los extractos evaluados (20%,40%,60%) y Clorhexidina 0.12%.

**Gráfico 1:** Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo 2019.



Fuente: Datos obtenidos de la tabla N° 01

**Interpretación:** Del grafico N° 01

El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua)

- Al 20% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presenta en promedio un diámetro de 8.75 mm, de halos de inhibición.
- Al 40% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presenta en promedio un diámetro de 13.41 mm, de halos de inhibición.
- Al 60% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presenta en promedio un diámetro de 16.97 mm, de halos de inhibición.

**Tabla 2:** Test de Duncan, efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo 2019.

<i>Extractos Hidroetanólicos</i>	<i>N</i>	<i>Subconjunto para alfa =0.05 - (Test Duncan)</i>			
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>G. americana 20%</i>	10	8.75			
<i>G. americana 40%</i>	10		13.41		
<i>Clorhexidina 0.12%</i>	10			14.36	
<i>G. americana 60%</i>	10				16.97
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	1.000

**Interpretación:**

En la tabla N°02, se observa que el diámetro (mm), en los extractos hidroetanólicos *G. americana* al 20%, 40%, 60%, y Clorhexidina 0.12%, no presentaron similitud entre extractos evaluados.

Es decir, cada tipo de extractos y control, presentaron un efecto antibacteriano diferente.

- El promedio del halo de inhibición del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 20% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue 8.75 mm.
- El promedio del halo de inhibición del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 40% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue 13.41 mm.
- El promedio del halo de inhibición del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 60% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue 16.97 mm.

## 5.2 Análisis de los resultados

Los resultados de esta investigación demostraron que el extracto de hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* en todas sus concentraciones presentó efecto antibacteriano frente a la cepa de *Streptococcus mutans* empleada en la evaluación. Estos resultados difieren de los obtenidos por Mango E, et al.<sup>6</sup> quien no obtuvo efecto antimicrobiano a ninguna concentración frente a otros cocos Gram positivos, esto es debido al tipo de muestra recolectada y empleada ya que este último empleó las hojas de *G. americana*, en donde gran parte de la composición está dada por clorofila y pigmentos empleados por la planta durante la captación de luz en el proceso de fotosíntesis para la obtención de alimento, causando una cantidad extremadamente reducida de principios activos asociada a un efecto antimicrobiano muy leve en contra de cepas patógenas.<sup>6</sup>

El mayor efecto inhibitorio se obtuvo al evaluar la mayor concentración del extracto hidroetanólico, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Rivadeneira A.<sup>7</sup> quien obtuvo un mayor diámetro en los halos de empleando el extracto puro, esta pequeña diferencia radica en el tipo de microorganismo en evaluación, *S. aureus*, a pesar de pertenecer a la misma clasificación dentro de los cocos Gram positivos, este presenta una mayor resistencia debido a su capacidad patógena a nivel de dermis y su facilidad para colonizar tejidos exteriores e interiores después de lesiones o puertas de entradas, al igual que *S. mutans* carece de mecanismos para lesionar la epidermis y abrir puertas de entrada por sí solo. Sin embargo, sus principales estructuras fisiológicas

mantiene gran similitud con *S. mutans* sobre todo la pared celular que es la encargada de proteger a la bacteria.<sup>7</sup>

Esta acción inhibitoria del crecimiento al emplear el extracto etanólico se debe a la presencia de diversos principios activos en pulpa y la cáscara, esto concuerda con la investigación realizada por Silva P, et al.<sup>4</sup> quien explica que la capacidad citotóxica frente a las células bacterianas radica en los principios activos, mediante análisis fotoquímicos por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) se determinó la presencia flavonoides, polifenoles, terpenos, alcanfores y ácidos cítricos a nivel de pulpa estos varían en proporción de acuerdo a la calidad del suelo y los nutrientes que este aporta a las plantas, sin embargo la proporción siempre será mayor en comparación con las hojas debido a que el fruto no realiza ningún tipo de metabolismo, la acción de estos compuestos es localizada a nivel de pared celular por acción los ácidos cítricos altera el pH del medio, cabe recalcar que *S. mutans* se desarrolla en un medio acidificado por la misma bacteria, es decir regulado de acuerdo a su capacidad de tolerancia, mientras que la acidez causada por acción de este fruto no va acorde a la tolerancia, llegando a alcanzar valores de pH correspondientes a 3,6.

De acuerdo con Mesones G, et al<sup>11</sup> de esta forma se alteran los procesos metabólicos propios de la célula causando déficit en la producción de metabolitos y mantenimiento de sus estructuras de protección como la pared celular, la cual posteriormente es desnaturalizada con la acción de los compuestos anteriormente nombrados, esto sumado a los metabolitos

producidos por la cáscara en donde aparte de los compuestos mencionados se concentran sustancias protectoras para el fruto a lo largo del proceso de maduración e incluso alcaloides residuales por la coloración azul que toma este al ser cortado, resultan en la complementación favorable de la acción antimicrobiana.

En cuanto a la escala Duraffourd, los diámetros de los halos obtenidos estarían comprendidos dentro de los valores de esta, lo que concuerda con investigaciones realizadas por Menenguetti T, et al.<sup>9</sup>, quien obtuvo diámetros en los halos de inhibición con valores similares en la mayor concentración, de esta forma los resultados obtenidos en esta investigación son correspondientes a la clasificación “muy sensible ++” para la mayor concentración en la escala Duraffourd, de acuerdo con Gabas G, et al.<sup>10</sup> y la menor concentración estarían clasificadas como “sensible +” en la escala de Duraffourd. De esta forma se determina que *S. mutans* presenta una sensibilidad que va desde sensible + hasta muy sensible ++ para las concentraciones empleadas en este estudio.

El menor diámetro fue correspondiente a la menor concentración, esto concuerda con los resultados obtenidos por Brandao F, et al.<sup>8</sup> quien obtuvo un menor diámetro para la concentración menor y estos fueron ascendiendo conforme a aumentaba la concentración, esto es debido a la capacidad del solvente para extraer los principios y la cantidad de principios activos en relación al volumen de solución por lo tanto a mayor volumen mayor será la cantidad de principios activos contenidos. Esto guarda relación también con

la acción por parte del antibiótico control, cabe que este se encuentra aislado, puro y complementado con excipientes para potenciar su efecto pero en una concentración cercana a la décima parte del 1% en comparación con las concentraciones evaluadas que superan el 20%, explicando así la mayor actividad antimicrobiana reflejada en un mayor diámetro en los halos de inhibición del crecimiento para las últimas concentraciones de los extractos en evaluación a comparación del antibiótico control empleado.

## VI. CONCLUSIONES

- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 60%, presentó mayor efecto antibacteriano ante las dos concentraciones 20% y 40% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 20% presentó efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 40% presentó efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) al 60% presentó efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El efecto antibacteriano del gluconato de clorhexidina 0.12% fue mayor en comparación con las concentraciones al 20% y 40% pero menor en comparación con la concentración al 60% del extracto hidroetanólico de cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## **ASPECTOS COMPLEMENTARIOS**

1. Que la universidad incorpore como línea de investigación el uso de productos naturales en los tratamientos odontológicos.
2. Fomentar el uso de productos naturales en el cuidado de nuestra salud oral.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lamont R, Egland P. Dental caries. Mol. Med. Microbiol. [Online] 2015 [Cited april 20; 2019]; 2(1): 945-955. Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971692000524>
2. Damle S, Loomba A, Dhindsa, Loomba A, Beniwal V. Correlation between dental caries experience and mutans streptococci counts by microbial and molecular (polymerase chain reaction) assay using saliva as microbial risk indicator. Dent Res J. [Online] 2016 [Cited April 20; 2019]; 13(6): 552–559. Link : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5256021/>
3. Kumar G, Jalaluddin M, Rout P, Mohanty R, Dileep C. Emerging Trends of Herbal Care in Dentistry. J Clin Diagn Res. [Online] 2013 [Cited April 20; 2019]; 7(8): 1827–1829. Link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3782986/>
4. Silva P, Batista S, Munhoz N, Oliveira T, Arielle T, et al. In vitro cytotoxicity and biological activities of *Genipa americana* (Rubiaceae) ethanolic extracts. Afr. J. Microbiol. Res. 2017; 11(9): 385-390. Link: [https://www.researchgate.net/publication/314485560\\_In\\_vitro\\_cytotoxicity\\_and\\_biological\\_activities\\_of\\_Genipa\\_americana\\_Rubiaceae\\_ethanolic\\_extracts](https://www.researchgate.net/publication/314485560_In_vitro_cytotoxicity_and_biological_activities_of_Genipa_americana_Rubiaceae_ethanolic_extracts)
5. Mango E, Durand J. Obtención de polifenoles de hojas de *Genipa americana* (JAGUA) y evaluación de su actividad antibacteriana en cultivos microbiológicos [Tesis]. Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímica; 2018. Link: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2229>

6. Rivadeneira A. Determinación de la actividad bactericida de los compuestos fenólicos presentes en la SUA (*Genipa americana* L) frente a *Staphylococcus aureus* [Tesis]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana. Facultad de Biotecnología; 2018. Link : <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16233>
7. Brandao F, Lima M, Miyagusku L. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from genipap, baru and taruma. *Cienc. Rur.* 2017; 47(8): 1-6. Link : <https://www.scielo.br/j/cr/a/YVrLKg84NY9qXQY9z6953jm/?lang=en#>
8. Meneguetti T, Machado L, Sousa A, Migliolo L, Carvalho E, Franco L. Isolation of Antimicrobial Compounds from Jenipapo (*Genipa americana* L.) Fruits. *Soc. Bras. Bioq. Biol. Mol.* [Internet] 2016 [Cited jun 16; 2019]. Link : <http://www.sbbq.org.br/arquivos/2016/cd2016/resumos/R08407-1.pdf>
9. Gabas G, Gabriel N, Magalhães A, MaZocante G, Goncalves G, Silveira S, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of an ethanol extract from *Genipa americana*. *Plant. Med.* [Online] 2015 [Cited may 11; 2019]; 81(1). Link: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1565679>
10. Mesones G, Donayre L. Efecto antimicrobiano de *Bixaorellana* "achiote", *Genipa americana* "huito" y *Pistiastratiotes* "huama" sobre agentes que producen infecciones dérmicas y vaginales [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de ciencias biológicas; 2007. Link: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4980>
11. Crisóstomo A, Osorio Y. Actividad antibacteriana in vitro del extracto del Jagua (*Genipa americana* L.) Frente a *Staphylococcus aureus* (Tesis). Perú: Universidad Hermilio Valdizán, Huánuco. 2014. Link:

<https://1library.co/document/zgwgmx8y-actividad-antibacteriana-vitro-extracto-genipa-americana-frente-staphylococcus.html>

12. Días C, Pérez N, Sanabria D, Ferreira M, Cueto N, Urquhart D, et al. Nivel de conocimiento sobre prevención de caries dental en universitarios. *Ces. Odontol.* 2016; 29(1): 14-21. Link: <https://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/3922>
13. Ojeda JC, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Rev. CES Odont.* 2013; 26(1): 44-56. Link: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
14. Espinoza M, León R. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. *Rev. Estomatol. Herediana.* 2015; 25(3): 187-193. Link: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n3/a03v25n3.pdf>
15. .United Nations Conference on trade and development (unctad). “market brief in the european union for selected natural ingredients derived from native species. Genipa americana. Jagua, huito”. 2005: 38. Link: <https://pdf4pro.com/view/market-brief-in-the-european-union-unctad-578f8f8e.html>
16. Núñez D, García L. Bioquímica de la caries dental. *Rev. Hab. Cien. Méd.* [Revista en línea] 2010 [Citado el 11 de mayo del 2019]; 9(2): 156-166. Link : <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729519X2010000200004&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729519X2010000200004&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 1729-519X.

17. American Type Culture Collection. [Página principal en [Internet]. Virginia: ATCC; c2009 [Cited may 11; 2019]. Link: <https://www.atcc.org/products/all/25175.aspx>
18. Náthia G, Meireles A. Genipap: A New Perspective on Natural Colorants for the Food Industry. Food and PublicHealth. 2018; 8(1): 21-33. Link: [https://www.researchgate.net/publication/323664375\\_Genipap\\_A\\_New\\_Perspective\\_on\\_Natural\\_Colorants\\_for\\_the\\_Food\\_Industry](https://www.researchgate.net/publication/323664375_Genipap_A_New_Perspective_on_Natural_Colorants_for_the_Food_Industry).
19. Dickson L, Tenon M, Svilar L, Fanca P, Lugan R, et al. Main Human Urinary Metabolites after Genipap (*Genipa americana* L.) Juice Intake. Nutrients. [Online] 2018 [Cited may 11; 2019]; 10(9): 12-16. Link: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/9/1155/htm>
20. Alves J, Medeiros L, Fernandez M, Araujo R, Zucolotto S. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. Rev. Bras. Farmacog. [Online] 2017 [Cited may 11; 2019]; 27(5): 641-644. Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X1630549X>
21. Sotero V . “Evaluación de la actividad antioxidante de seis frutales amazónicos: anona, castaña, chope, huasai, huito y uvilla. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana” 2011 link: <http://revistas.iiap.org.pe/index.php/foviaamazonica/article/view/355>
22. United nations conference on trade and development (unctad). “market brief in the european union for selected natural ingredients derived from native species. *Genipa americana*. Jagua, huito”. 2005. 38 p. [Disponibile en link : [www.unctad.org/biotrade/docs/biotradebriefgenipaamericana.pdf](http://www.unctad.org/biotrade/docs/biotradebriefgenipaamericana.pdf), documentos, 12 de Junio 2010]

23. Pérez O. Obtención de un colorante a partir de *Genipa americana* y su Aplicación en Textiles. Tesis. Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Medellín – Colombia 2000. Link: <https://hdl.handle.net/20.500.12802/7665>
24. Supo J. Tipos de investigación, 2014. Disponible en: <https://es.scribdcom/document/362085671/Tipos-de-Investigacion-JOSESUPO-ppt>.
25. Centurión V. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpiniaspinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Tesis]. Perú: Universidad Antenor Orrego. Facultad de odontología; 2015.
26. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and LaboratoryStandardsInstitute); M100-S23. 28013. Vol 33 (1).  
Link:<https://www1.cgmh.org.tw/intr/intr4/c8100/guideline/Antimicrobial%20susceptibility%20testing.pdf>
27. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2021 [fecha el 15 de abril del 2021].

## ANEXOS

### ANEXO 1: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA  
FILIAL – TRUJILLO



EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL  
EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa  
americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175,  
TRUJILLO-2019

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN MM			
	Extracto de la cáscara y pulpa			Control positivo clorhexidina
	20%	40%	60%	0.12%
1	8.9	13.3	16.9	14.4
2	8.6	13.4	17	14.3
3	8.6	13.3	17	14.4
4	8.8	13.3	16.5	14.4
5	8.7	13.4	17	14.4
6	8.8	13.5	17	14.3
7	8.8	13.5	17.1	14.3
8	8.8	13.4	17	14.3
9	8.8	13.5	17.1	14.4
10	8.7	13.5	17.1	14.4

## ANEXO 2: Carta de Presentación



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE  
FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA

Trujillo, 16 de Setiembre del 2019

**DR. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**

DOCENTE DE LA CÁTEDRA DE FARMACOGNOSIA DEL DEPARTAMENTO  
ACADÉMICO DE FARMACOTÉCNIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Presente |

De mi especial consideración:

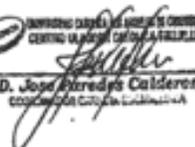
Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Tesis II, nuestra alumna, CRUZ ZUMARAN Katia Yeraldin; debe llevar a cabo el desarrollo para la ejecución de la tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019.** Así mismo para realizar el presente trabajo ha sido seleccionada su digna facultad, por lo cual se solicita el permiso respectivo para que nuestra alumna pueda ejecutar con toda normalidad su ejecución de su tesis en las instalaciones del local que dignamente usted dirige.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente



Dr. Marilú Roxana Soto Vásquez  
Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Cátedra de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo



CD. José Alfredo Calderón  
Coordinador de la Carrera de Odontología

Calle Aguarayana N° 181 - 185 - Urb. San Isidro - Trujillo - Perú  
Teléfono: (044) 400568 / 400569  
www.uca.edu.pe



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE  
FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 16 de Setiembre del 2019

BLGO. MBLGO. DENIS R. GALLARDO PAREDES  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

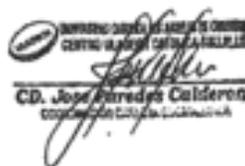
Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Tesis II, nuestra alumna, CRUZ ZUMARAN Katia Yeraldin; con código 1610182049, debe llevar a cabo el desarrollo para la ejecución de la tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019.** Así mismo para realizar el presente trabajo ha sido seleccionada su digna facultad, por lo cual se solicita el permiso respectivo para que nuestra alumna pueda ejecutar con toda normalidad su ejecución de su tesis en las instalaciones del laboratorio que dignamente usted dirige.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

  
CD. José Estrada Calderón  
COORDINADOR DE CARRERA

  
DR. DENIS R. GALLARDO PAREDES  
BIÓLOGO - MICROBIOLOGO  
C. B. N. N° 4183

Calle agustina de los Ríos 181 - 185 - Urb. San Isidro - Trujillo - Perú  
Teléfono: (044) 602568 / 602569  
www.uladech.edu.pe

**Tabla N° 01:** Prueba de normalidad, efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de la cáscara y pulpa de *Genipa americana* (Jagua) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo 2019.

Ensayo	Diámetro de halos de inhibición (mm)			
	Extractos Hidroetanólicos			
	G. americana 20%	G. americana 40%	G. americana 60%	Clorhexidina 0.12%
1	8.9	13.3	16.9	14.4
2	8.6	13.4	17	14.3
3	8.6	13.3	17	14.4
4	8.8	13.3	16.5	14.4
5	8.7	13.4	17	14.4
6	8.8	13.5	17	14.3
7	8.8	13.5	17.1	14.3
8	8.8	13.4	17	14.3
9	8.8	13.5	17.1	14.4
10	8.7	13.5	17.1	14.4
<b>Promedio</b>	8.75	13.41	16.97	14.36
<b>p</b>	0.095	0.017	0.000	0.000
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	Normalidad	No Normalidad	No Normalidad	No Normalidad

**Interpretación:** Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que existe la prevalencia de los grupos de datos con una significancia mayor a 0.05 ( $p < 0.05$ ), y un grupo de datos con distribución normal.

Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentan una distribución normal.

### Anexo 3: FOTOGRAFIAS



**Figura 01.** Lavado, desinfectado y peso de los frutos de *Genipa americana*.



**Figura 02.** Ambas muestras vegetales serán colocadas por separado en papeles Kraft, y se llevarán a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40 C) por 48 horas.



**Figura 03.** Después de 48 horas se restira de la estufa frutos de *Genipa americanas* y se proceden a moler



**Figura 04.** Se pesarán el polvo de la muestra



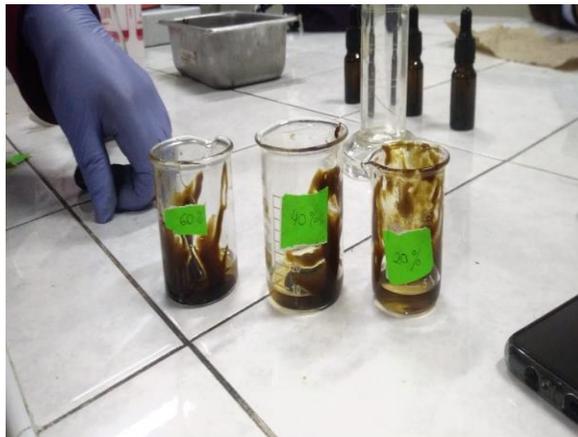
**Figura 05.** En un tubo de ensayo se agrega alcohol y agua destilada y se mide con una pipeta para verificar la cantidad .

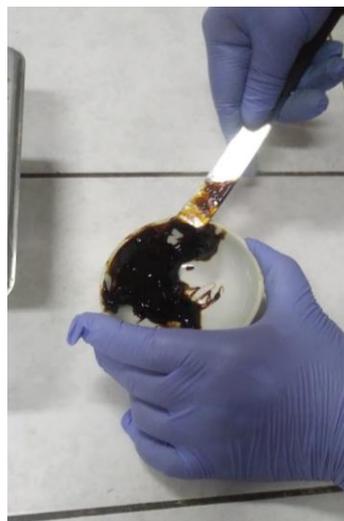


**Figura 06.** Se añadirán a cada frasco etanol-agua (7:3) cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclará bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente. Se tapanán los recipientes y se macerarán por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.



**Figura 08.** se filtrarán cada macerado, al vacío con papel de filtro Whatman# 1 y luego con filtros Millex (Millipore) de 0,22 mm para esterilizar el extracto.





**Figura 09.** Las soluciones resultantes serán llevadas a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión reducida y a una temperatura de 40 C; luego se pesará el residuo seco y se guardará en refrigeración a 2 C a 4 C en frasco de vidrio de color ámbar estéril y se pesaran.



**Figura 09.** Obtención de los extractos hidroetanólico al 20%,40% y,60 % y etanol al 70% en frasco de vidrio de color ámbar estéril.

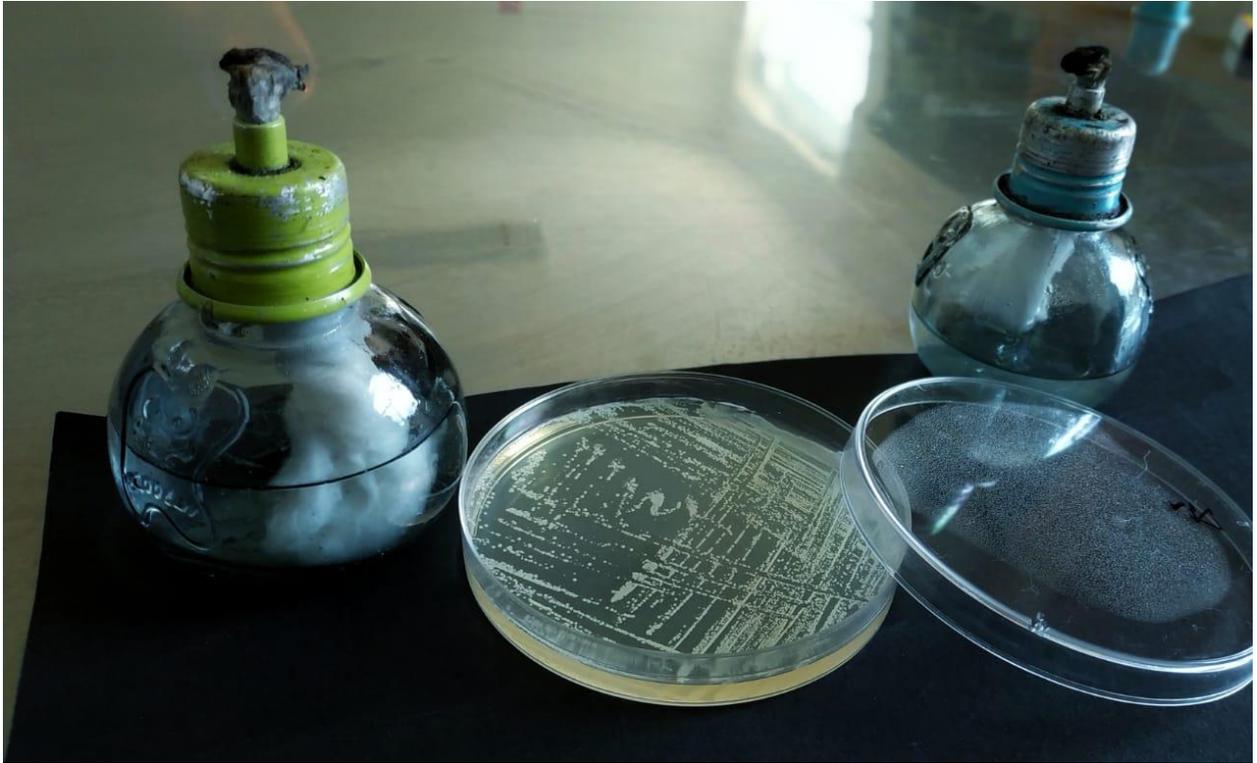
## Fase microbiológica



**Figura 01.** Cepa liofilizada de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



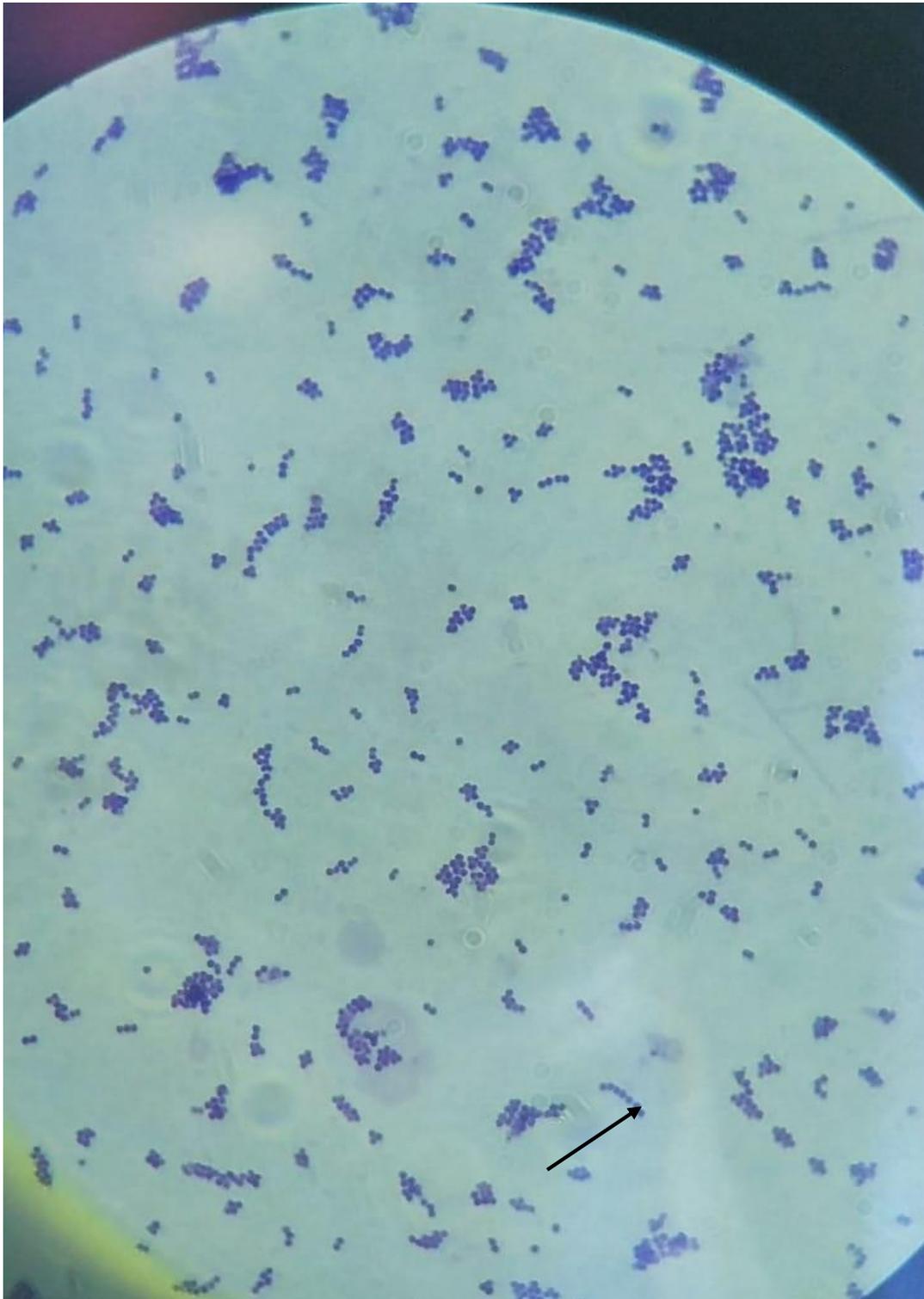
**Figura 02.** Reactivación de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en medio BHI y agar TSA.



**Figura 03.** Evaluación de la pureza de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observan colonias uniformes y características de esta especie.



**Figura 04.** Placa Petri conteniendo un cultivo puro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



**Figura 05.** Coloración Gram de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observan cocos Gram positivos dispuestos en cadenas.



**Figura 06.** Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Figura 07.** Inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.





**Figura 08.** Extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* al 20%, 40% y 60% respectivamente.



**Figura 09.** Siembra por superficie en agar Müller-Hinton a partir del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



**Figura 10.** Colocación de disco embebido con su respectivo extracto hidroetanólico de *Genipa americana*.



**Figura 11.** Incubación de placas petri.



**Figura 12.** Halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana*.



**Figura 13.** Halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* al 20% (C1) y al 40% (C2).



**Figura 14.** Observación detallada de los halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* al 20% (C1) y al 40% (C2).



**Figura 15.** Halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* al 60% (C3) y el control.



**Figura 16.** Observación detallada de los halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* al 60% (C3) y el control.



**Figura 17.** Medición de los halos de inhibición producidos por los extractos hidroetanólicos de *Genipa americana* usando un vernier digital.



**Gen Lab del Perú S.A.C**  
 Jr. Capac Yupanqui N°. 2434  
 Lince - Lima - Perú  
 Central Telefónica  
 (51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501  
 Email : ventas@genlabperu.com  
 Web Site : www.genlabperu.com

**RUC N°:20501262260**  
**FACTURA**  
**ELECTRONICA**  
**F002-000546**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 26/09/2019

Orden Compra: COTIZ 19/038469

Fecha Vcto : 26/09/2019

Guia de Remisión :

Cliente: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE

N° Pedido : 023603

Dirección: JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCI  
 CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru

Tipo Movimiento : ANTICIPOS

RUC : 20319956043

Lugar de destino :

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	337.7881	0.00	337.79

TRESCIENTOS NOVENTA Y OCHO CON 59/100 SOLES



Anticipo		0.00
Op. Gravada	S/	337.79
IGV 18%		60.80
Importe Total	S/	398.59



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

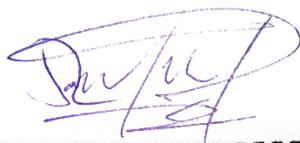
Trujillo, 20 noviembre del 2019

**CONSTANCIA DE ASESORÍA**

Yo, **Denis Romario Gallardo Paredes**, biólogo microbiólogo CBP N°15057, investigador en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo.

Expido constancia de haber asesorado a la alumna **KATIA YERALDIN CRUZ ZUMARAN** en las actividades microbiológicas tales como; activación de la cepa, siembra de cultivos, enfrentamiento microbiológico y toma de medidas en los halos de inhibición, en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo para el desarrollo de la tesis titulada “EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO – 2019” para los fines que ella crea conveniente.

Atentamente,



-----  
**DENIS ROMARIO GALLARDO PAREDES**  
**BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO**  
**C B P N° 15057**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Trujillo, 15 de noviembre del 2019

**CONSTANCIA DE COLABORACIÓN**

Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, Docente de la Catedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotécnica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con **número de colegiatura N° 06952**.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado en la preparación de los extractos hidroetanólicos y sus concentraciones, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, a la alumna **KATIA YERALDIN CRUZ ZUMARAN**, identificado con DNI 70496394, con domicilio legal en Prol. Unión 1329. Int A6. Urb. Daniel Hoyle- Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Asimismo, las concentraciones de ensayos preparadas, serán utilizadas para la ejecución de la tesis titulada: “EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO – 2019”.



  
Dra. Marilú Roxana Soto Vásquez  
Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Cátedra de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

## HOJA DE CONFLICTO DE INTERES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio titulado “EFECTO ANTIBACTERIANO DE TRES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE LA CÁSCARA Y PULPA DE *Genipa americana* (JAGUA) SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.



---

**Katia Y. CRUZ ZUMARAN**  
**DNI 70496394**