

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE *Portulaca oleracea* (VERDOLAGA) SOBRE CEPAS DE
Streptococcus mutans ATCC 25175.

TRUJILLO – 2018

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA

AUTOR:

ALEJANDRO CASTILLO CEVERINO LOYOLA

ORCID: 0000-0002-7509-3083

ASESOR:

MORALES GUEVARA CLAUDIA CRISTINA

ORCID: 0000-0001-5891-3003

TRUJILLO - PERÚ

2020

1. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Alejandro Castillo, Ceverino Loyola

ORCID: 0000-0002-7509-3083

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, estudiante de Pregrado

Trujillo, Perú

ASESORA

Morales Guevara, Claudia Cristina

ORCID: 0000-0001-5891-3003

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

JURADO

Pairazamán García, Juan Luis

ORCID: 0000-0001-8922-8009

Morón Cabrera, Edwar Richard

ORCID: 0000-0002-4666-8810

Velásquez Veneros, Cynthia Karina

ORCID: 0000-0001-5756-7137

2. HOJA Y FIRMA DE JURADO Y ASESOR

Mgtr. Pairazamán García Juan Luis
Presidente

Mgtr. Morón Cabrera Edwar Richard
Miembro

Mgtr. Velásquez Veneros Cynthia Karina
Miembro

Mgtr. Morales Guevara Claudia Cristina
ASESORA:

3. Agradecimiento

A Dios por darme el aliento de fuerza y voluntad para hacer realidad este sueño. A mis queridos padres que siempre me brindaron ánimo desinteresadamente en esta carrera desde el inicio hasta ver realizada mis metas.

A la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, por permitir que forme parte de sus aulas universitarias y logre mis sueños que tanto anhelaba.

Al Dr. César Abraham Vásquez Plasencia, por brindarme su tiempo, paciencia y comprensión durante todo el proceso de elaboración para poder culminar y presentar esta tesis para optar el título de cirujano dentista.

Permítame resaltar su alta calidad profesional y humana.

A la Dra. Marilú Roxana Soto Vásquez, docente investigador de la facultad de Farmacia y Bioquímica, por colaborar durante la ejecución de este Proyecto de Tesis en la prestigiosa Universidad Nacional de Trujillo.

A la Dra. Manuela Natividad Lujan Velásquez, docente de la escuela de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo por colaborar en la ejecución de este Proyecto de investigación.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme y
encaminarme en mi propósito de
cumplir con mi objetivo, para obtener
el título de cirujano dentista.

A mi querido hijo Cristian Jhair Alejandro
Pérez, quien fue mi mayor fortaleza para
seguir persistiendo a pesar de muchas
dificultades en la vida.

A mis queridos padres, por su cariño,
paciencia, comprensión, motivación
y apoyo incondicional a pesar de su
avanzada edad, se preocuparon por mí
salud y bienestar en todo momento.

4. Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* (Verdolaga) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; esta planta fue recolectada del caserío pedregal, distrito Simbal, Provincia de Trujillo, transportada en bolsa limpia, fue lavado en agua, desinfectado con hipoclorito de sodio al 0.5% enjuagado con agua destilada, se licuó con etanol al 96%, macerado por siete días, fue filtrado con una bomba al vacío hasta obtener el extracto, a partir de allí se prepararon las diferentes concentraciones.

La determinación del efecto antibacteriano se realizó en 10 repeticiones para cada concentración del extracto al 30%, 50%, 70%, 90% y 100%, se utilizó grupo control positivo Clorhexidina al 0.12% y control negativo a etanol al 70%. Se enfrentó las soluciones al microorganismo, mediante la técnica de Kirby Bauer, los halos de inhibición se midieron en milímetros alrededor de cada disco. Los promedios de diámetros de halos de inhibición que se obtuvieron fueron de 15 mm. para el 30%; 23 mm. para 50%; 25 mm. para 70%; 27.7 mm. para 90%; 29.4 mm. para 100%; el control positivo con Gluconato de Clorhexidina al 0.12%; 23.4 mm. y control negativo Etanol al 70%; 0 mm. Se encontró una diferencia significativa entre las diferentes concentraciones de los extractos de acuerdo a la prueba ANOVA ($p < 0.000$) y grupos de tratamiento según la prueba de comparaciones múltiples de DUNCAN.

Se concluye que el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* (Verdolaga) posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

PALABRAS CLAVES: Antibacteriano, clorhexidina, *Portulaca* (verdolaga), *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the antibacterial effect of the ethanol extract of *Portulaca oleracea* (Verdolaga) on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175; This plant was collected from the pedregal hamlet, Simbal district, Trujillo province, transported in a clean bag, bellows in water, disinfected with 0.5% sodium hypochlorite, rinsed with distilled water, liquefied with 96% ethanol, macerated for seven days, it was filtered with a vacuum pump until the extract was obtained, from there the different concentrations were prepared.

The determination of the antibacterial effect was performed in 10 repetitions for each concentration of the extract at 30%, 50%, 70%, 90% and 100%, the positive control group Chlorhexidine 0.12% and negative control to 70% ethanol were controlled. The solutions were confronted with the microorganism, using the Kirby Bauer technique, the inhibition halos were measured in mm around each disk. The averages of diameters of inhibition halos that were obtained were 15 mm. for 30%; 23 mm for 50%; 25 mm for 70%; 27.7 mm for 90%; 29.4 mm for 100%; the positive control with 0.12% 23.4 mm Chlorhexidine Gluconate. and negative control Ethanol 70% 0 mm. A significant difference was found between the different variations of the extracts according to the ANOVA test ($p < 0.000$) and treatment groups according to the DUNCAN multiple comparisons test.

It is concluded that the ethanol extract of *Portulaca oleracea* (Purslane) has an antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

KEY WORDS: Antibacterial, chlorhexidine, *Portulaca* (purslane), *Streptococcus mutans*.

5. Contenido

1. Equipo de trabajo.....	ii
2. Hoja y firma de jurado y asesor.....	iii
3. Agradecimiento y dedicatoria	iv
4. Resumen y abstract.	v
5. Contenido	xii
6. Índice de tablas.....	ix
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura.....	4
III. Hipótesis.....	17
IV. Metodología.	18
4.1.- Diseño de investigación... ..	18
4.2.- Población y muestra	19
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores... ..	21
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos... ..	22
4.5.- Plan de análisis.....	27
4.6 Matriz de consistencia	28
4.7 Principios éticos... ..	29
V.- RESULTADOS.....	30
5.1 Resultados... ..	30
5.2. Análisis de resultados... ..	32
VI.- CONCLUSIONES	36
Aspectos complementarios:.....	37
Referencias Bibliograficas	38
Anexos.....	45

6. Índice de tablas

TABLA 1. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Trujillo-2018	30
--	----

TABLA 2. Comparación del efecto antibacteriano del extracto <i>etanólico de Portulaca oleracea</i> y grupos de tratamiento sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Trujillo-2018.....	31
---	----

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental y otras enfermedades de la cavidad bucal se presenta en la mayor parte de la población, afectando especialmente a los países que se encuentran en subdesarrollo, deteriorando la salud oral de la persona, así como la calidad de vida de las poblaciones más vulnerables.¹

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que la caries dental es una enfermedad de mayor prevalencia, en Sudamérica afecta en un 60 a 90% de la población infantil, sobre todo en la población en edad escolar y aproximadamente el 100% en la población adulta. En nuestro país el Ministerio de Salud en el año 2017 mencionó que las enfermedades periodontales como la caries dental afecta en un 90% de la población peruana, esto se debe a una mala práctica de hábitos e higiene bucal, así como también a la inadecuada alimentación basada en carbohidratos sobre todo en la población escolar. La mayor incidencia se presenta en la población de bajo nivel cultural y económico, así como la falta de accesibilidad a una atención en salud bucal y técnicas sobre el cuidado de los dientes.²

El *Streptococcus mutans* ATCC 25175, es una bacteria anaerobia Gram positiva facultativa que se desarrolla fundamentalmente en la cavidad bucal humana, dando inicio a la formación de la placa bacteriana permitiendo la aparición y desarrollo de las enfermedades bucales como es la caries dental. Esta bacteria necesita vivir en un medio ácido y con un pH bajo el cual permite sintetizar y metabolizar el azúcar a ácidos acídricos, estos ácidos se encuentran en un medio

de condiciones favorables donde se metaboliza los azúcares y produce polisacáridos intracelulares y extracelulares.³

La *Portulaca oleracea*, es una planta milenaria con propiedades nutricionales y medicinales utilizada antiguamente; esta planta crece en campos de cultivo, huertos, espacios libres, caminos, acequias, y macetas. Muchas personas la consideran como mala hierba así como sucede con otras plantas que poseen propiedades nutricionales y medicinales;⁴ aún existen pocos estudios con relación al tratamiento antibacteriano en cavidad bucal, se plantea realizar un estudio de investigación con el fin de contribuir y ser un aporte más utilizando el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* sobre cepas *Streptococcus mutans* ATC 25175.

En la actualidad se han realizado muy pocos estudios de investigación relacionada entre *Portulaca oleracea* frente a la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Portulaca oleracea* es una planta que contiene muchas propiedades curativas, además es una planta natural que posee compuestos antiinflamatorios, analgésicos, antioxidantes, diuréticos, antisépticos, antifúngicos, entre otros; esta planta brinda múltiples beneficios que pueden ser utilizados en diferentes tratamientos.⁴ Se debe tener en cuenta sus ventajas debido que se puede adquirir fácilmente sin invertir mucho dinero y obtener sus beneficios curativos.

Este estudio de investigación fue de tipo cuantitativo, nivel explicativo, de diseño transversal, analítico, prospectivo y experimental; que a través de los resultados se llega a la conclusión que el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en todas sus concentraciones presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus*

mutans.⁵

Se debe seguir investigando acerca de los beneficios que posee esta planta medicinal que permita ser utilizado como tratamientos alternativos en beneficio de la salud del ser humano.

II.- REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1.- ANTECEDENTES

Younq M, et al.⁵ (Korea, 2015). Efecto antibacteriano del extracto de etanol de *Portulaca oleracea* y el extracto de etanol de *Glechoma hederacea* en la periodontitis. En este estudio se determinó la actividad antimicrobiana del extracto de *Portulaca oleracea* (PO) y *Glechoma hederacea* (GH), el extracto de etanol de GH y los efectos fisiológicos de POEE y GHEE se evaluaron sobre las respuestas inflamatorias celulares y la gravedad de la periodontitis, se inoculó la bacteria teniendo como modelo de periodontitis en ratas. Los resultados indicaron que POEE y GHEE tuvieron efectos en la proliferación de estreptococos mutans y en respuestas inflamatorias en células de fibroblastos gingivales que demostró disminuir la severidad de la periodontitis y el cambio de la población de células inmunes. Estos datos sugieren que la PO y la GH deben considerarse candidatos para aliviar la gravedad de periodontitis.

Moncayo C.⁶ (2015, Quito) Ácidos grasos, actividad antioxidante y antibacteriano en extractos de *Portulaca oleracea* (Verdolaga). Este estudio tuvo como objetivo extraer biomoléculas potencialmente activas de extractos de *Portulaca oleracea*, para tal efecto se realizaron diferentes pruebas de tamizaje fitoquímico en los extractos etéreos, alcohólicos y acuosos de verdolaga, para determinar la posible actividad antioxidante, se utilizó la molécula 2, 2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) un inhibidor de oxidación y se encontró que tanto las hojas (75,76%) como la planta total (78,36%) muestran una fuerte actividad antioxidante de origen natural, cuando se

compara con el ácido ascórbico (98,16%) (L-Ascorbic Acid AR-Lobachemie). La actividad antioxidante de los extractos de la hoja fue significativamente menor ($p < 0,01$) que los extractos de la planta total. Los resultados mostraron la presencia de varios metabolitos como alcaloides, compuestos grasos, catequinas, saponinas, taninos, flavonoides, antocianinas, mucílagos, triterpenos, esteroides, lactonas y coumarinas. Finalmente, los extractos en metanol de las hojas (2000 $\mu\text{g/ml}$) mostraron actividad antibacteriana en *Echericha coli*, mientras que a la misma concentración, los extractos en metanol de la planta total mostró actividad antibacteriana en *Streptococcus aureus*.

Hanumantappa B, et al.⁷ (2014, India) Atributos antibacterianos de la apigenina, aislados de *Portulaca oleracea*. El objetivo del estudio fué determinar la apigenina flavonoide de *Portulaca oleracea*, la muestra seca de la planta se pulverizó y se sometió a extractor de soxhlet añadiendo 80 ml de etanol, el extracto se centrifugó a 11000 rpm durante 30 min; la fracción se concentró y se sometió a un procedimiento de cromatografía de capa fina de alto rendimiento (PTLC), El material purificado también se sometió a diferentes técnicas analíticas, híbridas y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) para la elucidación estructural, la apigenina obtenida se sometió a la actividad antibacteriana sobre cinco cepas bacterianas patógenas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*, entre todas las cepas bacterianas, *Salmonella typhimurium* y *Proteus mirabilis* mostraron el diámetro máximo de la zona de inhibición para el flavonoide y las cepas bacterianas restantes mostraron un diámetro moderado con los valores de control

respectivamente. Se encontró que la concentración de inhibición mínima (MIC) para el flavonoide de todas las cepas bacterianas ensayadas mayor a 4 mg por ml. la apigenina tiene propiedades antibacterianas y puede utilizarse para la elaboración de fármacos.

Reaño C.⁸ (2014, Trujillo) Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia triphilla* (Cedron), *Rosmarinus Offcinalis* (Romero), *Mentha spicata* (Hierba buena), *Portulaca oleracea*, (Verdolaga), y *Traxacum officinali* (Diente de león). Evaluó la actividad antibacteriana del extracto *Portulaca oleracea* (verdolaga) y otras plantas, sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*. Se trabajó según el método de Kirby Bauer (modificado), sustituyéndose el disco de papel por pocillos en agar Muller Hinton solidificado. Se utilizó una placa petri para cada bacteria realizándose la siembra de las bacterias por superficie; se utilizaron 5 pocillos equidistantes de 5 mm de diámetro por 6 mm de profundidad; en cada pocillo se colocó 30 ul de la solución del extracto vegetal de cada una de las plantas en estudio a una concentración de 10 mg/ml. Los resultados obtenidos determinaron que los extractos de *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Aloysia triphylla* (Cedrón) y *Mentha spicata* (Hierba buena) a la concentración de 10 mg/ml, tuvieron actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, y no sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*; así mismo los extractos de *Portulaca oleracea* (Verdolaga)

Ercisle S, et al.⁹ (2008, Italia) Actividad antioxidante y antibacteriana de *Portulaca oleracea*. El objetivo fue determinar la actividad antioxidante y antibacteriano de extractos de metanol de hojas de *Portulaca oleracea*, los extractos de plantas

fueron cribados para posible actividad antioxidante mediante el uso de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) y ácido β -caroteno-linoléico; las hojas de verdolaga también mostraron un alta actividad antibacteriana y antioxidante en un 91.15 %; en comparación con antioxidantes sintéticos de ácido beta hidroxil salicílico (BHA) 98.16 % y Butil hidroxitolueno (BHT) un 96,66 %. La actividad antioxidante de los extractos de hojas fue más baja que el BHA y BHT, la diferencia no fue estadísticamente significativo $p < 0,05$. La cantidad de fenoles totales fue de 17.88 $\mu\text{g}/\text{mg}$, los lípidos totales en hojas de verdolaga fueron 5.83%, el ácido Linolénico fué el ácido graso dominante (56.33%), seguido de ácido linoléico (14.01%), palmítico (9.72%), oleico (8.83%), mirístico (5.04%) y ácidos esteáricos (4.36%). Los extractos de metanol de las hojas mostraron actividades antibacterianas contra *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae*, *Vibrio cholerae* y *Yersinia pseudotuberculosis*.

Cho Y, et al.¹⁰ (2008, Korea) Actividad biológica y microbiana de *Portulaca oleracea*. El objetivo fue determinar la actividad biológica y antibacteriana de las concentraciones y compuestos fenólicos del extracto en agua, el 80% de extractos de etanol de *Portulaca oleracea* fue de 3.05. $\mu\text{sol}/\text{metrol}$ y 6.3 $\mu\text{sol}/\text{metrol}$, las actividades antioxidantes totales del extracto de agua y 80% de extractos de etanol de *Portulaca oleracea* fueron 89.2% y 72.9%; en el ensayo de radicales libres 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) 69.0% y 96.5% en el ensayo colorimétrico basado en radicales catiónicos (ABTS), el factor de protección antioxidante en agua y 80% de extractos de etanol fueron cada uno 2.73 y 3.63. Las actividades inhibitoras de tirosinasa fueron extractos de agua y 80% de extractos de etanol de

Portulaca oleracea fueron el 20.2% y 38.7%. *Portulaca oleracea* mostró altas actividades antimicrobianas contra *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus mutans*. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) en *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus mutans* fueron 200, 50, 100, 100 y 150 $\mu\text{sol/metro}$, respectivamente. El resultado sugiere que los extractos de *Portulaca oleracea* pueden ser útil como fuente potencial de antioxidantes y antimicrobianos.

2.2 MARCO TEORICO.

2.2.1 CARIES DENTAL.

Es una enfermedad de mayor prevalencia que se presenta en la población y es causada por bacterias que producen la descomposición de los restos de alimentos, afecta a las piezas dentarias a muy temprana edad, también se pueden presentar en personas de cualquier grupo etario. Esta enfermedad produce la desmineralización del esmalte de los dientes a causa de la formación de ácidos que producen las bacterias así como la consecuencia de la placa acumulada en las superficies de los dientes.¹¹ La pérdida y deterioro de las piezas dentales se debe principalmente al estilo de vida de cada persona, así como también la ingesta de carbohidratos, mala técnica de cepillado dental, excesivo consumo de azúcares, el consumo de poca cantidad de flúor en la alimentación y pastas dentales, así como también el factor hereditario presenta un rol muy susceptible en la aparición de la caries dental.¹¹ En la actualidad las investigaciones realizadas a nivel nacional no muestran resultados claramente que permitan identificar una disminución de esta enfermedad, pero algunos estudios que se realizaron en las regiones de nuestro país reportan que se ha logrado disminuir los altos índices de prevalencia y severidad de la caries dental.¹¹

Las personas que padecen de xerostomía se encuentran en riesgo especial de presentar caries, trastorno que es provocado a consecuencia de falta o poca cantidad de saliva, la ingesta de ciertos fármacos,¹² así como algunos tratamientos de quimioterapia y radioterapia. La caries dental puede avanzar debido a la falta

de interés y malos hábitos que si no es tratada a tiempo puede causar la pérdida del diente, enfermedades periodontales, ocasionando el deterioro de los tejidos adyacentes más próximos al diente, tales como pérdida del soporte óseo, inflamación de la mucosa oral y abscesos dentarios, que posteriormente implica realizar otros tipos de tratamientos dentales; en la mayor parte de los casos provoca la pérdida parcial o total de las piezas dentarias, generando ciertas alteraciones en la cavidad bucal.¹²

2.2.2 STREPTOCOCCUS MUTANS

Es una bacteria Gram positiva que puede vivir con o sin la presencia de oxígeno, estas bacterias se proliferan normalmente en la cavidad oral en la mayoría de la población, estas ayudan a la adherencia y formación de la placa dental y se relaciona directamente a la fase inicial, proliferación y desarrollo de la caries así como el deterioro de las piezas dentales.¹³ Esta bacteria necesita vivir en un medio con pH bajo facilitando el metabolismo de los carbohidratos y azúcares, sacáridos, polisacáridos intracelulares y extracelulares, de igual manera interviene en la síntesis de los ácidos encontrándose en un ambiente de estas condiciones, sustancias que favorecen la adhesión de placa en piezas dentarias, así como también facilita el metabolismo energético.¹³

Streptococcus mutans es una bacteria que fue estudiado por Clarke en el año de 1924, en este estudio el autor no lo menciona como una bacteria anaerobia, posteriormente otros estudios realizados a *Streptococcus mutans* fueron divididas

en siete grupos distintos¹⁴ mediante un test bioquímico, así como fisiológico que fue propuesto por Facklam en 1974. En este grupo se incluyen a otras especies como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus. sobrinus* y *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus downei* y *Streptococcus ferus*.¹⁴

Para diferenciar los *Streptococcus* del grupo *mutans* se realizó mediante la observación, identificación y fermentación de hidratos de carbono, cuyas características son macroscópicas, mediante el cultivo no se puede realizar la determinación de las especies.¹⁴

2.2.2.1 COLONIZACIÓN POR MICROORGANISMOS DEL GRUPO MUTANS Y CARIOGÉNESIS

El *Streptococcus mutans* en cavidad oral tiene una gran importancia debido a que forma parte de la flora bacteriana, el cual determina la colonización no necesariamente implica el inicio de la caries dental, su inicio está asociada a múltiples factores presentados por Keyes; sin embargo se considera diversas características los cuales ayuda a presentar ciertos microorganismos que pueden ser más patógenos entre ciertas especies, como las que se describen el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*; cabe mencionar que estas especies son idénticos en su comportamiento bioquímico, el cual determina que diferenciarlo no es muy fácil; pero debido a su estado de patogenicidad *Streptococcus sobrinus* representa ser mucho más agresivo.¹⁴

En otros estudios se han demostrado cierta variabilidad en la genética de *Streptococcus mutans* asociada estrictamente a la sintetización de los azúcares, estas características se encuentran sujetas al tipo de cepas de cada especie logrando favorablemente la fase inicial y desarrollo de la caries dental. Cuando se inicia la colonización de estas bacterias es evidente la aparición y desarrollo de la caries. Mientras más temprano se produce la colonización por *Streptococcus mutans* la posibilidad del inicio de caries es más alta en la niñez, siendo una de las razones muy importantes evidenciar la edad, considerando las fuentes de propagación y las causas que se asocian.¹⁴

El inicio y desarrollo de esta enfermedad es producido por la bacteria del *Streptococcus mutans*, que muestran características muy especiales como la de adherencia de placa bacteriana hacia la superficie de los dientes y la síntesis de los ácidos.

2.2.2.2 MECANISMOS DE ADHERENCIA

El *Streptococcus mutans* busca adherirse a la superficie de los dientes en dos fases; primero mediante acción reversible del organismo del ser humano y la superficie dental cubiertas por el flujo salival y la otra en un proceso irreversible, se da inicio por intermedio de un glucano insoluble que se sintetiza a partir de la reacción de la enzima glucosiltransferasa.¹⁵ Este es el proceso inicial del *Streptococcus mutans* donde la bacteria se adhiere sobre las caras y superficie del diente el cual ha sido estudiado por *Gibbons* y *Van Houte*, *Streptococcus mutans* ayuda a la síntesis del

glucano insoluble. En tal sentido la mejor manera de prevenir la caries dental es evitar el proceso de adhesión del *Streptococcus mutans* hacia las superficies dentales.¹⁵

2.2.3 PORTULACA OLERACEA

Portulaca oleracea ha sido conocida por los pobladores desde tiempos antiguos, haciendo uso en diversos tratamientos curativos de muchas enfermedades, la utilización y uso medicinal de esta planta es de gran beneficio. La *Portulaca oleracea* tiene múltiples propiedades y se puede utilizar de diferentes maneras, en casos de cefalea, inflamación de diferentes partes del organismo, dolor y ardor de estómago, problemas del tracto urinario, infecciones del sistema digestivo, entre otras más. También puede ser utilizada en la ingesta de jugo y ensaladas a base de esta la planta.¹⁶

Esta es una planta con características especiales dentro de ellas es muy ramificada crece y avanza extendiéndose sobre la superficie de la tierra. *Portulaca oleracea* al crecer se eleva varios centímetros de la superficie del suelo, sus hojas son abundantes, pequeñas en tamaño, de forma característica, sus flores presentan unos 5 a 8 mm de diámetro, al medio día se evidencian notablemente y nos ofrecen un color amarillo, generalmente aparecen en la estación de primavera que duran hasta la entrada del otoño.¹⁶

Esta planta tiene una cualidad de ser muy resistente a la sequía, crece y se adapta en cualquier área y tipo de terreno. *Portulaca oleracea* se encuentra en algunos casos

en terreno sin cultivar, de climas templados, también puede encontrarse como maleza, tiene su origen en India y luego se extendió por el mundo.¹⁶

2.2.3.1 PROPIEDADES

a) NUTRITIVA

Portulaca oleracea es rica por su gran concentración de omega 3 considerándose una de las plantas nutritivas y saludables, aportando múltiples propiedades nutricionales.¹⁷

Se obtiene 400 miligramos de omega 3 en solo una porción de *Portulaca oleracea* fresca.¹⁷

Rica en Vitamina: A, B, B₁, B₂, B₃, C, E, betacarotenos, contiene minerales como calcio, magnesio, potasio, fósforo y hierro.¹⁷

En esta planta podemos encontrar bioflavonoides como la liquirtina, aminoácidos y posee propiedad antioxidante.¹⁷

b) CURATIVA

Su propiedad medicinal se atribuye a múltiples tratamientos desde la antigüedad, dentro de ellas se encuentran los problemas del tracto urinario; también presenta propiedades como antiescorbútica, antiespasmódica, diurética y refrescante.¹⁷

La *Portulaca oleracea* muestra su valor medicinal, dentro de ellas problemas de hígado, riñón y vejiga; también se utiliza para tratamientos en cavidad oral disentería bacilar y dificultad al orinar. Una mezcla hecha a base de tallos y hojas

tipo pasta se aplica en la parte inflamada,¹⁷ también en casos de quemaduras y escaldaduras. Sus frutos poseen una propiedad diurética y anti disentérica, sus hojas y tallos de esta planta es utilizada de diferentes maneras (crudos y hervido), en otros casos como en polvo de *Portulaca oleracea*, 1 a 20 ml para la preparación de jugo. Se ha encontrado efectividad de *Portulaca oleracea* sobre infecciones de vías urinarias y de colesterol elevado. En muchos lugares los pobladores lo utilizan como analgésico y antiinflamatorio.¹⁷

2.2.3.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Portulaca oleracea el 95% de su peso total es agua, se conoce por su diverso contenido de alcaloides fenólicos, así como encontramos diversas propiedades nutritivas como vitaminas A, B, C, D y E, antioxidantes, de igual manera han encontrado otros componentes importantes, como el diterpenoide portuleno, lupeol, betasitosterol y daucosterol. También se encuentra el ácido alfa-linoléico y linoléico, hesperidina y ácido caféico. Se han encontrado varios flavonoides como kaempferol, apigenina, miricetina, quercetina y luteolina.¹⁸

Esta planta también contiene sustancias que sirven como mediadores químicos dentro de ellos tenemos la dopamina y noradrenalina, en un porcentaje considerable de 0.015% y 0.20%, aproximadamente.

También contiene ácidos grasos que se encuentra de 1.5 y 2.5 mg/g de una mezcla de hojas frescas, 0.6 a 0.9 mg/g, en tallos y 80 a 170 mg/g en las semillas. constituye

el 60% de ácido alfa-linolénico de toda la cantidad de hojas y el 40% en las semillas, así como una cantidad considerable de betacarotenos.¹⁸

2.2.3.3 TOXICOLOGÍA

Mediante los estudios realizados no se demostraron efectos toxicológicos directos de *Portulaca oleracea* en ninguna especie, por ser una planta comestible y utilizada como remedios caseros.¹⁹

III.- HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis.

El extracto etanólico de *Portulaca oleracea* al 100% tiene mayor efecto antibacteriano que las concentraciones al 90%, 70%, 50% y 30% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

IV. METODOLOGÍA.

4.1.- Diseño de investigación

Tipo de investigación: Cuantitativo.

Nivel de investigación: Explicativo.

La investigación presenta un diseño.

Transversal: Que analiza datos de variables recopiladas en un periodo de tiempo sobre una población, muestra o subconjunto predefinido.²⁰

Analítico: Explica y contesta el por qué o la causa de presentación de determinado fenómeno o los hechos programados a observar. En el estudio se manipuló los extractos etanólico de *Portulaca oleracea*.²⁰

Prospectivo: Es la información que se registra a medida que se va obteniendo los hechos programados y observados.²⁰

Experimental: El investigador a manipulado variables independientes, en el estudio se utilizó diferentes concentraciones de *Portulaca oleracea*.²⁰

4.2.- Población y muestra

a) Población

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175,

b) Criterios de selección

Criterios de inclusión:

Placas Petri sembradas con Cepas de *Streptococcus mutans*.

Criterios de exclusión:

Placas Petri con halos de inhibición no muy claros.

Placas Petri con signos de contaminación.

C) Muestra.

Tamaño muestral

Para el presente estudio por ser experimental, el tamaño de la muestra fue calculada según la fórmula estadística siguiente:

Muestra Preliminar:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2 + Z_{\beta}^2}{\delta^2} \times 2 \times \sigma_{\sigma}^2$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; que es un coeficiente de confianza del 95%.

$Z_{\beta} = 0.84$; que es un coeficiente en la distribución normal para una potencia de prueba del 80%

$\sigma_{\sigma} = 0.79 \delta$ valor asumido por no haber información completa sobre los parámetros de interés para la presente investigación.

Luego Reemplazando:

$$n = (1.96+0.84)^2 \times 2(0.79)^2$$

$$n = 10$$

Se trabajó con 10 repeticiones experimentales seleccionadas aleatoriamente para cada grupo.

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable dependiente	Definición conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Valor final	Tipo	Escala de Medición
Efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	Capacidad de una sustancia para destruir a las bacterias o inhibir su crecimiento. ²¹	Inhibición en el desarrollo o Crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> a partir de 8 mm de halo, según escala de Duraffourd. ^{22,23}	Halos de inhibición diámetros	mm	Cuantitativo.	De razón
Variable Independiente Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i>	Es una planta medicinal, es utilizado para los problemas digestivos, respiratorios y dentro de sus propiedades tiene la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano. ²⁴	Para el estudio se utilizó la concentración del extracto.	Concentración	Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 30%, 50%, 70%, 90% y 100%.	Cualitativa	Ordinal

5.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Técnica: Observación microbiológica

4.4.2. Instrumento

Para medir el efecto antibacteriano se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo - Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025 (Anexo 1)

Ficha de recolección de datos (Anexo 2)

4.4.3 Procedimientos

Obtención del extracto etanólico de *Portulaca oleracea*

Recolección e identificación taxonómica

5 kilogramos de *Portulaca oleracea*, se recolectó, del caserío de Pedregal, distrito de Simbal, (576 m. s. n. m.) provincia de Trujillo, departamento La Libertad, durante el mes de enero del año 2018. (Anexo 9)

Un ejemplar completo de la planta se llevó al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y posterior verificación taxonómica. (Anexo 4)

Preparación de la muestra

Selección: El material vegetal recolectado fue transportado al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se seleccionaron las hojas que estén en buenas condiciones y se eliminaron las sustancias extrañas presentes en la muestra. (Anexo 10)

Lavado y desinfección: Luego se procedió a lavar el material vegetal con agua a chorro, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5%. Posteriormente se realizó un enjuague de la planta con suficiente agua destilada, para retirar los residuos de hipoclorito.²⁵ (Anexo 10).

Preparación del extracto etanólico de *Portulaca oleracea*

1 kilogramo de hojas frescas fueron cortadas en trozos de 1 cm x 1 cm, luego fueron pesados y llevados a licuar con etanol de 96° Gay Lussac (G.L.). Luego se procedió a macerar por siete días, agitándose 15 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo se procedió a filtrar, primero con gasa y luego con una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 2. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico.^{25,26} Luego este extracto fue llevado a secar en una cámara de secado al vacío, a una presión reducida y a una temperatura de 40 °C. A partir del extracto seco, se preparó las concentraciones de 30% (300 mg/ml), 50% (500 mg/ml), 70% (700 mg/ml), 90% (900mg/ml) y 100% (1000 mg/ml) disuelto en etanol de 96° G.L. respectivamente. Finalmente, los extractos etanólicos de *Portulaca oleracea* se guardaron en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.^{25, 26}(ANEXO 11).

Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de *Portulaca oleracea*

A partir del extracto etanólico obtenido se preparó las concentraciones de 30, 50, 70, 90 y 100%.^{25, 26} (Anexo 12 y 13).

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

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubos con 5 ml de Caldo Brain Heart Infusión (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.²⁶

Para evaluar la pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus mutans* para realizar coloración gram.²⁶

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.²⁷ (ANEXO 14).

Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.

La evaluación del efecto antibacteriano se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

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

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C durante 48 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC25175 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 (1.5×10^8 ufc/ml)²⁷ (ANEXO 15).

Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se tomó una alícuota de 100 µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó 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.²⁶ (ANEXO 15).

Preparación de los discos con las concentraciones del extracto etanólico

de *Portulaca oleracea*

Se preparó discos de papel filtro whatman número 3 y se esterilizaron, luego fueron embebidos con 30 µl de cada una de las concentraciones de 30%, 50%, 70%, 90% y 100% del extracto, luego con una pinza estéril fueron colocados los discos sobre las placas de Müeller Hinton (AMHG) inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.²⁶

Se utilizó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo etanol de 70°. ^{26,27}

Incubación:

Se incubó las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos a 37°C durante 48 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak con el método de la vela.²⁷

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinó cada placa, se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco,

se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo - Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6, abarcando el diámetro del halo.²⁷

Se realizó 10 repeticiones de cada ensayo. (ANEXO 16)

Para la interpretar los resultados, se tuvo en cuenta la escala de Duraffourd, el cual evaluó cualitativamente el efecto inhibitorio según el diámetro de inhibición.^{26, 27}

Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.

Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.

Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.

Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

4.5.- Plan de análisis

En el presente trabajo de investigación se utilizaron tablas de resumen de una entrada, para presentar los resultados se utilizó además el análisis de varianza para un diseño completamente al azar, para determinar la efectividad antibacteriana de las diferentes concentraciones, la prueba de comparaciones múltiples de Duncan y ANOVA, estas pruebas estadísticas se utilizaron a un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Los datos fueron presentados en tablas estadísticas para su interpretación y análisis.

4.6 Matriz de consistencia

PROBLEMA	HIPOTESIS	OBJETIVOS	VARIABLES	POBLACION
¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	El extracto etanólico al 100% de <i>Portulaca oleracea</i> tiene mayor efecto antibacteriano que el 90%, 70%, 50%, 30%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar el efecto Antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 30% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ○ Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 50% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. ○ Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 70% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. <p>Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 90% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> al 100% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>. ATCC 25175. 	Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> .	La población estuvo conformada por el conjunto de placas petri sembradas con Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Se trabajó con 10 repeticiones experimentales para cada grupo.

4.7 Principios éticos

En la presente investigación se solicitó ser evaluado el por Comité Institucional de Ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote;²⁸ así como se tuvo en cuenta todos los principios de manipulación de muestras y desechos que se genere de acuerdo con el Manual de Bioseguridad según normas de la Organización Mundial de la Salud,²⁹ reglamento de Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo.³⁰

V.- RESULTADOS

5.1 RESULTADOS

TABLA 1

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo – 2018

Grupos de tratamiento	N	Promedio (mm)	Desv. Estándar	F _(ANOVA)	P
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 30%	1 0	15	0.6 7		
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 50%	1 0	23	0.4 7		
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 70%	1 0	25	0.4 7		
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 90%	1 0	27. 7	0.4 8	3097.0 5	0.000 0
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 100%	1 0	29. 4	0.5 2		
Gluconato de Clorhexidina al 0.12%	1 0	23. 4	0.9 7		
Etanol 70%	1 0	0	0		

Prueba ANOVA.

Nivel de significancia ($p < 0.05$)

Fuente: Proporcionados por el investigador

Interpretación.

Se comprobó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* sobre cepas de *Streptococcus mutans*, dado que todas concentraciones estudiadas presentan un halo mayor a 8 mm.

La prueba ANOVA $p < 0.0000$, indica que existen diferencias entre grupos en el efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

TABLA 2

Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* y grupos de tratamiento sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – Trujillo 2018.

Grupos de tratamiento	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$					
		1	2	3	4	5	6
Etanol 70%	10	0					
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 30%	10		15				
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 50%	10			23			
Gluconato de Clorhexidina al 0.12%	10			23.4			
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 70%	10				25		
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 90%	10					27.7	
Extracto etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> 100%	10						29.4

Test de Duncan

Fuente: Proporcionado por el investigador

Interpretación:

Existe diferencias en el efecto antibacteriano de cada grupo de estudio. El grupo control negativo no presenta efecto. La concentración al 50% y la clorhexidina presentan efecto similar y a su vez ambas presentan mejor efecto que la concentración de 30%.

La concentración al 70% presenta mejor efecto que las concentraciones de 30%, 50% y que la clorhexidina, pero menor efecto que las concentraciones de 90% y 100%. La concentración al 90% presenta mejor efecto que las concentraciones menores y que la clorhexidina, pero menor efecto que la concentración al 100%, la que a su vez presenta el mayor efecto antibacteriano de todos los grupos de estudio.

5.2.-ANALISIS DE RESULTADOS

La *Portulaca oleracea*, es conocida antiguamente por sus propiedades medicinales y cada vez se está utilizando de diversas formas para prevenir los problemas de salud, se utiliza para aliviar dolores diversos, además posee propiedad antibacteriana, antiparasitaria, antiinflamatoria, antiulcerosa, tiene un efecto depurativo, diurética, hipoglucémica, ayuda a reducir los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre, relajante muscular, digestiva, ayuda a regular las funciones intestinales entre otras. También es una planta comestible y se puede consumir de diversas formas como en ensaladas, jugos, extractos, infusiones, etc.³¹

En el presente estudio se determinó que el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* presentó efecto antibacteriano al 30%, 50%, 70%, 90% y 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tal como lo refiere Young M, et al.⁵ En su estudio determinó que el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* (POEE) y el extracto etanólico de *Glechoma heredeacea* (GHEE) tuvieron efectos en la proliferación de *Streptococcus mutans* y en respuestas inflamatorias.

El extracto de *Portulaca oleracea* a concentraciones del 70%, 90%, y 100% posee mayor efecto antibacteriano que el 30% y 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans*, esto indica que a mayor porcentaje hay mayor concentración de sus componentes de apigenina flavonoide y compuestos fenólicos produciendo mayor efecto antibacteriano; Tal como lo refiere Cho Y, et al.¹⁰ quien en su estudio determinó la concentración de compuestos fenólicos totales de los extractos en agua y 80% extractos de etanol de *Portulaca oleracea*

al 20.2% y 38.7%; demostrando altas actividades antibacteriana contra *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus mutans*.

El extracto etanólico en la concentración al 30% presentó un halo 15 mm. siendo muy sensible y la concentración al 50% mostró un halo de 23 mm. siendo sumamente sensible al extracto etanólico en estudio, pero similar efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12%, esta evidencia es importante ya que la clorhexidina es el componente más utilizado y recomendado como gold estándar para la inhibición de bacterias como *Streptococcus mutans*. Así como lo manifiesta Reaño C.⁸ quien en su estudio evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* (verdolaga) y otras plantas a concentración de 10 mg/ml sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*.

El efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en la concentración al 50% tiene igual efecto que la Clorhexidina al 0.12%; la clorhexidina a bajas concentraciones presenta un efecto bacteriostático mientras que a altas concentraciones presenta efecto bactericida frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas aerobias y anaerobias facultativas. Por lo que el extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en la concentración al 50% produce los mismos efectos que la clorhexidina. Así como lo refiere Ercisle S, et al.⁹ en su estudio determinó la actividad antibacteriana de *Portulaca oleracea* contra *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae*, *Vibrio cholerae* y *Yersinia pseudotuberculosis*, mediante el uso de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) y ácido β -caroteno-linoleico y compuestos fenólicos

mostraron un alto efecto antibacteriano; el extracto de *Portulaca oleracea* tienen una potencial actividad antibacteriana contra una cantidad de bacterias debido a su alto contenido fenólico.

Se determinó que el efecto antibacteriano del extracto etanólico en las concentraciones al 70%, 90% y 100% es mayor, al comparar con el control positivo utilizando Clorhexidina al 0.12%, y control negativo etanol al 70%, tal como lo manifiesta Hanumantappa B, et al.⁷ en su estudio demostró la actividad antibacteriana de *Portulaca oleracea* sobre cinco cepas bacterianas patógenas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*, Se encontró que la concentración mínima de inhibición (MIC) para el flavonoide para todas las cepas bacterianas analizadas era > 4 mg por ml. Por lo tanto, la apigenina tiene propiedades antibacterianas y puede usarse para desarrollar fármacos antibacterianos, el cual se confirma su efecto antibacteriano en este estudio.

El extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en sus diferentes concentraciones presentaron efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Tal como lo manifiesta Moncayo C.⁶ demostró en su estudio la actividad antibacteriana del extracto de *Portulaca oleracea*, el extracto en metanol de las hojas 2000 µg/ml mostraron actividad antibacteriana en *Echericha coli*, mientras que a la misma concentración del extracto en metanol de la planta total mostró actividad antibacteriana en *Streptococcus aureus*, por lo que el extracto de *Portulaca oleracea* tendrían un amplio espectro de acción para ser utilizado como bactericida natural. Este estudio ha demostrado una vez más que esta planta presenta alto efecto bactericida frente a diversos tipos de bacterias Gram

positivas y Gram negativas.

Los efectos positivos de esta planta en diferentes concentraciones podría deberse a su composición fitoquímica de apigenina, flavonoide y compuestos fenólicos donde su mecanismo de acción es la destrucción de la membrana celular bacteriana, afectando la estabilidad estructural y desestabilizando la bicapa lipídica produciendo la muerte de la bacteria.³² Este estudio de investigación determinó el efecto antibacteriano de *Portulaca oleracea* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 debido a su acción terapéutica y compuestos fenólicos.³²

Los resultados obtenidos en el presente estudio demostró el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, a pesar de no existir mucha información sobre dicha planta; este estudio puede servir como base para que posteriormente se puedan seguir investigaciones y así poder corroborar la efectividad y beneficios de *Portulaca oleracea*.

VI.- CONCLUSIONES:

1. Se determinó que las concentraciones al 30%, 50%,70%, 90% y 100% del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* poseen efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175,
2. Las concentraciones del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* al 70%, 90% y 100% presentaron mayor efecto que la Clorhexidina al 0.12%
3. Se determinó que la concentración del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* al 30%, presentó menor efecto que la clorhexidina al 0.12%.
4. La concentración del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* al 50% presentó similar efecto que la clorhexidina al 0.12%.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:

- 1.** Realizar nuevos estudios para demostrar la propiedad de las plantas naturales, así como se obtengan un respaldo de la ciencia y tecnología para ser utilizados como una alternativa de tratamiento.
- 2.** Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* como enjuagatorio bucal.
- 3.** Determinar la concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Espinoza M, León R. Prevalencia y experiencia de Caries dental en estudiantes según Facultades de una Universidad particular peruana. Rev. Estomatol Herediana. [Internet] 2015; [Citado el 15 de setiembre del 2018]; vol. 25(3):187-193. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S101943552015000300003&script=sci_arttext&tlng=en
2. Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la caries dental en niños y niñas, Ministerio de Salud. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública Ministerio de Salud. [Internet] 2017.[Citado el 05 de Agosto del 2018]. Disponible en:
<http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4195.pdf>
3. Ojeda J, Oviedo E. Salas L. Streptococcus mutans y caries dental, Rev. CES Odon. [Internet] 2013. [Citado 15 de Mayo del 2018]. vol.26.(01) Disponible en:http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120971X2013000100005.
4. Nuez F. Hernández J. Ortículas Marginadas. Departamento de Biotecnología y jardín Botánico. [Internet] 1988. [Citado junio del 2018]Vol.(01).
Disponible en:
http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro09/Cap5-4.htm#auto
5. Young M, Young R, Shan H, Bong G, Yeon J, Hong G. Min W,et al. Inhibitory Effects of Portulaca Oleracea Ethanol Extract and Glechoma; Hederacea Ethanol

Extract on the Periodontitis. Rev. fisio. patolg. korea 2015.Vol.29(01): 46-50.

Disponible en:

<http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201508449473777.page>

6. Moncayo C. Ácidos Grasos, Actividad Antioxidante y Antibacterial en Extractos De Verdolaga (*Portulaca oleracea*) [Tesis]; Ecuador. Pontificia Universidad Católica Del Ecuador. 2015 Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/9641>
7. Hanumantappa B, et al. Antibacterial Attributes of Apigenin, Isolated from *Portulaca oleracea*. Rev. Inter. Bact. India 2014; Vol.2014.(1-8) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745481/>
8. Reaño C. Actividad Antibacterian In Vitro de los Extractos etanolicos de *Aloysia triphylla* “Cedron”, *Rosmarinus officinalis* “Romero”, *Mentha spicata* “hierba buena” *Portulaca Oleracea*”Verdolaga” y *taraxacum officinale* “ diente de Leon” [Tesis] Trujillo.2014 Universidad Nacional de Trujillo. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4801>
9. Ercisli, S. Coruh I, Gormez A, Sengul M. Actividades antioxidantes y antibacterianas de *Portulaca oleracea*. crecido en la selva de Turquía. Rev. Ital. de ciencia. 2008. Vol.20 (4):533-542 Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Irfan_Coruh/publication/269688138_Antioxidant_and_antibacterial_activities_of_portulaca_oleracea_l_grown_wild_in_Turkey/links/549169c30cf222ada858a67e.pdf
10. Cho Y, Ju I, Kwon O, Chun S, An B. Kim J. Biological And Antimicrobial Activity of *Portulaca Oleracea*. Rev. Korea Science. 2008; Vol.51 (1): 49-54. Disponible en: <http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200817663909160.page>

- 11.** Iguarán I. Factores biológicos asociados a la caries dental; [Tesis] Guayaquil, Universidad de Guayaquil. 2012. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/2766/1/FACTORES%20BIOLOGICOS%20ASOCIADOS%20A%20LA%20CARIES%20DENTAL.pdf>.
- 12.** Rosenberg S , Kumar S y Williams N; Trastorno por déficit de atención / hiperactividad y caries dentales en niños; Rev. de Lit. 2014; 88 (6) 342-347; Disponible en: <https://jdh.adha.org/content/jdenthyg/88/6/342.full.pdf>
- 13.** Gamboa F. Identificación y Caracterización. Microbiológica, Fenotípica y Genotípica del Streptococcus mutans: experiencia de investigación. Universidad Odontológica. 2014. 33(71):65-73 Disponible en: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/14228>
- 14.** Pedraza D; Hernandez Y. Diseño y Valoración de un Medio de Cultivo (Sulbac) para Streptococcus Mutans. [Tesis] Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. 2006. Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis162.pdf>
- 15.** Romero A; Romero A; Adherencia del Streptococcus Mutans en Dientes Permanentes Humanos Sometidos a dos Agentes Blanqueadores. Rev. Kiru 2009, Vol. 6(1): 39-45. Disponible en: <https://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2009/Kiru2009v6n1/Kiru2009v6n1art6.pdf>
- 16.** Zaens S, Monroy R; Cariño R ; Hernández A; Jiménez R- Caracterización fisicoquímica y propiedades antioxidantes de verdolaga (Portulaca oleracea) de

alto consumo en el estado de Hidalgo, [Internet] 2018. [Citado el 10 de Octubre del 2018] Vol. (3); 210-215.

Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/3/36.pdf>

17. Noticias Mallorca.es. [Rev. en Línea] 2016. [visitado el Sábado 6 de Julio del 2019] a la 10:13. Disponible en:

<https://www.noticiasmallorca.es/noticias/Cultura/2016/01/23/49543-5279009.php>

18. Guzmán L., García V., Cuesta O, Jaramillo C., Ramón G. Composición química y actividad antiinflamatoria de extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga) Rev. Cub. Far. 2017. Vol. 51.(1). Disponible en:

<http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/185/78>

19. Revista Botánica Online. [Internet] 2019. [Visitado el 12 de Julio del 2018].

Disponible en: <https://www.botanical-online.com/alimentos/verdolaga-toxicidad>

20. Manterola C, Quiroz G, Salazar P, García N. Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica, Rev.Med. Clin. Condes. 2019 [Citado el 15 de Junio del 2019]. Vol. 30 (1): 36-49. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864019300057>

21. Pesantes S. Efecto antibacteriano de In Vitro del Extraracto etanólico de Plantago major en diferentes concentraciones sobre Porpiromonas Gingivalis, [Tesis] 2018. Universidad Nacional de Trujillo. [Citado el 20 de Mayo del 2018.] Disponible en:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0716864019300057?token=4FA7399C97D6EAA94D6F6DBD1909D615F408A9343C50DE35083D9CD726E82D1E1846343C1731F90C523A5626607B1FD7>.

22. Rocha R. Efecto Antibacteriano in Vitro del Aceite del Rosmarinus Officinalis (Romero) Sobre *Streptococcus mutans*. [Tesis] Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2016 [Visitado el 12 de mayo del 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7525/PROTEJIDO%20%20TESIS%20RAQUEL%20ROCHA%20MORALES.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
23. García S. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Aceite Esencial de *Pelargonium Hortorum* Sobre La Cepas De *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Tesis] Trujillo. Universidad Privada Antenor Orrego. 2015. Diponible en: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1309/1/GARC%C3%8DA_S_ANDRA_IN%20CITRO_ACEITE_ESENCIAL.pdf
24. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Rev. Cielo. 2016;. Vol.77 (4) Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102555832016000400002
25. López N. Obtención y aplicación de extractos naturales. Centro nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria.[internet] 2011.[Citado el 22 de Setiembre del 2018]: Disponible en: <http://www.anfaco.es/fotos/biblioteca/docs/congresos/transferencia2011.pdf>

- 26.** Abanto M. Efecto Antibacteriano de *Carsalpiña espinosa*(TARA) Sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.[Tesis] Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Estomatología. 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1130/ABANTO%20VILCA%20MAGALY.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 27.** Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI Rev. Clinical and Laboratory Standards Institute. [Internet]. 2019.[citado el 08 de Julio del 2019] Vol. 39 (1):1-44.
Disponible en: https://clsi.org/media/2663/m100ed29_sample.pdf
- 28.** Reglamento Del Comité Institucional De Ética En Investigación (CIEI) ULADECH [Internet].Trujillo. 2018 [Visitado el 02 de Mayo del 2019] .
Disponible en:<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2018/reglamento-comite-etica-v002.pdf>
- 29.** Manual de bioseguridad en laboratorios según normas de la Organización Mundial de la salud. [Internet] 2005. [Visitado el 04 de Abril del 2019] 3° Edición. Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf.
- 30.** Mendoza M. Bioseguridad y Señalización en el Laboratorio Universidad Nacional De Trujillo Facultad De Ciencias Biológicas Escuela De Microbiología y Parasitología. [Internet][Visitado el 08de Mayo del 2018.] Disponible en: https://www.academia.edu/11346648/Universidad_Nacional_De_Trujillo_Fa

cultad_De_Ciencias_Biologicas_Escuela_De_Microbiologia_Y_Parasitologia_
Bioseguridad_Y_Se%91alizaci%93n_En_El_Laboratorio.

- 31.** Tapia L. Larrucea R. Posibilidades de cultivo y aprovechamiento *Portulaca oleracea* L. Rev. Arxius [Internet] 1983. 1° Esc. Sup. de Agricultura. [Visitado el 22 de Mayo de 2019].Vol.5(4):67-79.Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/handle/2099/8438?locale-attribute=es>
- 32.** Guzmán L. Composición química y actividad antiinflamatoria de extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga). Rev. Cub. Far.[Internet]2017. [Visitado el 15 de Mayo del 2018] Vol. 51.(1). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/185/78>

ANEXOS

ANEXO 1

Vernier digital marca Mitutoyo, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



ANEXO 2

Ficha de recolección de datos

Diámetro del halo de inhibición de crecimiento (mm)							
Repeticiones	Concentración del extracto etanólico					Control es	
	30%	50 %	70 %	90 %	100%	(C+) Gluconato de Clorhexidina 0.12 %	(C-) Etanol al 70%
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
Promedio							
Prueba de Shapiro - whilk							

ANEXO 3

Efecto antibacteriano del extracto etánico de *Portulaca oleracea* sobre Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Prueba de Normalidad.

Diámetro del halo de inhibición de crecimiento (mm)							
Repeticiones	Concentración del etánico de <i>Portulaca oleracea</i>					Control es	
	30 %	50 %	70 %	90 %	100 %	(C+) Gluconato de Clorhexidina 0.12 %	(C-) Etanol al 70%
1	15	23	25	28	29	24	0
2	15	23	25	28	29	24	0
3	14	22	25	28	29	24	0
4	16	23	25	28	30	22	0
5	15	23	24	28	30	24	0
6	16	23	25	27	29	24	0
7	15	23	25	28	29	24	0
8	15	23	25	27	29	24	0
9	15	24	25	28	30	22	0
10	14	23	26	27	30	22	0
Promedio	15	23	25	27.7	29.4	23.4	0
Prueba de Shapiro – whilk	P= 0.9916 Normal	P= 0.7844 Normal	P= 0.3295 Normal	P= 0.3151 Normal	P=0.745 Normal	P= 0.6759 Normal	

Fuente: Proporcionados por el investigador

Interpretación. Los resultados obtenidos mediante la prueba de Shapiro Whilk nos indican que los resultados son normales para cada tipo de concentración.

ANEXO 4

Constancia de taxonomía de *Portulaca oleracea*

 **Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú

Constancia N° 047 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

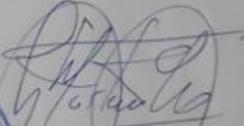
Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Superorden: Caryophyllanae
- Orden: Caryophyllales
- Familia: Portulacaceae
- Género: *Portulaca*
- Especie: *P. oleracea* L.

Muestra alcanzada a este despacho por CEVERINO LOYOLA ALEJANDRO CASTILLO, identificado con DNI N° 19693595, con domicilio legal Int. Sector 8 Santa Verónica Mz. 14 Lote 16 – La Esperanza; estudiante de la Escuela de Odontología, Facultad de Ciencia de la Salud, de La Universidad Católica Los Angeles de Chimbote; cuya determinación taxonómica servirá para el proyecto tesis titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Portulaca oleracea* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATC 25175".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 16 de enero del 2018


Dr. JOSE MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

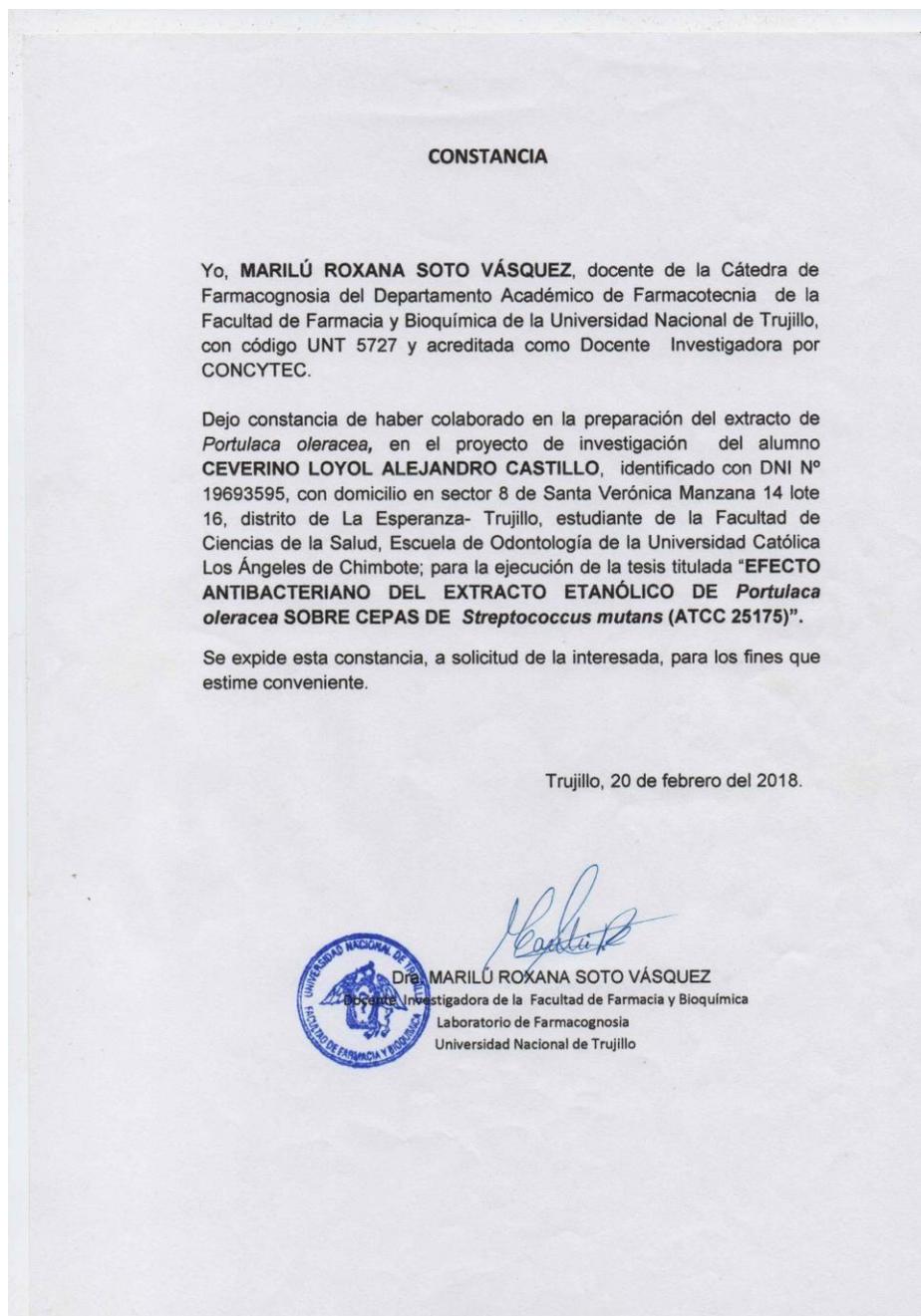


cc. Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

ANEXO 5

Constancia de apoyo y colaboración de Marilú Roxana Soto Vásquez, docente académico de la Facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo en la ejecución del estudio de investigación.



ANEXO 6

Constancia de apoyo y colaboración de Manuela Natividad Luján Velásquez, Bióloga–
Microbióloga en la ejecución del estudio de investigación.



ANEXO 7

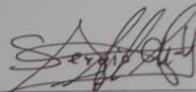
Constancia de Sergio A. Chafloque Viteri Lic. En Estadística, apoyo en la parte estadística y procesamiento de datos en la ejecución del estudio de investigación.

CONSTANCIA DE PROCESAMIENTO DE DATOS

El que suscribe hace constar que con la información proporcionada por el Tesista **CEVERINO LOYOLA ALEJANDRO CASTILLO**, sobre su investigación titulada **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PORTULACA OLERACEA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175"**; se procesó la información de acuerdo a sus objetivos planteados en su proyecto de investigación, utilizando la metodología pertinente acorde a su esquema metodológico y teniendo en cuenta la naturaleza de la información proporcionada.

Se remite la siguiente constancia a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Atentamente.



Sergio A. Chafloque Viteri
Lic. En Estadística

ANEXO 8

Cotización y compra de la Cepa liofilizada de Streptococcus mutans para la ejecución del estudio de investigación.



GenLab
del Perú SAC
Tecnologías para la Vida

COTIZACION GL - 18 / 025700

FECHA: Viernes, 19 de Enero del 2018

CLIENTE: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE
ATENCION: cevale@hotmail.com

REFERENCIA: MATERIALES DE LABORATORIO

PRECIO: NUEVOS SOLES
ENTREGA: **A 30 DIAS**

VALIDEZ PAGO: 7 DIAS
DEPOSITO ADELANTADO

CODIGO	PRODUCTO	PRECIO UNITARIO S/.	CANT	PRECIO TOTAL S/.
H05666-A	Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™ COD MICROBIOLOGICS: 0266P	288.67	1	288.67
La cotización incluye gastos de envío				
SUB TOTAL				288.67
I.G.V. (18%) DE LEY				51.96
TOTAL				340.63

Bigo. Gino Angello Saavedra Cotrina
Asesor Comercial
correo: gsaavedra@genlabperu.com

KWIK-STIK: Pack de 2 cepas liofilizadas no mayor al 4to. pasaje + Certificado de Análisis.
Producto sujeto a disponibilidad del proveedor y a la política de fechas de expira de Microbiologics.

Realice el pago con cheque a nombre de GEN LAB DEL PERU S.A.C., en caso de Deposito Bancario, realice el abono en nuestra Cuenta Bancaria:
Banco Continental - Soles 0011-0139-0100024183-34 ó Banco BCP - Soles 193-1440607-0-84
CCI Continental - Soles 011-139-000100024183-34 ó CCI Banco BCP - Soles 002-193-001440607084-18

Jr. Capac Yupanqui Nº 2434 - (Alt. Cdra. 8 Av. 2 de Mayo) - Lince - Lima 14 PERU Telf.: 2037500 / 2037504
TeleFax: (51-1) 2037501 e-mail: ventas@genlabperu.com

ANEXO 9

Recolección.

RECOLECCION Y TAXONOMIA DE *Portulaca oleracea*



Recolección de *Portulaca oleracea* del caserío de Pedregal, distrito de Simbal, provincia de Trujillo.

PREPARACION DE LA MUESTRA



Selección de las hojas de *Portulaca oleracea* que están en buenas condiciones para el procesamiento.

ANEXO 10

LAVADO Y DESINFECCION



Realizando el lavado del material vegetal con agua potable para eliminar los residuos de tierra y otras sustancias contaminantes.



Para la desinfección se sumergió las hojas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 %.en (1 litro de agua y 5 ml de hipoclorito). Posteriormente se enjuagó con agua destilada.

ANEXO 11

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Portulaca oleracea*



Se pesó las hojas frescas de *Portulaca oleracea* cortadas en trozos para determinar la cantidad adecuada a utilizar para el extracto etanolico.



Realizando el licuado en fresco en fresco adicionando 100 ml de etanol de 96 ° para la obtención de del extracto de *Portulaca oleracea*.



Almacenamiento del producto licuado de *Portulaca oleracea* en los frascos color ámbar para su maceración por 7 días.



El producto obtenido del licuado de *Portulaca oleracea* es llenado en frascos y puesto a macerar en etanol de 96° por un periodo de 7 días.

ANEJO 12

FILTRADO DEL EXTRACTO DE *Portulaca oleracea*



Realizando el filtrado manual de extracto de *Portulaca oleracea* utilizando un filtro de tela para eliminar las partículas de desecho y obtener la el extracto más puro.



Realizando el filtrado final con bomba al vacío y papel filtro para retener las partículas de desecho tras haber realizado el filtrado manual.

ANEXO 13

OBTENCION DEL EXTRACTO



Eliminando el solvente del extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en el equipo de rotavapor.



Se obtiene el producto final del Extracto etanólico de *Portulaca oleracea* en las concentraciones del .30%,50%,70%,90% y 100%, rotulado y etiquetado.

ANEXO 14

ENFRENTAMIENTO MICROBIOLÓGICO (FOTOS REFERENCIALES)

REACTIVACIÓN DE LA CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Abriendo el sobre sellado de la cepa liofilizada del *Streptococcus mutans* para su reactivación.



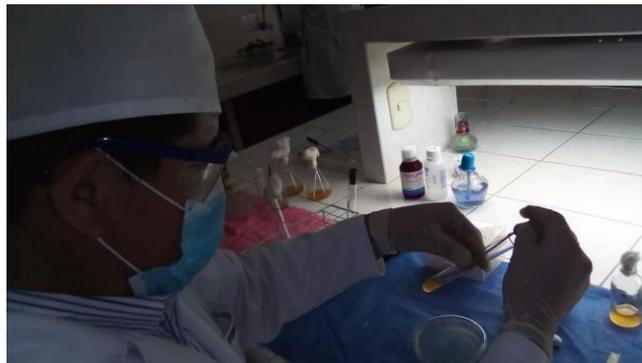
Descubriendo el contenido del sobre y la cepa Liofilizada del *Streptococcus mutans*.



Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión.



Sembrando el cultivo liofilizado en Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión.



Eligiendo una colonia compatible con *Streptococcus mutans* para el sembrado en la placa Petri.

ANEXO 15

INOCULACIÓN DE LAS PLACAS



Realizando el sembrado de la bacteria *Streptococcus mutans* en la placa Petri en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA).

PREPARACIÓN DE LOS DISCOS CON LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO ETÁNOLICO



Se colocó los discos sobre las placas de Mueller Hinton



Se tomó una alícuota de 100 μ l y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton.



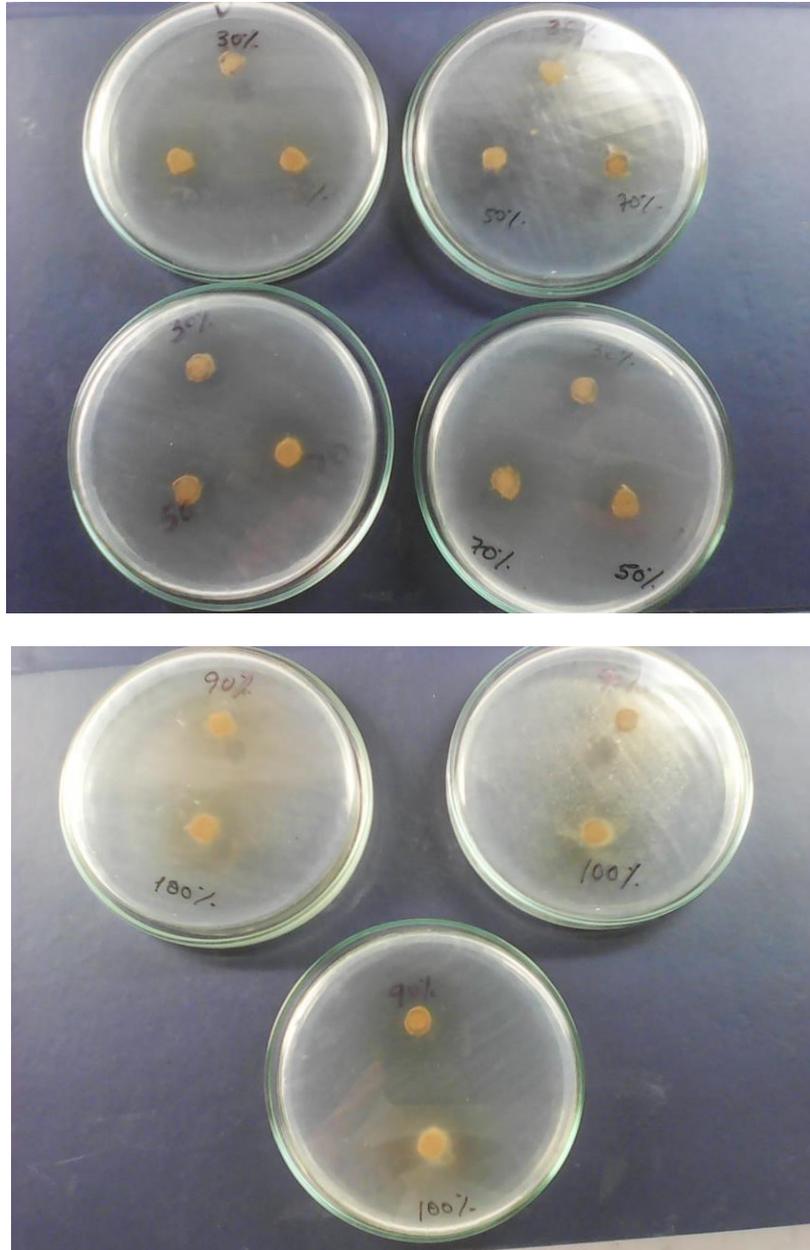
Tomando con una alícuota 30 μ l de cada una de las concentraciones de 30%, 50%, 70%, 90% y 100 % del extracto etanólico.



Colocando 30 μ l de cada una de las concentraciones de 30%, 50%, 70%, 90% y 100 % del extracto etanólico.

ANEXO 16

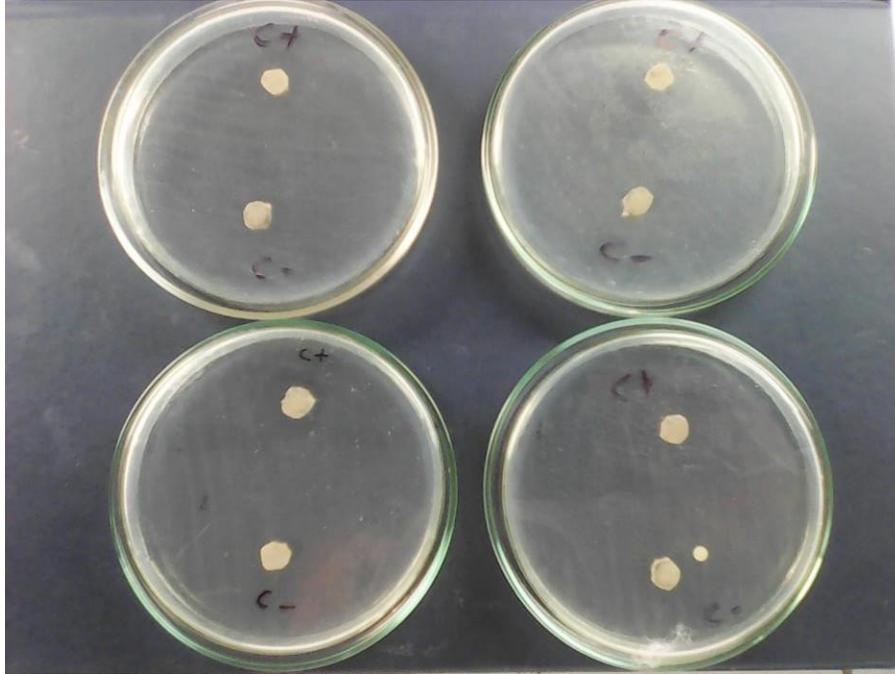
LECTURA DE RESULTADOS



Después de la incubación en 48 horas, se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco en las concentraciones de 30%, 50%, 70%, 90% y 100 en 10 repeticiones.

ANEXO 17

PLACAS DE CONTROL



Placas de control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo etanol de 70°.

ANEXO 18

Efecto antibacteriano del extracto etánolico de *Portulaca oleracea* sobre Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer.

Diámetro del halo de inhibición de crecimiento (mm)							
Repeticiones	Concentración del etánolico de <i>Portulaca oleracea</i>					Control es	
	30 %	50 %	70 %	90 %	100 %	(C+) Gluconato de Clorhexidina 0.12 %	(C-) Etanol al 70%
1	1 5	2 3	25	28	29	24	0
2	1 5	2 3	25	28	29	24	0
3	1 4	2 2	25	28	29	24	0
4	1 6	2 3	25	28	30	22	0
5	1 5	2 3	24	28	30	24	0
6	1 6	2 3	25	27	29	24	0
7	1 5	2 3	25	28	29	24	0
8	1 5	2 3	25	27	29	24	0
9	1 5	2 4	25	28	30	22	0
10	1 4	2 3	26	27	30	22	0

C + =Gluconato de clorhexidina al 0.12%

C- = Etanol 70%

ANEXO 19

Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk

Grupos Experimentales	Estadístico	gl	p
Extracto etanólico de Portulaca oleracea 30%	0.9870	10	0.9916
Extracto etanólico de Portulaca oleracea 50%	0.9599	10	0.7844
Extracto etanólico de Portulaca oleracea 70%	0.9188	10	0.3295
Extracto etanólico de Portulaca oleracea 90%	0.9147	10	0.3151
Extracto etanólico de Portulaca oleracea 100%	0.9564	10	0.7445
Gluconato de Clorhexidina al 0.12%	0.9412	10	0.6759

Al tener los datos por cada extracto y control, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la normalidad de los mismos, se observa una distribución normal para todos los datos.