



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE

ODONTOLOGÍA

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO

HIDROETÁNOLICO DE *Foeniculum vulgare* (HINOJO)

FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175,

TRUJILLO - 2018

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

CIRUJANO DENTISTA

AUTORA:

PULIDO CÓDOVA KAREN PAMELA

ORCID:0000-0002-9745-1320

ASESOR:

MORALES GUEVARA CLAUDIA CRISTINA

ORCID:0000-0001-5891-3003

TRUJILLO – PERÚ

2020

1. TITULO:

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETÁNOLICO DE *Foeniculum vulgare* (HINOJO)
FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC
25175, TRUJILLO - 2018**

2. Equipo de trabajo

AUTOR:

Pulido Córdova Karen Pamela

ORCID:0000-0002-9745-1320

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

ASESOR:

Mgtr. MORALES GUEVARA CLAUDIA CRISTINA

ORCID ID: 0000-0001-5891-3003

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

JURADO EVALUADOR

Mgtr. PARAIZAMAN GARCÍA JUAN LUIS
Presidente

ORCID ID: 0000-0001-8922-8009

Mgtr. MORÓN CABRERA EDWAR RICHARD

MIEMBRO

ORCID ID:0000-0002-4666-8810

Dra. VELASQUEZ VENEROS CINTHYA KARINA

MIEMBRO

ORCID ID: 0000-0001-5756-7137

Presidente

Mgtr. PAIRAZAMAN GARCIA JUAN LUIS

Miembro

Dra. VELASQUEZ VENEROS CYNTHIA KARINA

Miembro

Mgtr. MORON CABRERA EDWAR RICHARD

ASESOR:

Mgtr. MORALES GUEVARA CLAUDIA CRISTINA

4. AGRADECIMIENTO

A mi madre por su
Comprensión y apoyo para
el logro de mis metas.

5. DEDICATORIA

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

6. RESUMEN

En este estudio se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se prepararon extracto de *Foeniculum vulgare* a concentraciones de 25%; 50% y 75%. La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se reactivaron en Caldo Cerebro Corazón. La evaluación del efecto antibacteriano se realizó mediante 10 repeticiones por concentración usando método Kirby Bauer, de difusión en agar, utilizando discos de papel filtro colocados en placas conteniendo Agar Mueller Hinton inoculadas con *Streptococcus mutans*. Se emplearon como control positivo a digluconato de clorhexidina al 0,12% y como control negativo a etanol al 70%. Se midieron los diámetros en (mm) los halos de inhibición alrededor de cada disco utilizando una regla milimetrada vernier digital. El diámetro promedio fue de 11,38mm al 25%; al 50% el diámetro promedio fue de 14.33mm y de 20.00mm al 75% para Hinojo, en cuanto a la clorhexidina al 0,12% el diámetro promedio fue de 25,57mm, y para etanol al 70% el diámetro promedio fue de 8,60mm. La prueba *Kruskal-Wallis* mostró que existe diferencia estadística significativa entre las concentraciones de los extractos. En conclusión el extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* al 75% presentó mayor efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: Antibacteriano ; Clorhexidina; Hinojo; Streptococcus; Foeniculum vulgare

7. ABSTRACT

In this study, the antibacterial effect of the hydroethanolic extract of *Foeniculum vulgare* against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was compared. *Foeniculum vulgare* extract was prepared at concentrations of 25%; 50% and 75%. The strain of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was reactivated in Brain Heart Broth. The evaluation of the antibacterial effect was carried out by means of 10 repetitions by concentration using the Kirby Bauer method, of diffusion in agar, using discs of filter paper placed in plates containing Mueller Hinton Agar inoculated with *Streptococcus mutans*. They were used as a positive control to 0.12% chlorhexidine digluconate and as a negative control to 70% ethanol. The diameters in (mm) the inhibition zones around each disc were measured using a digital vernier millimeter rule. The average diameter was 11.38mm at 25%; at 50% the average diameter was 14.33mm and from 20.00mm to 75% for Fennel, for chlorhexidine at 0.12% the average diameter was 25.57mm, and for ethanol at 70% the average diameter was 8.60mm . The Kruskal-Wallis test showed that there is a statistically significant difference between the concentrations of the extracts. In conclusion, the 75% *Foeniculum Vulgare* hydroethanolic extract had a greater antibacterial effect against the *Streptococcus Mutans*.

Keywords: Antibacterial; Chlorhexidine; Fennel; Streptococcus; Foeniculum vulgare

8. CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de agradecimiento.....	v
5. Resumen y Abstract.....	vii
8. Contenido	ix
9. Índice de tablas	x
10. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	xi
I. Introducción	12
II. Revisión de literatura	14
III. Hipótesis	21
IV. Metodología	28
4.1. Diseño de la investigación.....	29
4.2. Población y muestra	29
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores ...	31
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	32
4.5. Plan de análisis	36
4.6. Matriz de consistencia.....	38
4.7. Principios éticos	39
V. Resultados	40
5.1 Resultados	40
5.2. Análisis de Resultados	42
VI. Conclusiones	44
Aspectos complementarios.....	45
Referencias Bibliográficas	46
Anexos.....	50

9. Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Foeniculum Vulgare</i> (Hinojo) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	40
Tabla 2: Subgrupos del efecto antimicrobiano, entre los extractos hidroetanólicos de <i>Foeniculum Vulgare</i> (Hinojo) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	41
Tabla 3: Prueba de normalidad	70

11. Índice de gráficos

Gráfico 1: Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de <i>Foeniculum Vulgare</i> (Hinojo) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	73
---	----

I. Introducción

INTRODUCCIÓN

Una de las patologías orales con más prevalencia en la salud pública es la caries dental oral, porque afecta a casi toda la población sin importar edad y sexo. Entre los principales agentes etiológicos implicados en el proceso fisiopatológico de esta afección humana se encuentra esta especie, *Streptococcus mutans*, un anaerobio Gram positivo que debido a sus características y propiedades acidogénicas; permite desarrollo de bacterias comensales y oportunistas que agravan la enfermedad conllevándolo a un proceso infeccioso más complejo .¹

Las especies *Streptococcus mutans* son patógenos oportunistas y se insertan en el grupo de microorganismos resistentes de la cavidad oral y el aumento en la prevalencia de cepas resistentes a múltiples antibióticos sintéticos. Desencadena la búsqueda de nuevas estrategias para combatir la infección.¹

Las plantas, los frutos, y los productos que nos da la naturaleza son una buena opción, para combatir enfermedades, se ha demostrado que tienen compuestos con actividad antimicrobiana y que pueden combatir a los microorganismos multirresistentes que hay actualmente, debido al uso excesivo de antibióticos. La evaluación de plantas para su uso en Odontología ha sido alentada por el crecimiento mundial de la fitoterapia en programas preventivos y curativos dado que son más asequibles para la población y

los servicios de salud pública y presentan menor toxicidad y mayor actividad farmacológica y biocompatibilidad.²

La especie *Foeniculum vulgare* es única en su género *Foeniculum* es considerada una planta con propiedades farmacológicas. Su aceite se utiliza principalmente como un agente aromatizante en productos alimenticios como pan, encurtidos y queso. Además, tiene dentro de sus propiedades efectos antiinflamatorios, antioxidantes hepatoprotectores y actividad antibacteriana.³

La investigación sobre el *Foeniculum vulgare* en el área de la Odontología son escasas es por ello que este estudio tiene como propósito determinar el efecto antibacteriano, del extracto hidroetánolico de *Foeniculum vulgare* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Golestannejad Z.³ et al. (Irán, 2017). Comparación de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Foeniculum vulgare* Mill, *Mentha arvensis* y *Mentha piperita* contra *Streptococcus mutans*, el objetivo fue comparar el efecto inhibitorio de tres aceites esenciales a base de *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* y *Foeniculum vulgare* Mill contra *Streptococcus mutans*, a concentraciones de 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 y 100 µg / µl y teniendo como control negativo a agua. Se realizaron 3 repeticiones para cada una, valiéndose del método de difusión de disco. Los resultados mostraron que los tres aceites esenciales tuvieron actividad antibacteriana contra *S. mutans*. Con una concentración constante de 100 µg / µl, la eficiencia de *Foeniculum vulgare* fue mayor a las (24, 48 y 72 h), se midió el halo de inhibición para comprobar su acción, se demostró que el aceite a base de *Foeniculum vulgare* produce un halo de inhibición mayor a de los demás aceites del tamaño de $11.06 \pm 0.7c$. Concluyendo que *Foeniculum vulgare* presenta mayor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*.

Wiwattanarattanabut K.⁴ et al. (Colombia, 2017). Efectos in vitro de la placa anti-cariogénica de aceites esenciales extraídos de hierbas culinarias, el objetivo de examinar los efectos antimicrobianos y antiplaca de algunas hierbas culinarias (especies), para que las hierbas se usen plausiblemente como suplementos alternativos y eficaces para el control de la placa de hierbas para promover la buena salud bucal. A concentración del 20% frente a *Streptococcus. mutans* KPSK2 y comparándolo con el control positivo de clorhexidina al 0,2%. Se realizaron 3 repeticiones valiéndose del método de difusión en disco, tras 24 horas se midió el halo de inhibición para comprobar su acción. se demostró que el aceite esencial de *Foeniculum vulgare*

produjo un halo de inhibición de 9.17 ± 0.75 . Se Concluye que *Foeniculum vulgare* tiene actividad antibacteriana contra *S. mutans* KPSK2.

Michelon C.⁵ et al. (Brazil, 2016), Extractos de plantas de uso popular contra infecciones orales, con el objetivo de evaluar el efecto inhibitorio de cinco extractos de plantas medicinales contra *Streptococcus mutans* y *E. faecalis*. Se realizó este estudio experimental mediante la realización de cinco extractos hidroetanólicos de *Artemisia absinthium*, *Laurus nobilis*, *Bidens pilosa*, *Achillea millefolium* L y *Foeniculum vulgare*, al 5%, 10%, 15%, 20% que se aplicaron mediante discos de difusión en medio de cultivo agar Mueller Hinton, con cultivos de *S. mutans* y *E. faecalis*. Los resultados fueron comparados con un grupo control de clorhexidina 0,12%. Los resultados demostraron que no hubo inhibición de la cepa de *E. faecalis* en cualquiera de los cultivos, pero si hubo efecto inhibitorio por parte de *absinthium Artemisia*, *Laurus nobilis* y *Bidens pilosa* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en las concentraciones ensayadas. Se concluye que los extractos de plantas de uso popular investigado no mostró efecto antimicrobiano en *E. faecalis*, sin embargo, pero si frente al desarrollo de *Streptococcus mutans*, con un halo de 12mm en la concentración al 20%.

Chavan S.⁶ et al. (Ecuador, 2015), Efecto de extractos acuosos de diferentes plantas medicinales sobre el control de *Streptococcus mutans* donde el objetivo fue evaluar el efecto inhibitorio de diferentes extractos acuosos de plantas con efecto medicinal sobre el control de desarrollo de *Streptococcus mutans* en condiciones de laboratorio. Se realizó un extracto acuoso de plantas medicinales que fueron probados en discos de difusión antibiótica en concentración de 5 µg/ml sobre placas de agar Müller Hinton que tenían cepas de *Streptococcus mutans* y fueron comprobados con un grupo control,

a base de metanol. Las placas se incubaron a 37°C tras 24 horas, todas las pruebas se repitieron en triplicado, se nota la actividad antibacteriana. Sobre la base del diámetro de la zona de inhibición. Se concluye que el extracto de *Foeniculum vulgare* presenta acción antibacteriana con un promedio de 00.70mm.

Mithun B.⁷ et al. (India, 2010), Eficacia antifúngica de *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* y *Foeniculum vulgare* en *Candida albicans*, el objetivo fue evaluar la eficacia antifúngica de *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* y *Foeniculum vulgare* sobre el desarrollo de *Candida albicans*. Se realizaron 4 repeticiones valiéndose del método de difusión en disco, tras 24 y 48 horas se midió los halos de inhibición para comprobar su acción. Dando como resultado que *Foeniculum vulgare* produjo una media de 2.5mm. Concluyendo que todos los extractos presentaron actividad antibacteriana frente a *Candida albicans*.

Castañeda P.⁸ et al. (Perù, 2016), Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare mill* sobre CEPA *Candida albicans* ATCC 10804 in vitro, el objetivo fue evaluar el efecto inhibitorio de la semilla de *Foeniculum vulgare Mill*. “hinojo” sobre el desarrollo de *Candida albicans*. Se realizó cuatro extractos etanólicos en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y teniendo como control a Fluconazol. Se realizó a prueba de sensibilidad antibiótica con discos de difusión en medio de agar Müller Hinton con colonias de *Candida albicans*. Los resultados demostraron que había efecto inhibitorio en las 5 concentraciones y que a mayor concentración había mayor efecto inhibitorio. Los tamaños de halos de inhibición al 25% fue de un promedio de 8,45mm; al 50% fue de un promedio de 10,82mm; al 75% fue de un promedio de 12,73mm y al 100% fue de un promedio de 19,45mm y como control fue fluconazol con un promedio de 00.00mm. Concluyendo que el extracto

etanólico de semillas de *Foeniculum vulgare* a dichas concentraciones presento efecto antifúngico in vitro para eliminar *Candida albicans* ATCC 10804.

Baca L, Yábar A (Perù, 2016)⁹Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de: *Foeniculum vulgare* (hinojo), *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), *Origanum vulgare* (oregano), *Citrus aurantifolia* Swingle (limón) y *Citrus sinensis* (naranja), frente a cepas estandarizadas de *Streptococcus mutans*, Cusco 2016 con el objetivo de determinar el efecto inhibitorio de *Foeniculum vulgare* (hinojo) sobre *Streptococcus mutans*. Se realizó un aceite a concentración de 100% y fue comparado con un control positivo de Clorhexidina al 0,12%. Se realizaron 3 repeticiones valiéndose del método de difusión de disco, tras 24 horas se midió el halo de inhibición para comprobar su acción; el halo de inhibición del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* fue de tamaño de 15.000mm. Concluyendo que *Foeniculum vulgare* presentó efecto antibacteriano contra el desarrollo de *Streptococcus mutans*.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1 Definición

La caries dental se define como un proceso dinámico, que inicia de lo subclínico hasta niveles macroscópicos en esmalte y dentina.¹⁰ Esta enfermedad está esencialmente asociada con la presencia de bacterias principalmente la especie *Streptococcus mutans*; la cual produce ácido mediante la fermentación de azúcares de los carbohidratos que se consumen y quedan en la boca para luego crear un microambiente ácido que va a desmineralizar los tejidos del diente.¹¹

2.2.1.1 Etiología de la Caries Dental

El desarrollo o inicio de la caries se da por tres factores, los cuales son:

- ✓ Tejido hospedador susceptible: La topografía de la superficie del diente propicia la retención y acumulación de la placa dental, la saliva también cumple un rol importante en la fijación de las bacterias sobre la superficie dentaria, pero a la vez las inmunoglobulinas se encargan de evitar que las bacterias desmineralicen los tejidos dentarios.

- ✓ Microflora dental: los microorganismos que hay en la cavidad oral, sintetizan polisacáridos que dan como resultados ácidos por encima del esmalte y la dentina que van a empezar el proceso de desmineralización. Por lo particular es el *Streptococcus Mutans* la bacteria más estudiada y que se relaciona con la iniciación de la carie dental. Esta especie metaboliza los polisacáridos con el fin de generar ácidos que generan un cambio de Ph en el microambiente que es apto para la colonización de bacterias secundarias.

- ✓ Sustrato. El consumo de hidratos de carbono, y algunos alimentos viscosos brindan nutrientes esenciales como la melaza que sirven como fuente de energía para el microbioma oral, para que las bacterias oportunistas puedan desarrollarse y colonizar sobre las superficies, además de adherirse y metabolizar sobre las caras dentarias

2.2.1.2 Teoría Químico Parasitaria:

Esta teoría explica que el desarrollo de la caries dental solo se da por la presencia de ácidos sobre el esmalte, y el cambio del Ph de la cavidad oral y los nutrientes del microambiente gracias al mecanismo de metabolización que tienen las bacterias por la metabolización de hidratos de carbono proveniente de los alimentos ingeridos.

Diversos experimentos sostuvieron la teoría de Miller sobre la causa multifactorial de los procesos infecciosos dentales. Posterior a este, Williams y Black demostraron el papel del biofilm con el inicio de la caries.

2.2.2 Película Adquirida

La placa adquirida salival, es una capa delgada que se deposita en sobre los tejidos dentales y la mucosa oral, y que aparece cuando se encuentra constituido por proteínas y glucoproteínas presentes en la saliva, así como otras provenientes de los mismos microorganismos.¹²

Las biomoléculas que contiene ya están presentes en los tejidos dentarios con un propósito sobre tejido adamantino y que van a servir para formar parte de la matriz de consistencia de la película adquirida.¹²

2.2.2.1 Composición:

Este compuesto por glucídicos como glucosa, galactosa y un grupo amino de azúcares como la glucosamina y la galactosamina; por supuesto que está en bajas concentraciones ya que intervienen también glúcidos provenientes de otro lado. ¹³

2.2.3 Microbiología Bucal

Estudia las características, el funcionamiento y la morfología peculiar de los microorganismos, los líquenes y los microbios de la boca, con el fin de crear métodos preventivos e interceptivos.

2.2.4 Grupo Viridans

Se desarrollan a 37° misma temperatura de la cavidad oral donde colonizan las superficies de los tejidos dentarios de los componentes que conforman el sistema estomatognático, son los microorganismos que tienen forma de bacilos o cocos; por esta razón son denominados como *Streptococcus*. Su patogenia más importante se relaciona con aportes de nutrientes y cambios de pH de placa dental para la formación de la caries y la gingivitis.

2.3 Streptococcus Mutans

Esta es una de las especies más representativas del género *Streptococcus*. Esta especie anaerobia facultativa, tiene una capa mucosa donde se encuentran proteoglucanos soluble e insolubles; por eso posee glucosiltransferasa una variable con peso molecular, además los diversos componentes de su pared celular permiten distinguirlos genotípicamente y fenotípicamente en los serotipos a,b,c,d,e,f,g y h.

En la pared celular se encuentra proteínas fijadas que son antígenos y tienen papeles importantes como la fijación de glucanos, y la adhesión a la película adquirida, además permite la adherencia interbacteriana mediante el intercambio de proteínas que a veces proviene de la saliva debido a una fuerza ejercida por los cationes y glucoproteínas que hay en esta.¹⁴

2.3.1 Adquisición De *Streptococcus Mutans*

Este microorganismo, aparece luego del primer brote dental. Donde la principal transmisión en los niños se da de la saliva de la madre hacia el hijo. Actualmente, se busca cuantificar y dar detalles de los porcentajes en la que se encuentran las colonias de esta cepa¹⁴

2.3.2 Medios de cultivo para el *Streptococcus Mutans*

Existen diferentes medios de agar para cultivar bacterias pero algunos medios son esencialmente para revivir bacterias que se encuentran en estado de latencia como los *Streptococcus mutans*.

Medios sólidos

- Medios de cultivo selectivo para *Streptococcus*, tenemos el MSA (mitis-salivarius agar) enriquecido en sacarosa que tiene en su composición antimicrobianos que inhiben otras bacterias más no la que queremos hacer crecer y el otro medio de cultivo es MSB (mitissalivarius- bacitracina), con

contiene antibiótico de bacitracina y un porcentaje de sacarosa como fuente de nutriente para la bacteria.

- Medios de cultivo no selectivo, tener un agar sangre, que permite el crecimiento de colonias alfa o y-hemolíticas netamente que han sido aisladas de zonas como el corazón o de heridas, porque en este medio no pueden crecer algunas cepas de *Streptococcus Mutans* como las beta - hemolítica.

Líquidos

Usados en diferentes caldos por sus altos contenidos de nutrientes para su crecimiento y desarrollo, el más empleado para esta bacteria son los caldos de Brain Heart Infusion, y Tryptic Soy Broth, que permiten reactivar y darle las primeras condiciones de vida para su crecimiento.

2.4 Cepas ATCC (25175)

Son microorganismos que vienen con un certificado y presentan un control de calidad son importantes para los estudios de enfoque biotecnológico, ya que un estudio tiene más validez y se realizan con cepas madres que contiene todas las características agresivas que presenta cuando está dentro de la afección, de otra forma se puede obtener cepas hijas con características similares.¹⁵

El producto ATCC es una célula viva o un microorganismo, ATCC enumera la formulación de los medios que se ha encontrado que es efectivo para este producto Mientras que otros medios no especificados también pueden producir resultados satisfactorios, un cambio en los medios o la ausencia de un aditivo de los medios

recomendados por la ATCC pueden afectar la recuperación, el crecimiento y / ofunción de este producto. Si se utiliza una formulación de medio alternativo, la garantía de viabilidad de ATCC no es más válido.

Condiciones de almacenamiento congeladas: -80°C o más frías

Liofilizado: 2°C a 8°C

Aislamiento: Dentina cariada

Condiciones de crecimiento

- Temperatura: 37°C
- Ambiente: Aeróbico Procedimiento de propagación
- Abra el vial de acuerdo con las instrucciones adjuntas
- Rehidratar todo el sedimento con aproximadamente 0.5 ml de caldo # 44.
Vaciar todo el contenido a un tubo estéril de 56 ml de caldo n. $^{\circ}$ 44. Se pueden inocular tubos de ensayo adicionales transfiriendo 0.5 mL del tubo de caldo primario a estos tubos secundarios.
- Use varias gotas del tubo de caldo primario para inocular una placa # 44 y / o agar inclinado # 44.
- Incubar a 37°C durante 48 horas.

2.5Digluconato de clorhexidina

Es un biguanida catiónico con pronunciadas propiedades antimicrobianas que vienen de diferentes concentraciones por lo general para uso oral viene al 0.12% y posee un efecto bactericida y fungicida.

Es ampliamente utilizado en diferentes concentraciones en la irrigación de zonas afectadas por sepsis odontogénica, y también en tratamientos periodontales, así como reduce la placa bacteriana y gingivitis.

2.5.1 Actividad Antimicrobiana:

El digluconato de clorhexidina tiene propiedades antimicrobianas, que a bajas concentraciones brinda un efecto bacteriostático a comparación de dosis altas que presentan efecto bactericida. Estos efectos trabajan a nivel de la membrana plasmática celular alterando el equilibrio osmótico mediante el ingreso de agua y retención de sales, causando lisis de dichas células. Por ello pueden inhibir bacterias Gram positivas y Gram negativas incluyendo algunos hongos.

Esta sustancia actúa rápidamente sobre las superficies limpias como también contaminadas con placa dental, brindándonos un efecto más prolongado en la boca y se va liberando de a poco durante las 12 horas que permanezca en los tejidos, además medio es su pH lo que ayuda que este siga activo contra los microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

2.5.2 Sustantividad:

La CHX adsorbida se libera gradualmente en 8 a 12h, de forma activa. Tras 24h, mientras inhibe la colonización de bacterias por ese tiempo. Su alta sustentividad es debida a que absorbe rápidamente por la superficie bacteriana, gracias a su pH neutro y ligeramente alcalino. Se a la pared celular de las bacterias que colonizan la placa dental, en el esmalte dental, produciendo efectos negativos en el citoplasma de dichas provocando la muerte de la bacteria patógenas.

La molécula de digluconato de clorhexidina se fija en la mucosa, mediante la unión a los grupos carboxilos presentes en la capa de mucina que rodea la mucosa. Posteriormente y debido a la segregación de iones Ca por las glándulas salivales, las moléculas de CHX son liberadas lentamente.

2.5.3 Acción Farmacológica:

El digluconato de clorhexidina es una sal que tiene una carga positiva, tiene la capacidad penetrar las superficies como la mucosa, y los tejidos duros del diente, como también desorganizar y desequilibrar el pH del biofilm. A lo largo de 24 horas de su aplicación, el principio activo se va liberando de a pocos, con un efecto bacteriostático. Indicado en pacientes que tengan problemas periodontales y halitosis.

Se pueden encontrar en concentraciones de:

- a. Digluconato de clorhexidina al 0,12%: Permite realizar enjuagues de 15ml, ya que en esta concentración se libera en boca 18mg.
Antiséptico bucal de amplio espectro frente a las bacterias patógenas orales y de larga duración.
- b. Digluconato de clorhexidina al 0,2%: Permite realizar enjugues de 10ml, ya que en esta concentración se libera en boca 20mg.
- c. Cloruro de Cetilpiridino al 0.05%: Es un antiséptico con elevada actividad antimicrobiana sobre los tejidos orales que se puede combinar con la CHX para mejorar sus propiedades.

2.6 Foeniculum vulgare

2.6.1 Concepto

Es una planta medicinal que pertenece a la familia Umbelíferas también denominadas Apiáceas. Con características particulares en cuanto a su sabor y olor agradable que contiene, además de ellos que es cultivada en todo el mundo

2.6.2 Descripción botánica:

El Hinojo es una hierba antigua estacional que crece más de 2 m de altura. La semilla de Hinojo se originó en la zona sur del Mediterráneo y actualmente crece más en los continentes de Asia y América.

2.6.3 Composición Química

Foeniculum vulgare es grandemente cultivada por su fruto comestible o semillas. Estos son dulces y secos; es una fruta exquisita que contienen calcio, Hierro, Magnesio, Fosforo, Potasio, Sodio, Zinc, Vitaminas.¹⁶

2.6.4 Actividades Farmacológicas:

Se han realizado estudios de biología que atribuyen antiinflamatoria, antifúngica, antibacteriana, hepaprotectora, antitrombótico y antioxidante

2.6.5 Actividad antimicrobiana y antiviral

Foeniculum vulgare se ha usufructuado como un perfeccionamiento para la cura de considerables perjuicios infecciosos de comienzo bacteriano, fúngico y viral.

2.6.6 Actividad Antitumoral:

Las gramíneas del Hinojo han exteriorizado un cierto impacto preventivo y suspensorio sobre un patrón experimental de quiste gástrico, la tisana de hinojo ha presentado un ámbito citoprotector frente a la actividad carcinogénica del ácido tricloroacético.

2.6.7 Actividad Antiinflamatoria:

La administración de 200mg/kg de peso del extracto metanólico de legumbres de hinojo inhibe la inflamación aguda y subaguda en prototipos experimentales de tumefacción.

2.6.8 Actividad antioxidante:

El hinojo es conocido como una excelente fuente de recursos naturales. antioxidantes Esta planta puede inhibir los radicales libres debido a El alto contenido en polifenoles y flavonoides. Fenólico compuesto en esta hierba como el ácido cafeicoquinico, ácido rosmarínico, eriodictiol-7-orutinosido, quercetina3-O-galactósido, kaempferol-3-O-glucósido mostró actividad antioxidante.

2.6.9 Actividad anti-ansiedad:

La actividad ansiolítica del extracto crudo de hinojo ha sido informado debido a los fitoestrógenos ampliamente tiene uso terapéutico en el tratamiento de la deficiencia de estrógenos, frente a anormalidades. Los estrógenos son hormonas que intervienen en el fenómeno de la ansiedad que parece actuar a través de los receptores GABA. Efecto ansiolítico significativo establecido. Picrotoxina (GABA antagonista del receptor) y el tamoxifeno previno ansiolíticos efecto. Por lo tanto, el hinojo es probablemente un

remedio herbal que tiene efectos ansiolíticos mediados por el sistema GABA-érgico y los receptores de estrógeno.

2.6.10 Actividad contra el cáncer:

Se demostró que las respuestas dependientes de TNF- α participan en la inflamación y el cáncer. Fue encontrado que el etanol en la semilla de hinojo tiene un efecto inhibitorio sobre la activación de TNF- α por el factor de transcripción NF- κ B

III. Hipótesis

El extracto hidroetánolico de *Foeniculum vulgare* (hinojo) al 75% tiene mayor efecto que las demás concentraciones frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

IV. METODOLOGÍA.

- Tipo: Cuantitativa
- Nivel: Explicativo

El presente trabajo de investigación presenta un diseño:

- Experimental: puesto que el investigador manipuló variables, que se estiman independientes.¹⁹ El estudio manipuló las concentraciones de *Foeniculum vulgare*.
- Prospectivo: son aquellos en los cuales la información se va registrando en la medida que va ocurriendo el fenómeno o los hechos programados para observar.¹⁹ Porque en el estudio se midió la variable dependiente cuando se inició el estudio.
- Transversal: Porque se realizó observaciones en un momento único en el tiempo dentro del estudio.¹⁹ Él estudio midió el efecto antibacteriano a las 24 horas.
- Analítico: Explica y contestan el por qué o la causa de presentación de determinado fenómeno o los hechos programados para observar.¹⁹

4.1 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) Tamaño de muestra:

Para determinar el tamaño de la muestra, por ser experimental se empleó la siguiente formula

$$n=2(Z\alpha/2+Z\beta)^2(DE)^2/d^2$$

Dónde:

n: tamaño de muestra para el grupo de estudio.

α : probabilidad de cometer error tipo I.

β : probabilidad de cometer error tipo II.

Z: valor estándar de la distribución normal asociada a un tipo de error.

DE: desviación estándar.

d: diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias.

Requerimientos:

De una confianza al 95% ($\alpha=0.05$, $Z=1.96$), y una potencia en la prueba del 80% ($\beta=0.20$, $Z=0.84$), para ($DE/d=0.80$).

$$n = 2(1.96 + 0.84)^2 (0.8)^2$$

$$n = 10$$

4.2 Definición y Operacionalización de Variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Indicador	Valor final	Tipo	Escala de medición
Variable independiente Extracto Hidroetanólico de <i>Foeniculum vulgare</i>	Es una planta medicinal de la familia de Apiaceae, tiene en sus propiedades efectos antiinflamatorios, antioxidantes hepatoprotectores y actividad antibacteriana ¹²	Sustancia antibacteriana a Diferentes concentraciones con propiedades beneficiosas para la salud oral	Concentración	Extracto Hidroetanólico de <i>Foeniculum vulgare</i> al 25%, 50% y 75%.	Cualitativo	Ordinal
Variable dependiente Efecto Antibacteriano sobre el <i>Streptococcus mutans</i>	Que sirve para combatir las infecciones causadas por bacterias. ¹⁴	Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto hidroetanólico de <i>Foeniculum vulgare</i> .	Halos de inhibición/ diámetros	mm	Cuantitativo	De Razón

4.3 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

- **Recolección e Identificación Taxonómica**

1 Kg de *Foeniculum vulgare*, fueron recolectadas, por la mañana, del distrito de Trujillo.(34 m.s.n.m.),provincia de Trujillo y de la región La Libertad ,durante el mes de enero del año 2018.

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

- **Preparación de la Muestra**

Selección: El material vegetal recolectado fue transportados 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 eliminarón las sustancias extrañas presentes en la muestra.

Lavado y desinfección: Luego se procedieron a lavar los materiales vegetales con agua destilada, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente se realizò un enjuague de la planta con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.¹⁴

Secado: Las hojas de *Foeniculum vulgare* fueron colocados sobre papel Kraft y sometidas a secado primero a temperatura ambiente por 24 horas, y luego en la estufa

a una temperatura de 40°C. Luego se realizaron la determinación de peso cada 24 horas hasta valores constantes.

Pulverización: Una vez secadas las hojas de ambas especies, estas se pulverizaron con ayuda de un molino.

Tamizaje: Los polvos obtenidos de cada una de las muestras vegetales, fueron tamizados utilizando el tamiz 0.7.

Almacenamiento: Los polvos de las hojas de *Foeniculum vulgare* obtenidas, fueron guardados por separado en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.¹⁴

- **Preparación de los extractos de las hojas de *Foeniculum vulgare*.**

Se pesaron con exactitud por separado 100 g de polvo de *Foeniculum vulgare*, previamente tamizados. Luego se colocaron en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha, de capacidad de 1 litro y se añadió etanol al 70° G.L. cantidad suficiente hasta cubrir la 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 recipientes y se maceraron por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.¹⁴

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtraron los macerados, al vacío con papel de filtro Whatman N° 1. Las soluciones resultantes fueron llevadas a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión reducida y a una temperatura de 40 °C; luego se pesaron los residuos secos y se guardaron en refrigeración a 2 °C en frasco de vidrio de color ámbar estéril. A partir de estos residuos secos, se prepararon las concentraciones de 50% (500 mg/mL), 75% (750 mg/mL) y 100% (1000 mg/mL) disueltas en etanol de 70° G.L. respectivamente. Finalmente, los extractos hidroetanólicos de *Foeniculum vulgare*

fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.

- **Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.**

Para este estudio se utilizaron 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 incubaron a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembraron por estría en Agar TSYB e incubaron a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligieron una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración gram.¹⁵

A partir de una colonia se sembraron en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservaron hasta su posterior empleo.

- **Preparación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare***

A partir del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* se prepararon las concentraciones de 25%, 50% y 75% respectivamente.

- **Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.¹⁶**

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar¹⁶.

Para lo cual se procedió 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, y se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis 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 MacFarland (1.5×10^8 ufc/mL)

- **Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100 μ l y se colocaron en cada una de las placas con Agar Müller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejaron secar las placas a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.¹⁶

- **Preparación de los discos con los extractos hidroetanólico de *Foeniculum vulgare***

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales fueron embebidos con 50 μ l de cada una de las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare*, respectivamente. Luego, con una pinza estéril, fueron colocados los discos sobre las placas de Müller Hinton (AMHG) inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.¹⁸ Se emplearon como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo etanol al 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 microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinaron cada placa, luego se procedió a medir los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó regla milimetrada vernier digital, abarcando el diámetro del halo.¹⁸

Se realizó 10 repeticiones de cada ensayo.

4.5 Plan de análisis:

Los datos experimentales fueron ingresados en bases de datos de IBM SPSS Statistics versión 23 trabajándose con la prueba estadística Tukey. Luego se realizó una prueba de comparaciones múltiples utilizando la prueba de Dunnet – Bonferroni. Ambas pruebas con un nivel de significancia al 5%. Los datos fueron organizados y presentados en Tablas y Gráficos estadísticos para su análisis e interpretación.

4.6. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Población	Metodología
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (Hinojo) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p>Objetivo General Determinar el efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (Hinojo) frente a cepas de <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Objetivos Específicos Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) al 25% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC25175</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) al 50% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC25175</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) al 75% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC25175</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano entre las concentraciones del extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) y digluconato de Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>El extracto hidroetánolico de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) al 75% tiene mayor efecto que las demás concentraciones frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Efecto antibacteriano</p> <p>Extracto hidroetanolico de <i>Foeniculum vulgare</i></p>	<p>La población estuvo conformada por el conjunto de placas Petri sembrada con 100 µL de una suspensión bacteriana obtenida a partir de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175,</p>	<p>Tipo de investigación: Cuantitativa.</p> <p>Diseño de investigación: Prospectivo, transversal, analítico y experimental.</p>

4.7 Principios éticos:

Al finalizar el estudio las placas Petri fueron expuestas a 121°C y 1 Bar de presión en autoclave. A fin de desechar el material biológico contaminado.

Se adquirió un documento en el cual acredita la eliminación de material biológico contaminado llamado “MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA MANEJO Y ELIMINACIÓN DE RESIDUOS BIOLÓGICOS” de la Facultad de Ciencias Biológicas”.²⁰

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1

Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetánolico de *Foeniculum vulgare* (Hinojo) frente a cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.

<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>p*</i>
25%	10	11.38	1.15	0.000
50%	10	14.33	0.65	
75%	10	20.00	1.40	
Clorhexidina 0.12%	10	25.57	0.42	
Etanol 70%	10	8.60	0.52	

*p**: prueba KRUSKAL WALLIS

Nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

Interpretación:

Se comparó el efecto antibacteriano de tres concentraciones (25%,50%,75%) del extracto hidroetánolico de *Foeniculum vulgare* (Hinojo) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; al 25% se obtuvo una media 11.38mm, al 50% se obtuvo una media 14.33mm, y al 75% se obtuvo una media 20.00mm. Se utilizó la prueba Kruskal Wallis y se obtuvo $p=0.000$, lo cual indica que existe diferencia estadística significativa entre los tres tipos de concentración. Así mismo se puede observar que la clorhexidina presentó el mayor efecto (25.57mm), seguido del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* al 75%(20.0mm); luego al 50%(14.33mm); seguido del 25%(11.38mm) y por último el etanol al 70% (8.60mm) con menor efecto antibacteriano.

Tabla 2

La prueba de Dunnet – Bonferroni, para comparar la diferencia de medias.

			Diferencia de medias	Error típ.	Sig.
Bonferroni	25%	50%	-2.950*	0.440	0.000
		75%	-8.620*	0.440	0.000
		C+	-14.190*	0.440	0.000
	50%	25%	2.950*	0.440	0.000
		75%	-5.670*	0.440	0.000
		C+	-11.240*	0.440	0.000
	75%	25%	8.620*	0.440	0.000
		50%	5.670*	0.440	0.000
		C+	-5.570*	0.440	0.000
	C+	25%	14.190*	0.440	0.000
		50%	11.240*	0.440	0.000
		75%	5.570*	0.440	0.000
t de Dunnet (a)	25%	C+	-14.190*	0.440	0.000
	50%	C+	-11.240*	0.440	0.000
	75%	C+	-5.570*	0.440	0.000

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Interpretación:

La prueba de Bonferroni, compara cada uno de los extractos y control entre sí, de lo cual podemos indicar por la significancia $p < 0.05$, que todos los grupos evaluados presentar diferencia significativa entre sí.

La prueba de Dunnet, trata a un grupo como grupo control (*clorhexidina al 0.12%*), la cual fue comparada con cada uno de los 3 extractos, de lo cual podemos indicar por la significancia $p < 0.05$, que si existe diferencia significativa entre el grupo control (*clorhexidina al 0.12%*), con cada uno de los extractos

5.2 Análisis de Resultados:

En la actualidad, los productos activos vegetales asumen un papel importante en el tratamiento preventivo y terapéutico alternativo en la Odontología, debido a sus múltiples propiedades medicinales; entre ellos el efecto antibacteriano sobre los agentes causales de las múltiples patologías orales especialmente contra los que producen la caries dental y enfermedades periodontales.

En la presente investigación de tipo experimental, *in vitro*, se comparó la efectividad antibacteriana, del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* a concentraciones de 25%, 50% y 75% frente a cepas de *Streptococcus mutans*, comparando el efecto antibacteriano de la clorhexidina al 0,12% y etanol al 70%. Nuestros resultados demostraron que el *Streptococcus mutans* es susceptible a la acción del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* a medida que aumenta la concentración se obtiene mayores halos de inhibición, pues a una concentración del 25% se obtuvo un halo de inhibición promedio de 11.38mm, al 50% un halo promedio de 14.33mm; al 75% se obtuvo un halo promedio de 20.00 mm. Sin embargo la acción antibacteriana del digluconato de clorhexidina al 0,12% fue significativamente mayor que el extracto hidroetanólico de Hinojo al 75% y etanol al 70%. Esto se debería a que la clorhexidina se absorbe rápidamente por la superficie bacteriana, gracias a su ph neutro y ligeramente alcalino. Se debe a la pared celular de las bacterias que colonizan la placa dental, en el esmalte dental, produciendo efectos negativos en el citoplasma de dichas bacterias provocando la muerte de ésta, a diferencia de las hojas de *Foeniculum vulgare*; las cuales presentan compuestos fenólicos, ya que estos pueden interactuar con la membrana celular de las bacterias ocasionando ruptura de la misma. Los grupos hidroxilo promueven la deslocalización de los electrones que actúan como intercambiadores de protones y

reducen el gradiente a través de la membrana citoplasmática de las células bacterianas, ocasionando su muerte y compuestos de flavonoides las cuales actúan inhibiendo la síntesis de ADN Y ARN bacteriana.

Así mismo no se encontró una significancia con Golestannejad Z.³ et al. (2017); quien aplicó el mismo método a menores concentraciones, siendo sus resultados menores a nuestros resultados, debido a que dicho autor lo aplicó en menores concentraciones; Wiwattanarattanabut K.⁴ et al. (2017) también encontró resultados positivos; él aplicó el mismo método pero a una concentración del 20% y obtuvo un halo promedio de $9.17 \pm 0,75$ mm. A diferencia de la investigación realizada por Michelon C.⁵ et al. (2016): quien empleó diferentes concentraciones menores a este estudio encontrado que *Foeniculum vulgare* no produjo ningún halo de inhibición; probablemente esto se debería que se aplicó mal el procedimiento al ejecutarla o la planta contaba con signos de contaminación. Mithun B.⁷ et al. (2010): quien aplico el mismo método teniendo un halo promedio de 2.5mm el cual no es proporcional a su concentración. Así mismo Castañeda P.⁸ et al. (2016): quien aplico el mismo método y a concentraciones iguales al nuestro; pero sus promedios no son proporcionales a las concentraciones estudiadas. Esto se debería tal vez a que se ejecutó en diferente bacteria llamada *Candida albicans* quien es más resistente a los extractos de plantas. Baca L, Yábar A⁹ (2016); quien aplicó el mismo método a una concentración del 100% de extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* obteniendo un halo promedio menor al estudiado. En donde su concentración del 100% es similar a nuestra concentración de este estudio al 50%.

En este estudio se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de los extractos hidroetanólicos siendo que, a mayor concentración, tiene mayor efecto antibacteriano destacando el extracto de *Foeniculum vulgare* al 75% con un promedio de 20.00mm y como control positivo a clorhexidina al 0,12% con un promedio de 25.57mm

VI. Conclusiones:

* El extracto hidroetanólico de hinojo al 75% presentó mayor efecto antibacteriano que al 25% y 50% sobre *S. mutans*. Sin embargo, el gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene un efecto superior.

Aspectos Complementarios:

1. Valorar la efectividad antibacteriana del extracto de *F. vulgare m.* (hinojo) frente a otros microorganismos de importancia de la cavidad bucal.
2. Realizar estudios, in vivo, para la elaboración o formulación de enjuagatorios bucales, así como dentífricos que contengan extracto de *F. vulgare m.* (hinojo) y otros estudios de más plantas medicinales para impulsar conocimiento de su acción sobre bacterias que causan la caries dental.

-.

Referencias bibliográficas

1. Pai MB, Prashant GM, Murlikrishna KS, Shivakumar KM, Chandu GN. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian J Dent Res.* (Internet) 2010. (Citado 12 enero 2018); 21(3):334-6. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20930339>
2. Nascimento G, Locatelli J, Freitas P, Silva G. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz. J. Microbiol.* (Internet) 2000. (Citado 12 enero 2018); 31(4): 247-256. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822000000400003
3. Golestannejad, Z., Gavanji, S., Mohammadi, E., Motamedi, A., Bahrani, M., Rezaei, F., Larki, B., Mojiri, A., Bakhtari, A. Comparación de la actividad antibacteriana de aceites de *Foeniculum vulgare* Mill, *Mentha arvensis* y *Mentha piperita* contra *Streptococcus mutans*. *Advanced Herbal Medicine* , (Internet) 2017. (Citado 12 enero 2018); 3 (1): 3-13. Disponible en: http://herbmed.skums.ac.ir/article_26817.html
4. Wiwattanarattanabut K, Choonharuangdej S, Srithavaj T. Efectos de la placa in vitro anti-cariogenic de aceites esenciales extraídos de hierbas culinarias. *J Clin Diagn Res.* (Internet) 2017. (Citado 12 enero 2018); 11 (9): DC30-DC35. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29207708>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5713730/>
5. Michelon CM, Timboni D, Orben A, Miliolli GL, Ceretta LB, Simões PW. Extractos de plantas de uso popular contra infecciones orales. *Rev Bras Promoç Saúde, Fortaleza.* (Internet) 2016. (Citado 12 enero 2018); 29(4): 506-514. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/314218091_Extractos_de_plantas_de_uso_popular_contra_infeccoes_orais
6. Chavan N, R.D.Phadtare.ChavanT. Effect of aqueous extracts of medicinal plants on control of *Streptococcus mutans*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* (Internet) 2015. (Citado 12 enero 2018); 4(4)1072-1081. Disponible en:
<https://www.ijcmas.com/vol-4-4/N.S.Chavan,%20et%20al.pdf>

7. Pai Mithun B, Prashant G, Murlikrishna K, Shivakumar K , Chandu G. Antifungal efficacy of Punica granatum, Acacia nilotica, Cuminum cyminum and Foeniculum vulgare on Candida albicans: An in vitro study. Original research. (Internet) 2010. (Citado 12 enero 2018); 21(3): 334-336. Disponible en:
<http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2010;volume=21;issue=3;spage=334;epage=336;aulast=Pai>

8. Castañeda P. “Efecto Antifúngico Del Extracto Etanólico De Las Semillas De Foeniculum Vulgare Mill. Sobre Cepa Candida Albicans Atcc 10804 In Vitro” Tesis Grado De Maestro En Estomatología. Universidad Privada Antenor Orrego – UPAO. 2016. Disponible en:
<http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/2115>
http://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/UAC/559/3/Lisseth_Adriana_Tesis_bachiller_2016.pdf

9. Cosco D., Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la Matricaria chamomilla manzanilla", [Tesis], Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima, 2010, pág. 3-9.

10. Rojas A, Montero O. Equivalencia entre el método ICDAS II y el iceberg de la caries dental. Rev. Científica Odontológica (Internet)2012.(Citado 12 de Enero 2020);4(11): 1659-1992.Disponible en : <https://www.redalyc.org/pdf/3242/324227915003.pdf>

11. Ojeda J, Oviedo E, Salas L, “Streptococcus Mutans y caries dental”, Colombia; [REV] VOL 26 (1), Junio 2013, pag 46-48

12. Guerra M, Rodríguez M, García G, Llerena C, Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de Cymbopogon citratus (DC). Stapf, Ciudad de la Habana Mayo-ago. 2004; Rev Cubana Plant Med v.9 (2)

13. Santos A. “Evaluación del rendimiento de aceite esencial de hinojo (Foeniculum Vulgare Miller) procedente de dos niveles altitudinales de Guatemala Origanum Vulgare” [TESIS]Guatemala, Abril 2006; pag 19

14. .Castro V, “Inhibición del crecimiento in vitro de Streptococcus Mutans por papaína y sanitred”, (TESIS DOCTORAL), Universidad de Chile, Santiago, 2005.

15. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad Nacional Ciudad de la Habana, Cuba. 2002.

16. Centurión V. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Tesis GRADO DE MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA. Universidad Antenor Orrego. 2015
17. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. 2013. Vol 33 (1).
18. AL-Waili, A; Al-Ghamdi, M. Ansari, y Al Salom. Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* and *Candida Albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures. *Int J Med Sci* . 2012.
19. Manzoor R, Bilal D, Shahnwaz S, Bilal B, Mushtaq Q. *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arab. Jour. of Chemistry*. [Online] 2016 [Cited nov. 14; 2018]; 9(2): S1574-S1583. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535212000792>
20. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de chile. 2013; 1-7 Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacionde-residuos-biologicos.pdf>

ANEXO

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

Extractos Ensayos	Efecto Antibacteriano(mm)				
	Hinojo			C+	C-
	25%	50%	75%		
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Anexo 3

Constancia de taxonomía

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



Constancia N° 126 – 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: Asteranae
- Orden: Apiales
- Familia: Apiaceae
- Género: *Foeniculum*
- Especie: *F. vulgare* Mill.

Muestra alcanzada a este despacho por PULIDO CÓRDOVA KAREN PAMELA, identificado con DNI N° 47907593, con domicilio legal Mz. A-27 Lt. 25 Manuel Arévalo II Etapa- La Esperanza; estudiante de la Escuela de Odontología, Facultad de Ciencia de la Salud, de La Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; cuya determinación taxonómica servirá para el proyecto tesis titulado: "Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Foeniculum vulgare* frente a cepas de *Streptococcus mutans*"

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 LEON
Director del Herbario HUT



cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

Anexo 4

Constancia de colaboración de Marilú Roxana Soto Vásquez Dra. En farmacia y bioquímica en la ejecución del proyecto de investigación


CONSTANCIA DE ASESORÍA

Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC.

Dejo constancia de haber asesorado al alumna **KAREN PAMELA PULIDO CORDOVA**, en las actividades de preparación de la muestra vegetal, de los extractos hidroetanólicos y de las concentraciones de ensayo, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de La Universidad Nacional de Trujillo. Asimismo, las concentraciones de ensayo preparadas, serán utilizadas para el desarrollo de la tesis titulada: "COMPARACIÓN, in vitro, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO ENTRE LOS EXTRACTOS HIDROETÁNICOS DE FOENICULUM VULGARE (HINOJO) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175"

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo, 05 de febrero del 2018.



[Firma]

Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

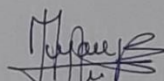
Anexo 4

*Constancia de colaboración de Manuela Natividad Lujan Velásquez, Biólogo –
Microbiólogo en la ejecución del proyecto de investigación*

CONSTANCIA

Yo, Manuela Natividad Luján Velásquez, Biólogo – Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 2132

Mediante la presente dejo constancia de estar asesorando a la alumna PULIDO CORDOVA KAREN, en la parte microbiológica planteada en el proyecto de investigación titulado: **“COMPARACIÓN, *IN VITRO*, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *FOENICULUM VULGARE* (*HINOJO*) FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175”**



Manuela Natividad Luján Velásquez

Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología

Universidad Nacional de Trujillo.

Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Anexo 6

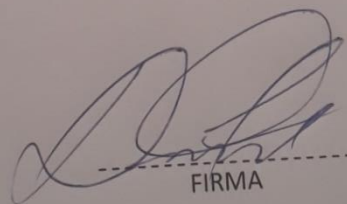
Constancia de colaboración de David Cuba Campos, Ingeniero Estadístico en la ejecución del informe final de investigación

CONSTANCIA DE COLABORACIÓN

El que suscribe David Jonatan Cuba Campos: Ingeniero estadístico de la universidad Nacional de Trujillo.

Hace constar, en la formulación del tamaño de muestra del estudio titulado: "COMPARACION, *IN VITRO*, DEL EFECTO ANTIBACTERIANO HIDROETANOLICO DE *FOENICULUM VULGARE* (HINOJO) FRENTE A CEPAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175". Se colaboró en hallar el tamaño de muestra.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado.



FIRMA

Trujillo, 5 de febrero 2018

Anexo 7

RECOLECCIÓN



SE RECOLECTO LA PLANTA FOENICULUM VULGARE (HINOJO) DEL JARDÍN BOTÁNICO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO



Anexo 8

- Preparación de la Muestra:

1.-Se seleccionaron las hojas de la Planta *Foeniculum Vulgare*(hinojo)



2.-Se Lavaron y Desinfectaron las hojas de la planta *Foeniculum Vulgare* (Hinojo)



3.-Secado



Se secaron a temperatura ambiente por 24 hrs. De las hojas de Foeniculum Vulgare (Hinojo)



Secado en la estufa a una temperatura de 40°C de las hojas de Foeniculum Vulgare (Hinojo)

4.-Pulverización



Hojas secas de Foeniculum Vulgare (Hinojo)



Pulverización de las hojas de Foeniculum Vulgare(Hino) con ayuda de un molino

5.-Tamizaje



Tamizaje de las Hojas de Foeniculum Vulgare (Hinojo) con el tamiz 0.7

6.-Almacenamiento:



Peso del polvo de las hojas de Foeniculum Vulgare (Hinojo) .



Almacenamiento del polvo de las hojas de Foeniculum Vulgare (Hinojo) en frascos de vidrio de color ambar de boca ancha

Preparación de los extractos de las Hojas de *Foeniculum Vulgare*(Hinojo)



Mezcla de Alcohol 96° con Agua Destilada (etanol al 70°)



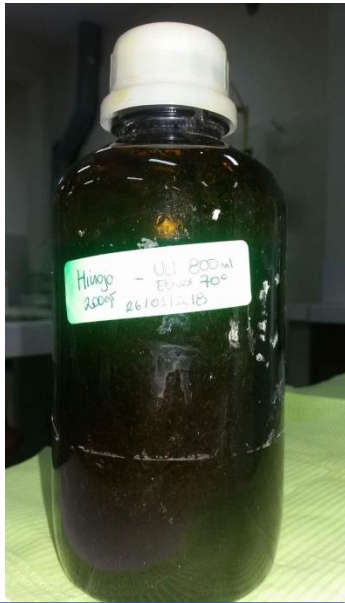
Etanol diluido al 70°
Foeniculum vulgare(Hinojo)



Añadiendo etanol al 70° al Frasco de vidrio color ambar, Polvo de *Foeniculum Vulgare* (Hinojo)



Se agitará cada Frasco de *Foeniculum Vulgare* (hinojo) por 15 minutos dos veces al día



Foeniculum vulgare (Hinojo) 200gr
– Vol: 800ml(Etanol al 70 °)



Tiempo de maceración por 7 días frasco
Foeniculum Vulgare (hinojo)



Se filtrarán los macerados *Foeniculum Vulgare* (hinojo), al vacío con
papel filtro Whatman N° 1



Filtrar macerado de *Foeniculum Vulgare* (hinojo), al vacío con papel filtro Whatman N° 1



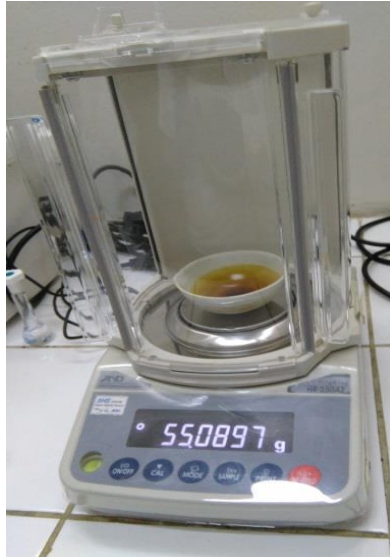
Equipo de rotavapor que se utilizó para eliminar el solvente de los extractos hidroetanólicos de *Foeniculum Vulgare* (hinojo)



Estufa con circulación de aire forzado a 40°C



Residuo Seco de *Foeniculum Vulgare* (hinojo)



Pesando el extracto seco de *Foeniculum Vulgare* (hinojo)



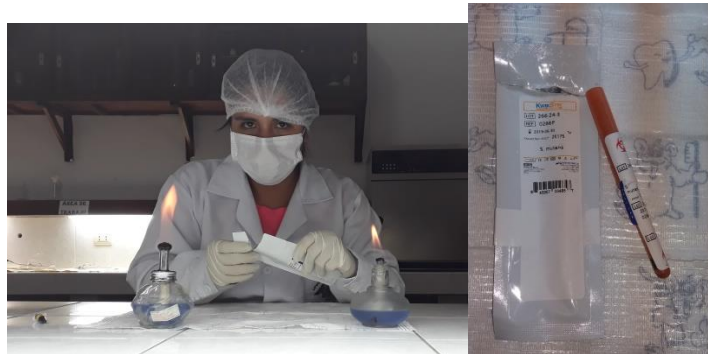
CONCENTRACIONES DE EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE :

Foeniculum vulgare M. (hinojo) de 75% (750mg/ml) disueltas en etanol de 70°

Foeniculum vulgare M. (hinojo) de 50% (500 mg/ml) disueltas en etanol de 70°

Foeniculum vulgare M. (hinojo) de 25% (500 mg/ml) disueltas en etanol de 70°

ENFRENTAMIENTO MICROBIOLÓGICO



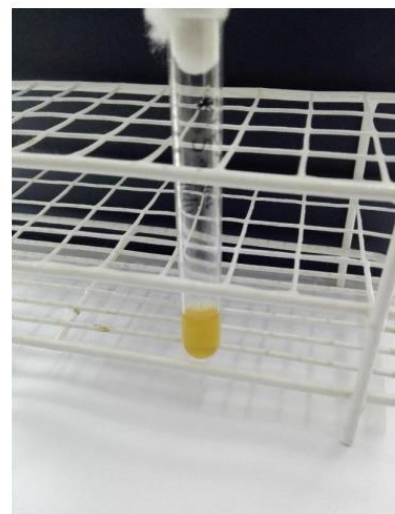
Las Cepas Bacterianas de *streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron obtenidas del Laboratorio de Referencia Gen Lab de Perú S.A.C.



Reactivación de la cepa de S. Mutans ATCC 25 175



S. Mutans ATCC 25175 en Agar Muller Hinton



S. Mutans ATCC 25175 en caldo BHI



Estandarización del inóculo de *S. Mutans* ATCC 25 175

INOCULACIÓN EN PLACAS.-



Hisopo estéril sumergido en la suspensión



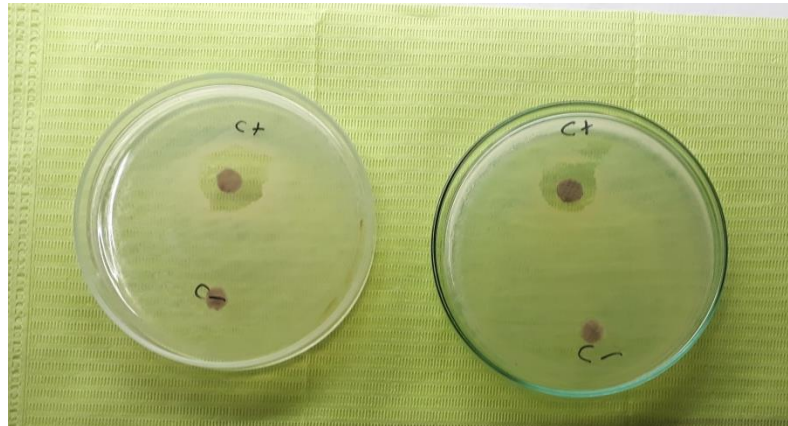
Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa



PREPARACIÓN DE DISCOS CON LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICO DE FOENICULUM VULGARE



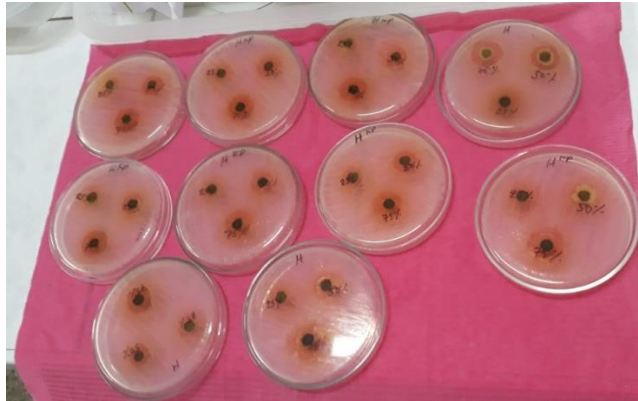
Preparación de los discos de papel filtro whatman número 3 estériles, embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 25%, 50% y 75% de los Extractos de *Foeniculum Vulgare*(Hinojo)



Medir el diámetro de los halos de Inhibición del Control Positivo
(Clorhexidina al 0,12% y Control Negativo Etanol al 70%)

Anexo 10

Lectura de Resultados



Placas Petri de *Foeniculum Vulgare*(Hinojo)



Medir el diámetro de los halos de Inhibición *Foeniculum vulgare M.* (hinojo)

Anexo 11

RESULTADOS

Tabla 01. Comparación, *in vitro*, del efecto antibacteriano del extracto hidroetánolico de *Foeniculum vulgare* (hinojo) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175", determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer.

Concentración Repeticiones	<i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo) (mm)			C+ (mm)	C- (mm)
	25%	50%	75%		
1.	10	17	20	24	0
2.	12	16	20	25	0
3.	12	16	23	25	0
4.	13	20	24	24	0
5.	12	20	24	23	0
6.	13	16	20	25	0
7.	14	16	20	25	0
8.	10	15	24	25	0
9.	10	18	24	25	0
10.	12	17	23	22	0

C+= Gluconato de clorhexidina al 0.12%

C- = etanol

Anexo 12

PRUEBA DE NORMALIDAD

Grupo	Shapiro-Wilk			Distribución Normal
	Estadístico	gl	Sig.	
25%	0,827	10	0,031	No normalidad
50%	0,947	10	0,637	Normalidad
75%	0,854	10	0,065	Normalidad
Clorhexidina 0.12%	0,766	10	0,006	No normalidad
Etanol 70%	0,640	10	0,000	No normalidad

Al tener menos de 50 datos por cada extracto y controles, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la normalidad de los mismos, donde se observa una distribución no normal de datos en su mayoría.

Comparaciones múltiples							
VAR00002							
HSD de Tukey							
(I)	(J) VAR00001		Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
VAR00001						Límite inferior	Límite superior
25%	50%	25%	-2,9500*	,4403	,000	-4,136	-1,764
		75%	-8,6200*	,4403	,000	-9,806	-7,434
		C+	-14,1900*	,4403	,000	-15,376	-13,004
	50%	25%	2,9500*	,4403	,000	1,764	4,136
		75%	-5,6700*	,4403	,000	-6,856	-4,484
		C+	-11,2400*	,4403	,000	-12,426	-10,054
	75%	25%	8,6200*	,4403	,000	7,434	9,806
		50%	5,6700*	,4403	,000	4,484	6,856
		C+	-5,5700*	,4403	,000	-6,756	-4,384
C+	25%	14,1900*	,4403	,000	13,004	15,376	
	50%	11,2400*	,4403	,000	10,054	12,426	
	75%	5,5700*	,4403	,000	4,384	6,756	

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

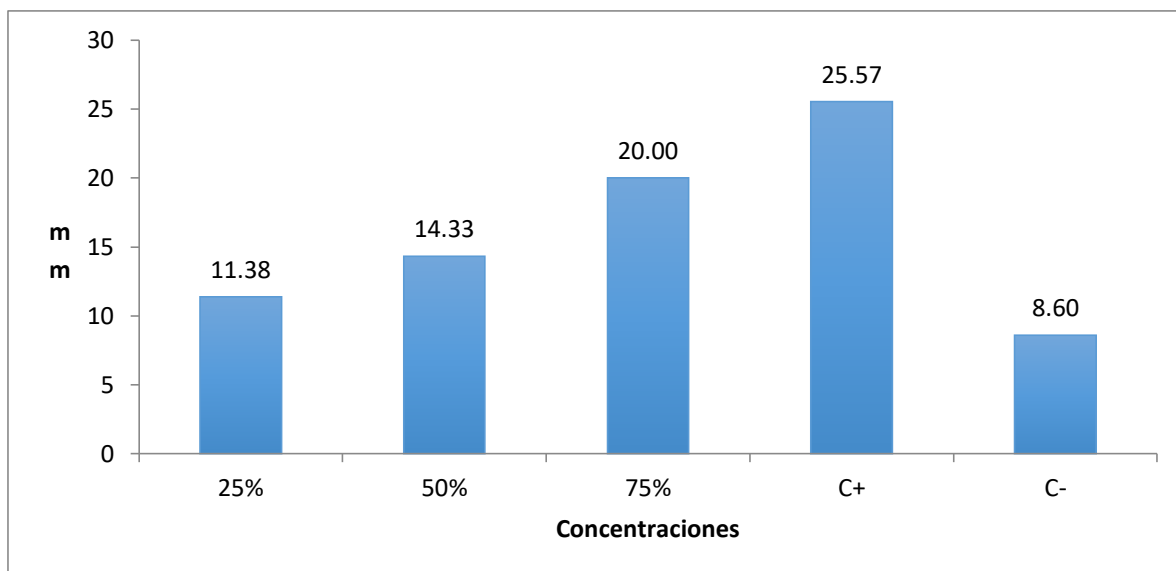
A continuación analizamos cada concentración y controles

- Concentración al 25%, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con:
 - La concentración 50%, se obtuvo una diferencia de medias de -2.950, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - La concentración 75%, se obtuvo una diferencia de medias de -8.620, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - El control positivo C+, se obtuvo una diferencia de medias de -14.19, el cual es no significativo con $p=0.000 > 0.05$.
- Concentración al 50%, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con:
 - La concentración 25%, se obtuvo una diferencia de medias de 2.950, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - La concentración 75%, se obtuvo una diferencia de medias de -5.670, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - El control positivo C+, se obtuvo una diferencia de medias de -11.240, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - El control negativo C-, se obtuvo una diferencia de medias de 28.40, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
- Concentración al 75%, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con:
 - La concentración 25%, se obtuvo una diferencia de medias de 8.620, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - La concentración 50%, se obtuvo una diferencia de medias de 5.670, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.

- El control positivo C+, se obtuvo una diferencia de medias de -5.570, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
- Control positivo C+ frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con:
 - La concentración 25%, se obtuvo una diferencia de medias de 14.190, el cual es no significativo con $p=0.000 > 0.05$.
 - La concentración 50%, se obtuvo una diferencia de medias de 11.240, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.
 - La concentración 75%, se obtuvo una diferencia de medias de 5.570, el cual es significativo con $p=0.000 < 0.05$.

Grafico

Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanolico de *Foeniculum vulgare* (Hinojo) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



Fuente: Datos proporcionados por el investigador