



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA
COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO
DEL GEL DE HOJAS DE *Stevia rebaudiana* (STEVIA) Y
GEL DE CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A
***Streptococcus mutans* ATCC 25175 –DISTRITO DE**
TRUJILLO, PROVINCIA DE TRUJILLO,
DEPARTAMENTO DE LALIBERTAD, 2019
TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA

AUTOR

QUISPE DAZA, GINA JAELA

ORCID: 0000-0002-1116-5498

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2021

1. TÍTULO

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL GEL
DE HOJAS DE *Stevia rebaudiana* (STEVIA) Y GEL DE
CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A *Streptococcus mutans*
ATCC 25175 – DISTRITO DE TRUJILLO, PROVINCIA DE
TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LALIBERTAD, 2019

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Quispe Daza, Gina Jaela

ORCID: 0000-0002-1116-5498

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,

Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de

la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADOS DE INVESTIGACIÓN

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID: 0000-0002-9237-918X

Suárez Natividad, Daniel Alain

ORCID: 0000-0001-8047-0990

Córdova Salinas, Imer Duverli

ORCID: 0000-0002-0678-0162

3. FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Mgtr. Juver Jesús De La Cruz Bravo

PESIDENTE

Mgtr. Daniel Alain Suárez Natividad

MIEMBRO

Mgtr. Imer Duverli Córdoba Salinas

MIEMBRO

Mgtr. Tammy Margarita Honores Solano

ASESOR

4. AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por darme la vida, la salud y las fuerzas para poder realizar mi proyecto, a mi familia, a mis padres y a mis hermanos, porque con ellos compartí una infancia feliz, que guardo en el recuerdo. Agradezco a mis amigos, quienes siempre estuvieron prestándome un gran apoyo moral y humano, los cuales fueron necesarios cuando más los necesité para poder realizar este trabajo y esta profesión. Pero, sobre todo, gracias a mi esposo y a mi hijo, por su comprensión, apoyo y solidaridad con este proyecto, también por el tiempo que me han regalado, un tiempo robado a la historia familiar. Sin su gran apoyo el siguiente trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo es también de ellos.

DEDICATORIA

Quiero dedicarle este trabajo

A Dios que me ha dado la vida y fortaleza

para poder concluir mi proyecto de investigación,

A mis Hermanos por estar ahí cuando más los necesité; en

especial a mi madre por su ayuda y constante cooperación y

A mi hijo André y mi esposo Segundo por apoyarme y ayudarme en

los momentos más difíciles.

5. RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano del gel de hojas de *Stevia rebaudiana* (Stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – Trujillo, 2019. El estudio tuvo un diseño experimental, transversal, prospectivo y analítico, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales fueron incubadas en un medio de cultivo. Se prepararon geles a base del extracto de hojas de *Stevia rebaudiana* en concentraciones del 10, 20 y 40%, y gel de clorhexidina al 0.12%. El efecto antibacteriano se midió en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) y se realizó 13 repeticiones por concentración. La prueba estadística utilizada fue la de Kruskal Wallis. Los resultados indicaron que, el mayor efecto antibacteriano se dio con el gel de Clorhexidina 0.12% con $1.15E+05$ UFC/ml, seguido del Gel de *Stevia* al 40% con $3.71E+05$ UFC/ml, al 20% obtuvo $2.92E+06$ y al 10% obtuvo $1.97E+07$. En conclusión, el gel de clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano en comparación de los geles a base de hojas de *Stevia rebaudiana*.

Palabras claves: antibacteriano, *Stevia rebaudiana*, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The present research aimed to compare the antibacterial effect of *Stevia rebaudiana* (Stevia) leaf gel and 0.12% chlorhexidine gel against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - Trujillo, 2019. The study had an experimental, cross-sectional, prospective and analytical design, which was carried out in a population of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains, which were incubated in a culture medium. Gels were prepared based on the extract of *Stevia rebaudiana* leaves in concentrations of 10, 20 and 40%, and chlorhexidine gel at 0.12%. The antibacterial effect was measured in Colony Forming Units per milliliter (CFU / ml) and 13 repetitions per concentration were performed. The statistical test used was that of Kruskal Wallis. The results indicated that the greatest antibacterial effect occurred with the 0.12% Chlorhexidine gel with $1.15E + 05$ CFU / ml, followed by the 40% Stevia Gel with $3.71E + 05$ CFU / ml, at 20% it obtained $2.92E + 06$ and at 10% he got $1.97E + 07$. In conclusion, the 0.12% chlorhexidine gel had a greater antibacterial effect compared to the gels based on *Stevia rebaudiana* leaves.

Keywords: antibacterial, Stevia, *Streptococcus mutans*.

6. CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Firma de jurado y asesor.....	iv
4. Agradecimiento y/o dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	4
III. Hipótesis.....	24
IV. Metodología.....	25
4.1 Diseño de la investigación.....	25
4.2 Población y muestra.....	26
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	27
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
4.5 Plan de análisis.....	34
4.6 Matriz de consistencia.....	35
4.7 Principios éticos.....	36
V. Resultados.....	37
5.1 Resultados.....	37
5.2 Análisis de los resultados.....	39
VI. Conclusiones.....	42
Aspectos complementarios.....	43
Referencias bibliográficas.....	44
Anexos.....	52

7. Índice de gráficos, tablas y cuadros

Tabla 1: Efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019..... 36

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019..... 38

Índice de gráficos

Gráfico 1: Efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 – distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.....	37
---	----

I. Introducción

Una de las enfermedades más comunes de la cavidad oral, es la caries dental, ya que, presenta una mayor prevalencia en niños y adultos, ocasionando malestares dolorosos y pérdida temprana de piezas dentarias. Por la cual, La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que, es una enfermedad localizada de origen multifactorial, que tiene su inicio una vez erupcionada la pieza dentaria, además, puede afectar la calidad de vida de los pacientes, siempre y cuando no haya una atención temprana.¹

Asimismo, una de las causas que ocasiona la caries dental, son las bacterias de la cavidad oral que participan en la formación de la placa bacteriana, como los *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Lactobacillus* y *Actinomyces*, dentro de los cuales, el *S. mutans*, es conocido por ser uno de los factores más importantes para la formación de la caries dental. Esta bacteria, se encarga de producir ácidos al metabolizar los restos de los alimentos de la cavidad bucal, estos ácidos circulan en el biofilm hasta el esmalte, y se disocia, al liberar hidrogeniones, disolviendo de manera rápida el mineral del esmalte.²

Además, para eliminar estas bacterias, en los últimos años se ha dado mucha importancia al efecto antibacteriano de diversas plantas medicinales, ya que son capaces de combatir con patógenos causantes de la caries dental, como el *S. mutans*, entre otras bacterias ya mencionadas.³

En el Perú, el Ministerio de Salud, reportó que la prevalencia de caries en nuestra población es del 90.4%, según la OMS, constituyéndolo como un problema de salud de alta prevalencia e incidencia en la salud de todos los peruanos. ⁴

Asimismo, el uso de antisépticos orales como la clorhexidina es un método eficaz para la reducción microbiana y la consiguiente prevención de infecciones. Sin embargo, los antisépticos sintéticos se asocian con una serie de efectos como alta resistencia bacteriana. ⁵

La tendencia actual a nivel mundial es la utilización de productos naturales como agentes terapéuticos dados sus mínimos efectos secundarios. El uso de plantas medicinales es una alternativa para el tratamiento de procesos infecciosos y representa una importante fuente de compuestos biológicamente activos, ya que su acción antimicrobiana inhibe el crecimiento de bacterias y hongos, teniendo un valor significativo. Se ha demostrado que, las hojas de *Stevia* se usaban tradicionalmente como medicina popular en el tratamiento de muchas enfermedades como espasmolítico, anti estreñimiento, analgésico y antiinflamatorio. ⁶

Es por ello que el presente estudio realizó la siguiente pregunta, ¿Cuál es el efecto antibacteriano del gel de hojas de *Stevia rebaudiana* (Stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – Trujillo, 2019?

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue comparar el efecto antibacteriano del gel de hojas de *Stevia rebaudiana* (Stevia) y gel de

clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – Trujillo, 2019. El estudio tuvo un diseño experimental, transversal, prospectivo y analítico, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales fueron incubadas en un medio de cultivo. Se prepararon geles a base del extracto de hojas de *Stevia rebaudiana* en concentraciones del 10, 20 y 40%, y gel de clorhexidina al 0.12%. El efecto antibacteriano se midió en Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) y se realizó 13 repeticiones por concentración. Los resultados indicaron que, el mayor efecto antibacteriano se dio con el gel de Clorhexidina 0.12% con $1.15E+05$ UFC/ml, seguido del Gel de *Stevia* al 40% con $3.71E+05$ UFC/ml, al 20% obtuvo $2.92E+06$ y al 10% obtuvo $1.97E+07$. En conclusión, el gel de clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano en comparación de los geles a base de *Stevia rebaudiana*.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes

Internacionales

Sreekumar S.⁷ (India, 2018) En su estudio, “Evaluación comparativa del efecto antibacteriano de tres productos herbales disponibles comercialmente contra *Streptococcus mutans*: Un estudio in vitro”. Realizó un estudio con el **objetivo** de comparar el efecto antibacteriano del extracto líquido de las hojas de *Stevia rebaudiana* y clorhexidina al 0.2% sobre *S. mutans*. **Metodología.** El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Streptococcus mutans*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo y luego fueron expuestos frente al extracto líquido de las hojas de *Stevia rebaudiana* al 50% comercial, también fue expuesto al enjuague bucal de clorhexidina al 0.2%. Los **resultados** indicaron que el extracto a base de Stevia al 50% obtuvo un halo inhibitorio promedio de 22.33 mm, mientras de la clorhexidina al 0.2% obtuvo un halo de 13.6 mm. En **conclusión**, el extracto líquido de las hojas de *Stevia rebaudiana* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.2% frente a *S. mutans*.

Guevara E.⁸ (Ecuador, 2017) En su estudio, “Análisis del efecto inhibitorio de *Stevia* en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, estudio in vitro”. Realizó un estudio con el

objetivo de determinar el efecto antibacteriano de *Stevia rebaudiana* en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*.

Metodología. El diseño fue experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 los cuales, fueron previamente activados y sembrados en un medio de cultivo y se expusieron sobre extractos hidroalcohólicos de *S. rebaudiana* en concentraciones de 25, 50, 75 y 100%, como control positivo se utilizó clorhexidina al 0.12%. La actividad antibacteriana se midió por la medida de los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los **resultados** indicaron que, la concentración al 25 y 50% inhibió un halo de 6 mm, al 75% inhibió 6.47 mm, al 100% inhibió 9.33, y el control positivo 14.67 mm. En **conclusión**, el extracto hidroalcohólico al 100% presentó mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones, pero menor que el control positivo.

Massón M.⁹ (Ecuador, 2016) En su estudio, “Comparación de la efectividad antibacteriana de la *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*”. Realizaron un estudio con el **objetivo** de comparar el efecto antibacteriano de dos presentaciones de Stevia sobre *Streptococcus mutans* y *sanguinis*.

Metodología. El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *S. mutans* ATCC 25175 y *S. sanguinis* 10556, los cuales fueron activados y sembrados en un

medio de cultivo. Se elaboró un extracto acuoso de *Stevia rebaudiana* al 2% y obtuvo una fórmula comercial adquirida de un mercado ecuatoriano de marca Stevialife (polvo, el cual 1 gr fue diluido en 200 ml de agua). El efecto antibacteriano se midió por los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los **resultados** indicaron que, el extracto acuoso de Stevia al 2% presentó un halo de inhibición de 7.2 mm para *S. sanguinis* y 6.7 mm para *S. mutans*. Por otro lado, Stevialife presentó un halo de inhibición de 13.3 mm para *S. sanguinis*, y 13.8 mm para *S. mutans*. En **conclusión**, Stevialife presentó mayor efecto antibacteriano sobre *S. mutans* y *sanguinis*.

Nacionales

Galindo M.¹⁰ (Lima, Perú, 2018). En su estudio denominado “Actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y Xilitol sobre flora mixta salival”. Tuvo como **objetivo** determinar y evaluar la actividad inhibitoria del extracto etanólico al 1,07mg/ml de *Stevia rebaudiana* en etanol a 70° y la solución acuosa a 1mg/ml de xilitol sobre el crecimiento de los microorganismos presentes en flora mixta salival, in vitro. **Metodología.** Para realizar la prueba se incubaron en aerobiosis a 37°C por 24 horas 0,2 ml de saliva recolectada por estimulación en 0,8 ml de cada solución preparada (*Stevia rebaudiana*, Xilitol, etanol de 70°, clorhexidina al 0,12% y Caldo BHI infusión cerebro corazón). La incubación en aerobiosis se realizó

a 37°C por 24 horas para luego realizar el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml). Se trabajó con un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$). Se obtuvieron como **resultados** que el extracto etanólico al 1,07mg/ml de *Stevia rebaudiana* en etanol a 70°, la Clorhexidina al 0,12% y el etanol de 70° presentan 0 unidades formadoras de colonias. Y la solución acuosa a 1mg/ml de Xilitol presentó un índice de crecimiento bacteriano de $816 \times 10^{-4} \pm 657,91$ UFC/ml, con una diferencia altamente significativa con respecto al extracto etanólico al 1,07mg/ml de *Stevia rebaudiana* en etanol a 70°, clorhexidina al 0,12% y etanol de 70°, siendo el segundo con mayor crecimiento bacteriano después del caldo BHI infusión cerebro corazón. **Concluyendo** que el extracto etanólico al 1,07mg/ml de *Stevia rebaudiana* en etanol a 70° posee actividad inhibitoria sobre el crecimiento de los microorganismos presentes en flora mixta salival, mientras que la solución acuosa a 1mg/ml de Xilitol disminuye el crecimiento bacteriano, pero no de manera significativa.

Brañez K.¹¹ (Lima, Perú, 2017). En su estudio, “Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*, bacterias iniciadoras en la formación de biofilm dental”. Tuvo como **objetivo** determinar la actividad antibacteriana del extracto *Stevia rebaudiana* a *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*. **Metodología:** Se activaron las cepas de *S. sanguinis* y *A.viscosus* en placas de

agarsoya tripticasa soja (TSA) y agar sangre. Posteriormente se colocó en las 10 placas de agar sangre como en las de Agar Soya Tripticasa TSA un inóculo de 100 µL, que se estandarizó a 0,5 de la escala de Mc Farland y sembrado para difusión. Consecutivamente se colocaron los 6 mm de diámetro de los discos equidistantes, cargados con 10 µL de las diferentes concentraciones del extracto y se procedió la incubación. Se tuvo como **resultados** que la concentración de 15, 30, 50, 60 y 100 mg / ml registró un halo de inhibición con un promedio de 6, 8; 8,2; 8,2; 8,3; 8,1 mm respectivamente, para el caso de *S. sanguinis*. La concentración de 15, 30, 50, 60 y 100 mg / ml registró un halo de inhibición con un promedio de 7, 2; 9, 65; 9, 20; 8, 05; 7, 95 respectivamente para el caso de *A. viscosus*. El test de Kruskall – Wallis determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,05$ con el promedio dentro de las concentraciones. Se **concluyó** que el extracto de *S. rebaudiana* no presentaba actividad antibacteriana ante las cepas de *S. sanguinis*, pero si presentó actividad antibacteriana ante las cepas de *A. viscosus* para concentración 30 y 50 mg / ml.

Cáceres N.¹² (Puno, Perú, 2017). En su estudio “Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Streptococcus mutans*, Puno-2017”. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Streptococcus mutans*, Puno-2017. **Metodología:** la muestra

fue realizada por 36 placas Petri con sembrado de *Streptococcus mutans*. El grupo experimental estuvo conformado por concentraciones al 25%, 50% y 100% del extracto de *Stevia rebaudiana*. Se evaluó el efecto antimicrobiano por el método propuesto por INS de Kyrby – Bauer para determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto. Se obtuvieron como **resultados** de *Stevia rebaudiana* tuvo un efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* en la concentración al 25% con un promedio del halo de inhibición de 10.47 mm, en la concentración de 50% de 12.46 mm y en la concentración al 100% de 13.49 mm de mejor efecto antimicrobiano. Se **concluyó** que el extracto de las hojas secas de *Stevia rebaudiana* obtenido por el método de destilación agua-vapor tiene efecto antimicrobiano in vitro sobre los cultivos de la bacteria *Streptococcus mutans*.

Huaynate T.¹³ (Lima, Perú, 2016) En su estudio, “Actividad antimicrobiana de la *Stevia* en comparación con el xilitol frente a los *Streptococcus mutans*, un estudio in vitro”. Realizaron un estudio con el **objetivo** de evaluar la actividad antibacteriana de la *Stevia* y el xilitol, frente a *Streptococcus mutans*. **Metodología.** Para el estudio se diluyó xilitol en azúcar, en agua destilada para obtener un extracto al 100%, luego se compró un extracto de *Stevia* de marca NUTRASTEVIA y como grupo control se utilizó clorhexidina al 2%. Se sembró el *S. mutans* sobre una suspensión de caldo nutritivo. El

efecto antimicrobiano se evaluó midiendo los halos de inhibición bacteriana a las 24 y 48 horas respectivas. Los **resultados** indicaron que, para la *Stevia*, los halos de inhibición a las 24 horas midieron 13.2 mm y a las 48 horas 14.61 mm, en comparación con el xilitol que midió 8.6 mm y 9.51 mm. En **conclusión**, el extracto de *Stevia* presenta mayor efecto antibacteriano frente a *S. mutans* en comparación con el xilitol.

Locales

Urbina L.¹⁴ (Trujillo, Perú, 2016). En su investigación denominada “Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356”. Tuvo como **objetivo** determinar la actividad antibacteriana in vitro de un enjuague bucal a base de extracto etanólico de hojas de *Stevia rebaudiana* sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Metodología: Los extractos se obtuvieron a partir de hojas frescas de *Stevia rebaudiana*, para luego ser agregado con excipientes en la elaboración de un enjuague bucal a seis concentraciones en etanol de 70° y seis concentraciones en etanol de 30°. La concentración inhibitoria mínima se obtuvo por el método de dilución en caldo y agar y para el efecto bactericida se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby y Bauer. Se obtuvieron como **resultados** que al seleccionar a la CMI en 1,07 mg/mL en el enjuague a base de extracto

de *Stevia rebaudiana* en etanol de 70° y la concentración de 4,28 mg/mL, en etanol de 30° ($p < 0.01$). Mientras la CMB en 25 mg/mL en el enjuague bucal trabajado en etanol de 70° y siendo estadísticamente nulo en etanol de 30° ($p < 0.05$). Se **concluyó** que el enjuague bucal a base extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* tiene efecto antibacteriano sobre *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Becerra L.² (Trujillo, Perú, 2016). En su estudio “Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Su investigación tuvo como **objetivo** determinar la actividad antibacteriana in vitro de un enjuague bucal a base de extracto etanólico de hojas de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Materiales y métodos:** Los extractos fueron obtenidos a partir de hojas frescas de *Stevia rebaudiana*, para luego ser agregado con solventes en la elaboración de un enjuague bucal a seis concentraciones en etanol de 70° y seis concentraciones en etanol de 30°. La concentración inhibitoria mínima se obtuvo por el método de dilución en caldo y agar y para el efecto bactericida se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby y Bauer. Los **resultados** obtenidos permitieron seleccionar a la CMI en 1,07 mg/mL en el enjuague a base de extracto de *Stevia rebaudiana* en etanol de 70° y la concentración de 2,14 mg/mL, en etanol de 30°. Mientras la CMB

en 75mg/mL en el enjuague bucal trabajado en etanol de 70° y siendo estadísticamente nulo en etanol de 30°. Se **concluyó** que el enjuague bucal a base extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Pairazamán J, et al. ¹⁵ (Trujillo, 2020) En su estudio, “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre los factores de virulencia cariogénicos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. Tuvo como **objetivo**, determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio tuvo un **diseño** experimental, el cual se llevó a cabo en una muestra de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 el cual fue previamente activada y sembrada en un medio de cultivo. Se prepararon extractos etanólicos de las hojas de *S. rebaudiana* en concentraciones del 1.07%, 5%, 10%, 25%, 50% y al 75%; el efecto inhibitorio fue medido mediante la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Los **resultados** indicaron que las concentraciones 1.07 y 5% obtuvieron valores por debajo de la CMB, mientras que al 10% obtuvo una media de 0.568, al 25% obtuvo 0.432, al 50% obtuvo 0.356 y al 75% obtuvo 0.284. En **conclusión**, el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 75% obtuvo mayor efecto bactericida frente a *S. mutans* ATCC 25175.

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1 *Streptococcus mutans*

Es una bacteria Gram positiva, anaeróbica. Esta especie se encuentra en la cavidad bucal humana, y forma parte del biofilm dental y la placa bacteriana en donde su proliferación origina el desarrollo de la caries dental. Se encuentra en un pH neutro, sin embargo, es ácido que en conjunto con el biofilm metaboliza sacarosa produciendo así un medio ácido sobre las estructuras dentales.¹⁶

El *Streptococcus mutans*, es productor de ácido láctico, con la propiedad de modificar el medio de pH 7 a pH 4,2 en alrededor de 24 horas, al metabolizar los restos alimenticios de la cavidad bucal como la sacarosa, glucosa, fructosa, entre otros.¹⁷

Dichos ácidos transitan por la placa dental hacia las porosidades del esmalte, donde se produce el proceso de desmineralización, en el cual se descomponen los ácidos y liberan hidrogeniones, que son responsables de disolver el mineral del esmalte, originando calcio y fosfato, que se propagan fuera del esmalte.¹⁸

Clasificación

Se pueden clasificar en 8 serotipos:

- *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k),
- *S. sobrinus* (serotipos d y g)
- *S. cricetus* (serotipo a)
- *S. rattus* (serotipo b)

- *S. ferus* (serotipo c)
- *S. macacae* (serotipo c) *S. downei* (serotipo h).¹⁹

El *Streptococcus mutans*, se clasifica en *S. no viridans* y *S. viridans*. En el ser humano los serotipos más importantes son los c, e, f y d o g, conformando el *S. mutans* y *S. sobrinus*.¹⁹

Factores de virulencia

Los factores de virulencia más involucrados son:

- Acidogenicidad: el *S. mutans* fermenta azúcares de los restos alimenticios para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo, produciéndose una disminución del pH, provocando la desmineralización sobre el esmalte dental.²⁰
- Aciduridad: Es la capacidad que tiene la bacteria, de producir ácidos en la cavidad bucal, así se encuentre en un medio con pH bajo.²⁰
- Acidofilicidad: la bacteria del *S. mutans* resiste la acidez del medio bombeando protones fuera de la célula.²⁰

Type Culture Collection American (ATCC)

ATCC es un microorganismo norteamericano no gubernamental sin fines de beneficio que se encarga del mantenimiento y conservación de los especímenes de cultivos celulares y microbiológicos, además, se encarga de distribuir dichos cultivos a los centros y laboratorios de

investigación donde se requiere, en universidades, centros científicos y centros médicos.²¹

Propagación

- Medio: caldo de infusión agar cerebro corazón.

Condiciones de crecimiento

- Temperatura: 37° C.
- Ambiente: aeróbico.
- Temperatura de almacenamiento: Congelado: 80 ° C omás frío.
- Liofilizado: 2 ° Ca 8 ° C.²¹

2.2.2 Bioseguridad

Siempre se deben utilizar procedimientos de seguridad apropiados al utilizar estos materiales.²¹

Este producto está destinado únicamente para fines de investigación de laboratorio. No está diseñado para su uso en humanos.

La misión de ATCC, es servir como el reservorio principal del mundo para cultivos de referencia estándar, materiales biológicos relacionados y datos asociados, además, proporciona la preservación permanente y la disponibilidad de estos materiales para el uso de personas calificadas que se dedican a la ciencia, la industria y la educación.²¹

Misión

- Adquirir, preservar, propagar y distribuir cultivos celulares, microorganismos, virus, productos celulares y materiales biológicos utilizados y derivados de la tecnología de ADN recombinante.
- Mantener los más altos estándares de autenticación, documentación y mantenimiento de las características y la viabilidad de los materiales confiados a las colecciones.
- Perseguir la investigación basada o relacionada con las colecciones.
- Brindar un servicio de la más alta calidad a los miembros de los sectores científico, comercial y público que trabajan con materiales de recolección.
- Educar a los científicos y al público acerca de las actividades y actividades de ATCC a través de programas de capacitación, conferencias, publicaciones, bases de datos y otros medios.
- Recopilar, gestionar, difundir e intercambiar información aplicable a los materiales de las colecciones.²¹

2.2.3 Plantas medicinales

Al inicio de la historia, los hombres buscaban en la naturaleza productos para alimentarse, es por ello que, por medio de esas búsquedas los individuos aprendieron a conocer árboles con propiedades curativas, el cual fue transmitido de padres a hijos y el conocimiento fue aumentado con los años.²²

En la actualidad, las investigaciones se han centrado en extraer el principio activo de las plantas medicinales, otorgándole su protagonismo que durante muchos años ha tenido. Estos principios activos extraídos de las plantas presentan diversas propiedades medicinales, dentro de las cuales podemos obtener, propiedades antibacterianas, antimicóticas, antiinflamatorias, analgésicas, entre otras propiedades, en favor de la salud de las personas y son ampliamente utilizadas en los servicios de ciencias de la salud.²²

Los extractos de hierbas se han utilizado con éxito en odontología como agentes limpiadores de dientes y antimicrobianos para la placa, ya que la mayoría de las enfermedades bucales se deben a infecciones bacterianas y está bien documentado que las plantas medicinales confieren una actividad antibacteriana considerable contra varios microorganismos, incluidas las bacterias responsables de la caries dental. Se han probado las actividades antibacterianas de algunas especies de plantas como la *Stevia rebaudiana* las cuales han demostrado presentar potentes actividades antibacterianas en gram positivos y gram negativos.²

Stevia rebaudiana

Stevia rebaudiana Bertoni es un pequeño arbusto perenne de la familia *Asteraceae* (*Compositae*) que es nativo de Sudamérica, particularmente Brasil y Paraguay, donde se lo conoce como Stevia o hoja de miel por su poderosa dulzura.²⁴

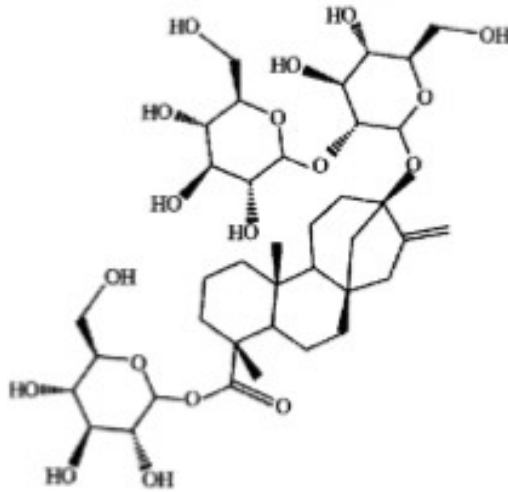


Imagen 1. Estructura de la *Stevia rebaudiana*.²⁵

Propiedades de la *Stevia rebaudiana*

Las hojas de *Stevia* contienen varios componentes activos como el rebaudiósido.²⁶ Esteviósidos y aceite volátil rico en esteroides, flavonoides y taninos.²⁷ Además de algunos flavonoides, las hojas de *Stevia* contienen una alta concentración de esteviósido y rebaudiósido, cuya concentración varía entre 2,5 y 9% según la fuente y el tratamiento del fármaco.²³

Estos constituyentes no identificados probablemente tengan un impacto biológico en humanos y podrían ayudar a explicar algunos de los usos terapéuticos de la stevia.²⁷

Diversas investigaciones, indican que además del dulce que presenta esta planta, los esteviósidos y sus compuestos relacionados, como el rebaudiósido A y el isosteviol, ofrecen beneficios terapéuticos adicionales, como acciones antihiper glucémicas, antihipertensivas, antiinflamatorias, antitumorales, antidiarreicas, diuréticas e inmunomoduladoras. Además, el análisis crítico de la literatura respalda el papel antibacteriano de los esteviósidos en la flora bacteriana oral.²⁷

Actualmente se quiere evaluar las propiedades anticariogénicas de *Stevia rebaudiana Bertonii*, ya que estudios realizados muestran evidencia de que los extractos de esteviósido de *S. rebaudiana* no son cariogénicos. La investigación futura debe centrarse en estudios in vivo para evaluar los efectos sobre la caries dental del consumo regular de productos basados en extracto de *S. rebaudiana* .²⁷

Los radicales de oxígeno activo pueden inducir modificaciones de bases, roturas de ADN y enlaces cruzados de proteínas intracelulares. Este estudio se realizó para evaluar el potencial del extracto de *Stevia* como acción antibacteriana y antioxidante.²⁷

Se ha demostrado que, las hojas de *Stevia* se usaban tradicionalmente como medicina popular en el tratamiento de muchas enfermedades

como espasmolítico, anti estreñimiento, analgésico y antiinflamatorio.²⁷

El extracto de hoja de *Stevia* contiene una variedad de constituyentes además de los esteviósidos y aceite volátil rico en esteroides, flavonoides y taninos (Buege y Aust, 1978). Estos constituyentes no identificados probablemente tengan un impacto biológico en humanos y podrían ayudar a explicar algunos de los usos terapéuticos de la *Stevia*.²⁷

Caracterización fitoquímica de la *Stevia*

La composición Fitoquímica de la *Stevia rebaudiana* comprende la determinación de alcaloides, antraquinonas, compuestos reductores, esteroides o triterpenos, glicósidos cardíacos y cianoénicos, saponinas y taninos.²⁸

Efecto antibacteriano de *Stevia rebaudiana* sobre *S.mutans*

La *Stevia* actúa bajo potencial acidogénico, baja acumulación de placa bacteriana, disminuye la hidrofobicidad celular e inhibe la síntesis de polisacáridos extracelulares. Asimismo, la presencia de esteviósido en las hojas de *Stevia*, presenta un efecto potente sobre las enzimas que son responsables de la descomposición de azúcares e inhibe el glucano.⁸

Gel de clorhexidina al 0,12%

Definición

Es un agente antimicrobiano a base de Clorhexidina 0,12% y su formato en gel, que puede utilizarse como dentífrico o puede aplicarse tópicamente en las zonas afectadas. Ayuda al control bacteriano posterior a procedimientos quirúrgicos de la cavidad oral (extracciones dentales, cirugía de implantes). Es ampliamente utilizado en personas con periodontitis, además, está indicado en personas con elevado riesgo de caries o en situaciones en las que no se puede realizar un correcto cepillado dental. Su composición es de Clorhexidina digluconato solución 20% 2,5 ml; agua purificada csp. 1.000 ml.²⁵

Espectro

Tanto el espectro, como su estructura química y su composición va a depender de la concentración que se requiera y de acuerdo a ello tendrá sus indicaciones. Sin embargo, en este caso se utilizará la clorhexidina a modo de gel, con una concentración de 0.12%.

Al porcentaje de gel, la clorhexidina desestabiliza y penetra sobre la membrana de los microorganismos, inhibiendo el oxígeno lo que genera muerte celular. Actúa sobre las bacterias Gram negativas, sin embargo, a bajas concentraciones sólo promueve un efecto bacteriostático a diferencia que a altas concentraciones actúa como bactericida. Cumple espectro sobre *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonellas* y

bacterias anaeróbicas. La resistencia bacteriana va a depender del tiempo en cuanto se use la clorhexidina y su porcentaje.²⁵

Posología

- Uso exclusivo tópico.
- Aplicar en la zona a desinfectar 2-3 veces al día.
- Desechar la solución, una vez abierta, a los 7 días.²

III. Hipótesis

Hipótesis de investigación:

Hi: Existe diferencia entre el efecto antibacteriano del gel de hoja de *Stevia rebaudiana* (*Stevia*) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.

Hipótesis estadística:

Ho: No existe diferencia entre el efecto antibacteriano del gel de hoja de *Stevia rebaudiana* (*Stevia*) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019

HA: Existe diferencia entre el efecto antibacteriano del gel de hoja de *Stevia rebaudiana* (*Stevia*) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.

IV. Metodología

4.1. Diseño de la investigación

Tipo:

Transversal: porque la información fué tomada en un momento dado del tiempo.²⁹ En este estudio, todas las variables fueron medidas luego de 48 horas de incubación.

Prospectivo: porque se registró la información según ocurran los fenómenos.²⁹ Los resultados del estudio se colocaron en una ficha de recolección de datos luego de la ejecución del estudio.

Analítico: porque el estudio se centró en una relación causa-efecto.²⁹ Este estudio buscó encontrar la relación del efecto antibacteriano del gel de *Stevia* y gel de clorhexidina sobre *S. mutans*.

Cuantitativo: porque utilizó la recolección de datos, con base en la medición numérica y análisis estadístico.²⁹

Experimental: porque buscó medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente.²⁹ Este estudio midió el efecto del gel de *Stevia* y gel de clorhexidina sobre las cepas de *S. mutans*.

Nivel de la investigación de la tesis:

Explicativo: porque se orientó en establecer las causas que originan un fenómeno determinado.²⁹ Este estudio explicó el comportamiento del gel frente a *S. mutans*.

Diseño de la investigación:

Experimental (Puro): porque se realizó la manipulación de la variable independiente, y se midió el efecto que la variable independiente tiene en la dependiente.²⁹

4.2. Población y muestra

La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Placas petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Criterios de exclusión

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

El tamaño de muestra para el presente estudio de comparación de grupos fue determinado por las siguientes fórmulas:

$$n = \frac{(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2 2s^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2} \quad n_f = n \left(\frac{gl+3}{gl+1} \right)$$

Dónde:

n = muestra preliminar

n_f = muestra final

$gl =$ grados de libertad

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; coeficiente de la distribución normal para un $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$; coeficiente de la distribución normal para un $\beta = 0.20$

$S = 0.9 (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ el cual es un valor asumido por estar incompleta la información sobre los valores paramétricos en estudios similares.

Luego reemplazando obtuvimos:

$nf = 13$ placas

Es decir, se necesitaron 13 placas seleccionadas aleatoriamente para cada tratamiento.

4.3. Definición y operacionalización de variables

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	INDICADOR	VALOR FINAL
Efecto antibacteriano	Capacidad de eliminar agentes bacterianos, inhibición de su crecimiento y proliferación. ⁷	Para el estudio se evaluará mediante lecturas en AGAR	Cuantitativa	Razón	Unidades formadoras de colonias	ufc / ml
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	INDICADOR	VALOR FINAL
Gel de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i>	Son sistemas semisólidos con un alto contenido acuoso o hidroalcohólico y baja o media viscosidad conferida por un agente gelificante, a base de un extracto de alguna planta medicinal. ⁹	Elaboración del gel de <i>Stevia</i> en diferentes concentraciones.	Cualitativa	Ordinal	Concentración	10% 20% 40% Clorhexidina al 0.12% Control negativo

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Técnica de recolección de datos

Técnica: Observación.

4.4.2. Instrumento de medición

El instrumento que se utilizó fue una ficha de recolección de datos elaborada por la investigadora, el cual midió el cultivo microbiológico, sembrado en placas con Agar Sangrey Agar Mc. Conkey. (Anexo 2).

4.4.3. Protocolos:

Recolección e identificación taxonómica de *Stevia rebaudiana*

1 kg de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertonii*, fueron recolectadas, en la localidad Nueva Esperanza, San Ignacio que son provenientes de Cajamarca.

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

Preparación de la muestra

Selección: El material 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 estaban en buenas condiciones y se eliminaron las sustancias extrañas presentes en la muestra.

Lavado y desinfección: Luego se procedió a lavar el material vegetal con agua destilada, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente se realizó un enjuague de la planta con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.³⁰

Secado: Las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* fueron colocadas 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. Se realizó la determinación de peso cada 24 horas hasta valores constantes.

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

Tamizaje: El material obtenido de la pulverización, se pasó a través de los tamices N.º 2, 1.2, 0.7, 0.3. La muestra de trabajo correspondió al tamiz 0.7.

Almacenamiento: El polvo de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* obtenidas, se guardaron en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.³⁰

Preparación del extracto fluido de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni*.

Se pesaron 100 g de hojas pulverizadas, luego se humectó con suficiente alcohol de 70° GL. Se colocó el material vegetal en el equipo de percolación o lixiviación con cantidad suficiente de

alcohol de 70°GL, seguidamente se dejó macerar por un periodo de 48 h. Pasado el periodo de maceración se procedió a percolar a velocidad constante de 10-20 gotas /min el equivalente al 75% del extracto fluido total (75mL), guardándose esta en frasco ámbar.

Posteriormente se percoló el equivalente al 25% (25mL) del extracto fluido total, lo cual se reunió con la primera fracción obteniendo un extracto madre de 100 mL. Se filtró el extracto etanólico al vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. A continuación, el extracto fluido se guardó en frascos de vidrio ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.³⁰

Preparación del gel de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni*.³¹

El gel será elaborado a partir de la siguiente formulación:

Tabla 1. Fórmula del gel a base de extracto de las hojas de *Stevia*

rebaudiana Bertoni al 10%

Sustancia	Cantidad
Carboximetilcelulosa	1,5 g
Extracto fluido de hojas de <i>Stevia</i>	10g
Agua destilada c.s.p	100 mL

Tabla 2. Fórmula del gel a base de extracto de las hojas de *Stevia*

rebaudiana Bertoni al 20%

Sustancia	Cantidad
Carboximetilcelulosa	1,5 g
Extracto fluido de hojas de <i>Stevia</i>	20g
Agua destilada c.s.p	100 mL

Tabla 3. Fórmula del gel a base de extracto de las hojas de *Stevia rebaudiana bertonii* al 40%

Sustancia	Cantidad
Carboximetilcelulosa	1,5 g
Extracto fluido de hojas de <i>Stevia</i>	40g
Agua destilada c.s.p	100 mL

Procedimiento:

Se pesó cada uno de los ingredientes de la formulación y luego se homogenizó la mezcla hasta obtener la consistencia de gel. Luego se guardó cada una de las concentraciones en recipientes de plástico opaco, a temperatura ambiente y bajo sombra.²

Protocolo de la toma de muestras

Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* en placas petri contaminados experimentalmente.

Se trabajó con 5 grupos, 3 grupos experimentales correspondientes a las concentraciones de 10, 20 y 40% del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana*, 1 grupo experimental con gluconato de clorhexidina al 0.12% y grupo control con solución salina fisiológica estéril.

Reactivación de la cepa de *S. mutans*

Para este estudio se utilizó cultivos liofilizados de las cepas de *S.mutans* ATCC 25175.

La reactivación de cada una de las cepas se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI) o Infusión Cerebro Corazón, luego se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia para *S mutans*.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar tripticasa (TSA) e incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia para *S. mutans*. Posteriormente se eligió una colonia compatible con las bacterias en estudio para realizar coloración gram.

La cepa se mantuvo en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), hasta su posterior utilización.^{16,27}

Preparación de la suspensión de la bacteria

Se sembró en agar TSA *Streptococcus mutans* ATCC 25175 respectivamente. Luego, se incubó a 37°C durante 24 horas.

Se realizó las suspensiones de cada bacteria a la concentración semejante al tubo N°0.5 del Nefelómetro de Mac Farland.²³

Prueba de actividad antimicrobiana

La distribución de los grupos de tratamiento fue de acuerdo a lo siguiente.

Grupo Exp. 1. Placas petri contaminadas, tratadas con gel a base del extracto fluido de *Stevia rebaudiana* a concentraciones de 10%, fueron sumergidas en 15ml del gel durante 10 minutos.

Grupo Exp. 2. Placas petri contaminadas, tratadas con gel a base del extracto fluido de *Stevia rebaudiana* a concentraciones de 20%, fueron sumergidas en 15 ml del gel durante 10 minutos.

Grupo Exp. 3. Placas petri contaminadas, tratadas con gel a base del extracto fluido de *Stevia rebaudiana* a concentraciones de 40%, fueron sumergidas en 15 ml del gel durante 10 minutos.

Grupo Exp.4. Placas petri contaminadas, tratadas con gel a base de clorhexidina al 0.12% fueron sumergidos en 15 ml de gel durante 10 minutos.

Grupo control

Las placas se trataron con solución salina fisiológica estéril, y fueron sumergidas en 15 ml durante 10 minutos.

Después del tratamiento respectivo, se transfirieron a tubos estériles con 2 ml de agua destilada estéril y se pasaron por vórtex durante 10 segundos para eliminar el exceso del desinfectante.

A partir de estas soluciones de la parte contaminada, se hicieron diluciones seriadas hasta 10⁶, de las cuales alícuotas de 0,1 ml fueron sembradas por triplicado en agar sangre TSA y se

incubaron a 37 °C durante 48 horas en ambiente microaerófilo o en aerobiosis según corresponda. Luego, se realizó el recuento bacteriano en UFC/ml correspondientes expuestos a los diferentes tratamientos, utilizando una máquina cuenta colonias de marca PVG (India) modelo MG132.^{24, 32}

4.5. Plan de análisis

Los datos recolectados experimentalmente fueron incorporados en una base de datos elaborada en MINITAB 18, para ser presentados en tablas con cada media y desviaciones estándar de la eficacia del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre la bacteria. Aspectos importantes fueron mostrados en gráficos de líneas.

La eficacia de la desinfección con extracto de *Stevia rebaudiana* fue evaluada comparando la desinfección con clorhexidina al 0.12% empleando el test t de Student con un nivel de significancia del 5%.

Previamente se aplicó la Prueba de Shapiro-Wilks para determinar la normalidad de los datos. (Anexo 3).

4.6. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Población	Metodología
¿Cuál es la diferencia del efecto antibacteriano del gel de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> (Stevia) y el gel de clorhexidina al 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019?	<p>Objetivo general: Comparar el efecto antibacteriano del gel de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> (Stevia) y el gel de clorhexidina al 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175– distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.</p> <p>Objetivos específicos: Evaluar el efecto antibacteriano del gel de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> a concentraciones de 10, 20 y 40% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Hipótesis de investigación: Hi: Existe diferencia entre el efecto antibacteriano el gel de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> (Stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.</p> <p>Hipótesis estadística: Ho: No existe diferencia entre el efecto antibacteriano del gel de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> (Stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019 HA: Existe diferencia entre el efecto antibacteriano el gel de hoja de <i>Stevia rebaudiana</i> (Stevia) y gel de clorhexidina al 0.12% frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.</p>	<p>Variable dependiente: Efecto antibacteriano</p> <p>Variable independiente: Gel a base de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i></p>	La población estuvo conformada por cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	<p>Tipo de investigación: cuantitativa, transversal, prospectivo y analítico.</p> <p>Nivel: Explicativo.</p> <p>Diseño: Experimental - Puro.</p>

4.7. Principios éticos y legales

Esta investigación se basó en el Código de Ética de la Universidad ULADECH, respetando los principios éticos de beneficencia y no maleficencia, para lo cual la investigadora antes y durante la ejecución del estudio contaba con seguro médico; principio de justicia, para lo cual se aseguró un trato equitativo a quienes participaron en los procedimientos a la investigación.; principio de integridad científica, en la cual se asegura que se conocen y se utilizaron los protocolos de seguridad correspondientes en el estudio, asimismo, se declara que no hubo conflicto de intereses en esta investigación; y principio de cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, para lo cual se informa que no se registraron daños, riesgos y beneficios potenciales que afectaron a las plantas, medio ambiente o a la biodiversidad.³³

V. Resultados

5.1 Resultados

Tabla 1

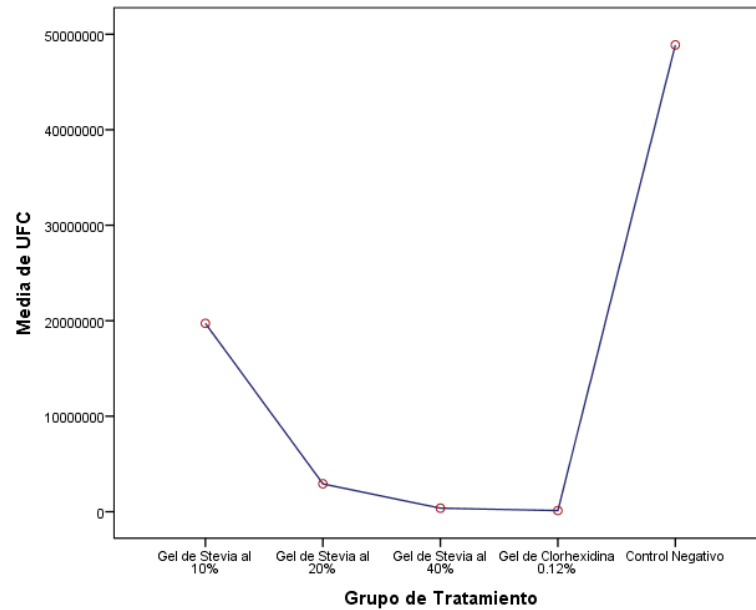
Efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019

Grupo de tratamiento	N	Media de UFC/ml	Desv. Estándar	Prueba de Kuskal Wallis
Gel de Stevia al 10%	13	1.97E+07	2.193E+07	
Gel de Stevia al 20%	13	2.92E+06	4.570E+06	P=0.000
Gel de Stevia al 40%	13	3.71E+05	3.779E+05	
Gel de Clorhexidina 0.12%	13	1.15E+05	7.400E+04	
Control Negativo	13	4.89E+07	5.194E+07	

Fuente: Datos propios obtenidos de la medición.

Interpretación: En la Tabla 1, se observa que existen diferencias significativas ($p < 0.001$) entre los efectos antibacterianos obtenidos en cada uno de los grupos de tratamiento. El gráfico muestra con mayor detalle esas diferencias entre los efectos antibacterianos (en UFC/ml).

Gráfico 1: Efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019



Fuente: Datos obtenidos de la tabla N° 1.

Interpretación: El gráfico muestra que hay diferencias entre los efectos antibacterianos obtenidos en cada grupo de tratamiento.

Tabla 2

Comparación del efecto antibacteriano del gel a base del extracto fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* y el gel de Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019

Grupo de Tratamiento	U de Mann-Whitney	P
Gel de Stevia al 10% vs Gel de Stevia al 20%	27.00	0.0032
Gel de Stevia al 10% vs Gel de Stevia al 40%	12.00	0.0002
Gel de Stevia al 10% vs Gel de Clorhexidina 0.12%	0.50	0.0000
Gel de Stevia al 10% vs Control Negativo	65.00	0.3173
Gel de Stevia al 20% vs Gel de Stevia al 40%	57.00	0.1585
Gel de Stevia al 20% vs Gel de Clorhexidina 0.12%	44.00	0.0377
Gel de Stevia al 20% vs Control Negativo	19.50	0.0009
Gel de Stevia al 40% vs Gel de Clorhexidina 0.12%	71.00	0.4886
Gel de Stevia al 40% vs Control Negativo	0.00	0.0000
Gel de Clorhexidina 0.12% vs Control Negativo	0.00	0.0000

Fuente: Datos propios obtenidos de la medición.

Tabla 2, La prueba U de Mann-Whitney muestra que hay diferencias significativas entre los efectos antibacterianos de las concentraciones del gel de *Stevia* al 10% respecto a casi todos los demás grupos, excepto al del grupo control negativo.

La concentración de Gel de *Stevia* al 20% muestra diferencias significativas en sus efectos antibacterianos comparado con casi todos los tratamientos excepto al del grupo gel de *Stevia* al 40% con quien muestra efectos antibacterianos similares.

La concentración de gel de *Stevia* al 40% muestra diferencias significativas en los efectos antibacterianos respecto a los demás grupos, excepto cuando se compara con los grupos gel de *Stevia* al 20% y Clorhexidina 0.12%, que tienen efectos antibacterianos similares ($p>0.05$).

El gel de Clorhexidina muestra el mayor efecto antibacteriano y es significativamente diferente a todos excepto cuando se compara con el gel de *Stevia* al 40% con quien presenta efectos antibacterianos similares ($p>0.05$)

5.2 Análisis de resultados

La presente investigación tuvo como propósito comparar el efecto antibacteriano de un gel de las hojas de *Stevia rebaudiana* en concentraciones del 10, 20, y 40% con el gel de clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los cuales fueron medidos por las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ ml).

Al comparar el efecto antibacteriano, los resultados indicaron que el gel de clorhexidina al 0.12% presentó menor UFC/ml de *S. mutans* en comparación con los grupos de *Stevia*. Estos resultados se pudieron dar debido a que la clorhexidina es una biguanida considerado como el Goldestándar en agentes antibacterianos, ya que, en bajas concentraciones, al unirse con la membrana celular de las bacterias aumenta su permeabilidad filtrando hacia el exterior los componentes intracelulares como el potasio, lo cual le confiere como bacteriostático, y en altas concentraciones precipita el citoplasma de las bacterias causando muerte celular.¹² Este resultado difiere parcialmente con el estudio de Sreekumar S.⁷ el cual indica en sus resultados que el extracto de las hojas de *Stevia rebaudiana* al 50% presenta mayor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.2% frente a *S. mutans*. Estos resultados se pudieron dar debido a que a que la *Stevia* utilizada en dicho estudio fue obtenida de la India, la cual pudo influir los resultados. Nuestros resultados presentan similitud con el estudio de Guevara E, et al.⁸ y Galindo M.¹⁰, quienes demostraron que la clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano al ser

comparado con *S. rebaudiana* en concentraciones de 1.07%, 25, 50, 75 y 100%, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos resultados se pudieron dar debido a que el mecanismo de acción de la clorhexidina indica que se une de una manera fuerte a la membrana de la bacteria, aumentando su permeabilidad con el propósito de filtrar componentes intracelulares incluido el potasio, el cual es responsable de su actividad antibacteriana. Asimismo, la clorhexidina una vez absorbida se libera de forma gradual de 8 a 12 horas en su forma activa y después de 24 horas puede recuperar su potencia en bajas concentraciones, lo que evita la colonización de bacterias en todo ese tiempo.³⁴

Al evaluar el efecto antibacteriano del gel a base de las hojas de *Stevia rebaudiana* al 10%, 20% y 40%, se demostró que, si presentan efectos antibacterianos sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos resultados se pudieron dar debido a que la *Stevia* actúa bajo potencial acidogénico, baja acumulación de placa bacteriana, disminuye la hidrofobicidad celular e inhibe la síntesis de polisacáridos extracelulares¹². Asimismo, los estudios de Becerra L.², Cáceres N.¹², Huaynate T, et al.¹³, Massón M, et al.⁹, Urbina L.¹⁴, y Pairazamán J, et al.¹⁵, demostraron que los diferentes extractos a base de *Stevia rebaudiana* en diferentes concentraciones, sí tienen efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* y otras bacterias como *Lactobacillus acidophilus*, y *Streptococcus sanguinis*. Estos resultados se pueden atribuir a la presencia de esteviósido en la *Stevia*, el cual

tiene efecto sobre las enzimas que son responsables de la descomposición de azúcares e inhibe el glucano, asimismo, la *Stevia rebaudiana* es un edulcorante, pero no es fermentado en ácidos por las bacterias.¹² Por otro lado, el estudio de Brañez K.¹¹, indicó que el extracto de *Stevia rebaudiana* al 15, 30, 50, 60 y 120 mg/ml, no presentaron efecto antibacteriano sobre *Streptococcus sanguis*. Este resultado pudo darse debido a que el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* en este estudio fue macerado en hojas frescas, el cual pudo influir de manera negativa en la obtención de los metabolitos activos, y pueda ejercer mejor su efecto antibacteriano.¹¹

VI. Conclusiones

1. Se demostró que el gel de clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que el gel de hojas de *Stevia rebaudiana* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad, 2019.
2. El gel de hojas de *Stevia rebaudiana* concentraciones de 10, 20 y 40% presentaron efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Aspectos complementarios

- Se recomienda realizar un estudio comparando el efecto antibacteriano de esta planta frente a diferentes cepas bacterianas causantes de enfermedades periodontales.
- Promover el uso de plantas medicinales, pues es accesible económicamente y presenta toxicidad mínima al ser empleada adecuadamente.

Referencias bibliográficas:

1. Guerrero V, Godínez A, Melchor C, Rodríguez M, Luengas E. Epidemiología de caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares. Rev. ADM. [Revista en línea] 2009 [Citado el 30 de setiembre del 2018]; 65(3): 10-20. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2009/od093b.pdf>
2. Becerra L. Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Odontología; 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1135/BECE RRA%20QUIROZ%20LAYLA%20MARIN%c3%89S.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Rev. Estomatol. Herediana. [Revista en línea] 2015 [Citado el 30 de setiembre del 2018]; 25(4): 268-277. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
4. Brañez K, Ramos D, Castro A, Piscoche C, Dávila D, Ruíz J. Efecto antibacteriano In vitro del extracto de *Stevia rebaudiana*

sobre *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, bacterias iniciadoras en la formación de la biopelícula dental. *Odontol. Sanmarquina*. 2018; 21(1): 21-25

5. Franco CA, Neto, Parolo CCF, Rösing CK, Maltz M. Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding. *Braz. Oral. Res.* 2008; 22:139–144. Available in: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-83242008000200008&script=sci_arttext
6. Moselhy SS, Ghoneim MA, Khan JA. In vitro and in vivo evaluation of antimicrobial and antioxidant potential of *Stevia* extract. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* [Online] 2016 [Cited dic 30; 2018]; 13 (6): 18-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412192/>
7. Sreekumar S, Kiran V. Comparative evaluation of antibacterial effect of three commercially available herbal products against *Streptococcus mutans*: An in vitro Study. *Ind. Assoc. Pub. Heal. Dentistry.* [Online] 2018 [Cited dic 30; 2018]; 16(1): 75-77. Available in: <https://www.jiaphd.org/article.asp?issn=2319-5932;year=2018;volume=16;issue=1;spage=75;epage=77;aulast=Sreekumar>
8. Guevara E, Muñoz J. Análisis del efecto inhibitorio de *Stevia* en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, estudio in vitro [Tesis]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad

de odontología; 2017. Disponible en:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9380/1/T-UCE-0015-541.pdf>

9. Massón M, Armas A. Comparación de la efectividad antibacteriana de la *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis*. Rev. KIRU. [Internet] 2016 [Citado el 30 de enero 2020]; 13(2): 127-132. Disponible en:
<https://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2016/02/997-3419-1-PB.pdf>
10. Galindo M. Actividad inhibitoria de la *Stevia rebaudiana* y Xilitol sobre flora mixta salival. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de odontología; 2018. Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/9536/Galindo_gm.pdf?sequence=1&isAllowed=y
11. Brañez K. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*, bacterias iniciadoras en la formación de biofilm dental. [Tesis]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; 2017. Disponible en:
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6575/Bra%
c3%
b1ez_rk.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6575/Bra%c3%b1ez_rk.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
12. Cáceres N. Efecto antimicrobiano In vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre el *Streptococcus mutans*, Puno-2017 [Tesis].

Perú: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de odontología; 2017.

13. Huaynate T, Cupé A. Actividad antimicrobiana de la *Stevia* en comparación con el Xilitol, frente a los *Streptococcus mutans*-un estudio In vitro. Rev. OACTIVA UC. Cuenca. 2016; 1(2): 51-54.
14. Urbina L. Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1153/URBINA%20CASTRO%20LUIS%20MIGUEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Pairazamán J, Ríos T. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre los factores de virulencia cariogénicos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Agroind. Sci. [Internet] 2020 [Citado el 07 de junio 2021]; 10(1): 95 – 102. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/2864>
16. Pacheco C. Influencia de los tipos de hilos de sutura en el desarrollo del biofilm de la especie cándida Albicans [Tesis]. Perú: Universidad Católica Santa María. Facultad de odontología; 2016. Disponible en:

<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/5873/64.2664.O.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

17. Muñoz, SR; Padilla, TA; Pérez, TO. 2013. Efecto inhibitorio del jugo de arándano (*Vaccinium macrocarpon*) sobre microorganismos de saliva de niños: estudio in vitro. Oral. [internet] 2013 [Citado el 15 de junio 2019]; 14(46): 1030-1034. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2013/ora1346c.pdf>
18. Chamorro A, Ospina A, Arango J, Martínez C. Acción de la inmunoglobulina a secretora en el proceso de adherencia de *Streptococcus mutans* al diente humano. (efecto secret or yiga on the adherence of *Streptococcus mutans* on human teeth). Ces. Odontología. 2013; 26(2): 76-106. Disponible en: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/2807/2022>
19. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. J. Clin. Microbiol. [Online]2004 [Cited jun 15; 2019];42(1):198–202. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321689/>
20. Tahir L, Nazir R. Dental Caries, Etiology, and Remedy through Natural Resources. Intechopen. [Online] 2018 [Cited oct. 28; 2020]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/dental->

[caries-diagnosis-prevention-and-management/dental-caries-etiology-and-remedy-through-natural-resources](#)

21. American Type Culture Collection. [Página principal en Internet]. Virginia: ATCC; c2009 [Citado el 15 de junio 2019]. Disponible en: <https://www.atcc.org/products/all/25175.aspx>
22. Arreguin J, Ríos C, Hernández C, Ostia M, Ventura J, Alvares C, et al. Caries dental y microorganismos asociados a la caries en la saliva de los alumnos de primer año de la facultad de odontología de la UNAM. Rev. Odontol. Méx. 2016; 20(2): 77-81. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2016000200077
23. Ajagannanavar S, Shamarao S, Battur H, Tikare S, Al-Kheraif A, Al Sayed M. Effect of aqueous and alcoholic Stevia (*Stevia rebaudiana*) extract against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: An in vitro study. J. Int. Soc. Prev. Community. Dent. [Online] 2014 [Cited jun 15; 2019];4(2):S116-21. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4278103/>
24. Carounanidy U, Sathyanarayanan R, Bindu J, Mintu B. Anticariogenicity of *Stevia rebaudiana* Extract when used as a Mouthwash in High Caries Risk Patients: Randomized Controlled Clinical Trial. World. Jour. Dent. 2017; 8(5): 1-6. Available in:

https://www.researchgate.net/publication/319979964_Anticariogenicity_of_Stevia_rebaudiana_Extract_when_used_as_a_Mouthwash_in_High_Caries_Risk_Patients_Randomized_Controlled_Clinical_Trial

25. Salvador R, Sotelo M, Paucar L. Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. Cienc. Agropec. 2014; 5(1): 157-163. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172014000300006
26. Bravo A, Ale B, Rivera C, Huamán M, Delmás R, Rodríguez B, et al. Caracterización química de la *Stevia rebaudiana*. Rev. Per. Quím. ing. Quím. 2009; 12(2): 5-8. Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/BIBVIRTUAL/Publicaciones/ing_quimica/v12_n2/pdf/a01v12.pdf
27. Moselhy S, Ghoneim M, Khan J. In vitro and in vivo evaluation of antimicrobial and antioxidant potential of *Stevia* extract. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. [Online] 2016 [Cited jun 15; 2019]; 13 (6): 18-21. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412192/>
28. ANVISA. Formulario Nacional da Farmacopeia Brasileira / Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2.Ed. Brasília: 2012, pág. 181

29. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
30. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad Nacional Ciudad de la Habana, Cuba; 2002.
31. Surichaqui M. Adherencia de biofilm a suturas quirúrgicas absorbibles de catgut simple y poliglactina 910 post exodoncia. [Tesis]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Odontología; 2015.
32. Kishta, Derani M, Neiva GF, Boynton JR, Kim YE, Fontana M. Am. J. Dent. 2016; 29 (2): 87-92.
33. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2016 [Citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
34. Bascones A, Morantes S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. Avanc. Period. [Rev. en línea] 2006 [Citado el 26 de febrero 2020]; 18(1): 31-59. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852006000100004

ANEXOS

Anexo 1

CARTA DE AUTORIZACIÓN



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 03 de noviembre del 2020

Mgtr. Lic. ESGAR DAVID ZAVALETA VERDE
MICROBIÓLOGO DE LA ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de Coordinador de Carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Tesis IV, nuestra alumna, QUISPE DAZA, Gina Jalea; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis titulado: **COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL GEL DE HOJAS DE *Stevia rebaudiana* (STEVIA) Y GEL DE CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175 – TRUJILLO, 2019.** Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado a su digna institución motivo por el cual se solicita dar las facilidades a nuestra alumna y pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

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

Atentamente

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ANGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO
R. M. José Patricia Cordero
COORDINADORA DE CARRERAS


David Zavaleta Verde
MICROBIÓLOGO
C. B. P. 7941
Recibido

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú
Teléfonos: (044) 600 569 / 600 568
Cel: 944 425 768
www.uladech.edu.pe

Anexo 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL GEL DE *Stevia rebaudiana* Y EL GEL DE CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Fuente: Guevara E, Muñoz J. Análisis del efecto inhibitorio de *Stevia* en diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, estudio in vitro [Tesis]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de odontología; 2017.

Repeticiones	RECuento (UFC/ml)				
	GEL DE Stevia al 10%	GEL DE Stevia al 20%	GEL DE Stevia al 40%	GEL DE Clorhexidina 0.12%	Control negativo
1	7.0E+07	1.3E+07	6.5E+04	2.7E+05	1.2E+08
2	1.2E+07	8.0E+05	4.7E+04	1.6E+05	1.1E+08
3	1.6E+07	6.1E+05	9.0E+05	1.1E+05	5.9E+06
4	1.7E+06	7.8E+04	8.9E+05	1.5E+05	8.0E+06
5	3.0E+05	1.5E+04	7.5E+04	2.7E+04	1.2E+06
6	1.9E+07	7.1E+05	8.7E+05	1.7E+05	2.0E+07
7	2.1E+06	7.4E+04	5.5E+05	1.2E+05	7.9E+06
8	2.1E+07	8.0E+06	7.6E+05	1.9E+05	5.0E+07
9	2.7E+05	1.9E+04	7.9E+04	3.1E+04	1.4E+06
10	2.4E+07	2.2E+06	6.0E+04	1.2E+05	6.5E+07
11	1.5E+07	6.0E+05	4.9E+05	3.0E+04	6.0E+06
12	1.4E+07	8.6E+05	2.1E+04	9.0E+04	1.0E+08
13	6.1E+07	1.1E+07	1.4E+04	3.1E+04	1.4E+08

Anexo 3

Prueba de normalidad para el Efecto antibacteriano medido en UFC/ml de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 según grupo de tratamiento

Repeticiones	GEL DE Stevia al 10%	GEL DE Stevia al 20%	GEL DE Stevia al 40%	GEL DE Clorhexidina 0.12%	Control negativo
1	7.00E+07	1.30E+07	6.50E+04	2.70E+05	1.20E+08
2	1.20E+07	8.00E+05	4.70E+04	1.60E+05	1.10E+08
3	1.60E+07	6.10E+05	9.00E+05	1.10E+05	5.90E+06
4	1.70E+06	7.80E+04	8.90E+05	1.50E+05	8.00E+06
5	3.00E+05	1.50E+04	7.50E+04	2.70E+04	1.20E+06
6	1.90E+07	7.10E+05	8.70E+05	1.70E+05	2.00E+07
7	2.10E+06	7.40E+04	5.50E+05	1.20E+05	7.90E+06
8	2.10E+07	8.00E+06	7.60E+05	1.90E+05	5.00E+07
9	2.70E+05	1.90E+04	7.90E+04	3.10E+04	1.40E+06
10	2.40E+07	2.20E+06	6.00E+04	1.20E+05	6.50E+07
11	1.50E+07	6.00E+05	4.90E+05	3.00E+04	6.00E+06
12	1.40E+07	8.60E+05	2.10E+04	9.00E+04	1.00E+08
13	6.10E+07	1.10E+07	1.40E+04	3.10E+04	1.40E+08
Estadístico de Shapiro-Wilk	0.7785	0.6662	0.7817	0.9217	0.8260
P	0.0038	0.0003	0.0042	0.2648	0.0141

La prueba muestra que no hay distribución normal en las UFC de cada grupo de tratamiento excepto en el grupo Clorhexidina 0.12%.

Anexo 4

CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Prueba de Kruskal Wallis para el Efecto antibacteriano del gel de *Stevia rebaudiana* y gel de Clorhexidina 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo – 2019

Estadísticos de prueba para UFC entre tratamiento	
Chi-cuadrado	39.55
Gl	4
P	0.0000

Interpretación: la prueba de Kruskal Wallis muestra que hay diferencias muy significativas entre los efectos antibacterianos de cada grupo de tratamiento ($p < 0.001$).

Anexo 5.

CONSTANCIA

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 número de colegiatura N° 06952.

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación del gel de los extractos hidroetanólicos de *Stevia rebaudiana*, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, a la alumna **GINA JAELA QUISPE DAZA**, identificada con DNI 48053271, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada "COMPARACIÓN *in vitro* DE LA EFICACIA ENTRE EL EXTRACTO DE *Stevia rebaudiana* Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% EN LA DESINFECCIÓN DE LOS HILOS DE SUTURA"

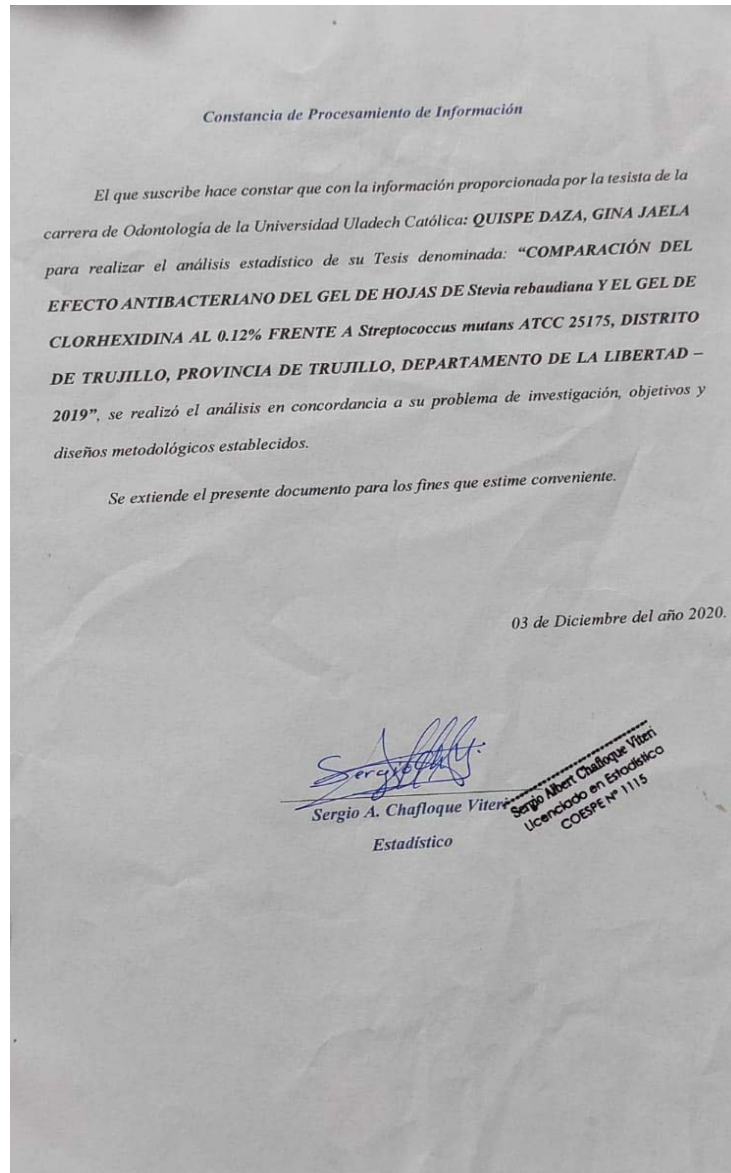
Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo, 12 de noviembre del 2019

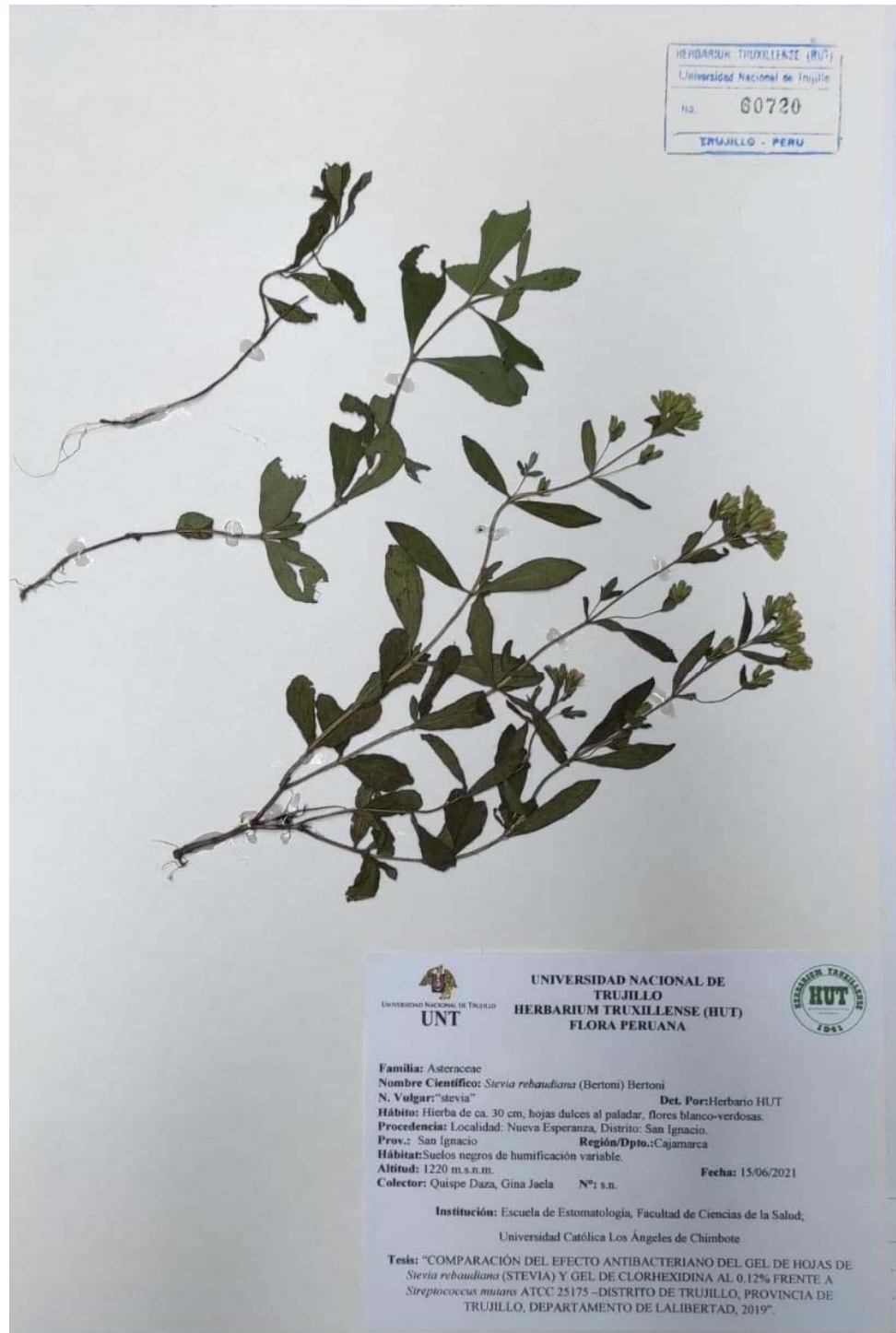


Marilú Roxana Soto Vásquez
Docente
Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNT

Anexo 6:



Anexo 7:



Anexo:8

EVIDENCIAS FOTOGRAFICAS

Figura 1: Preparación del gel de *Stevia rebaudiana* en las concentraciones 10%, 20% y 40%.



Figura 2: Reactivación de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

ANEXO 1. Tubo con medio de cultivo BHI, conteniendo la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175



ANEXO 2. Colonia de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, después de su reactivación.



Anexo 3. Tubo conteniendo *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estandarizado a la concentración 1.5×10^8 UFC/ml



Anexo 4. Gel de *Stevia Rebaudiana* diferentes concentraciones y el gel de clorhexidina al 0.12%

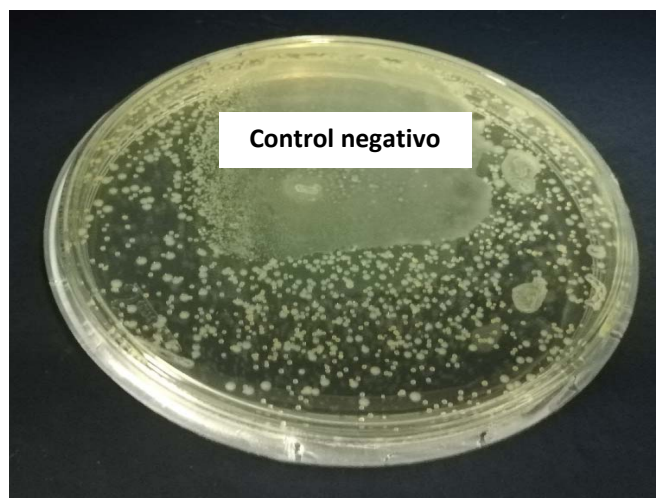
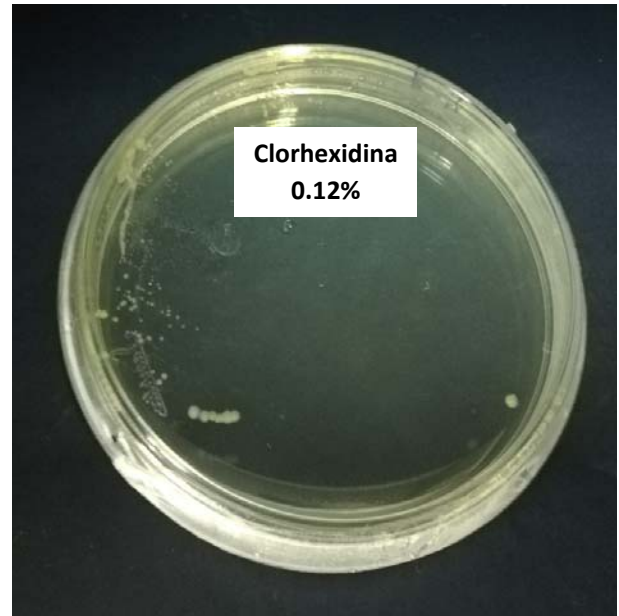
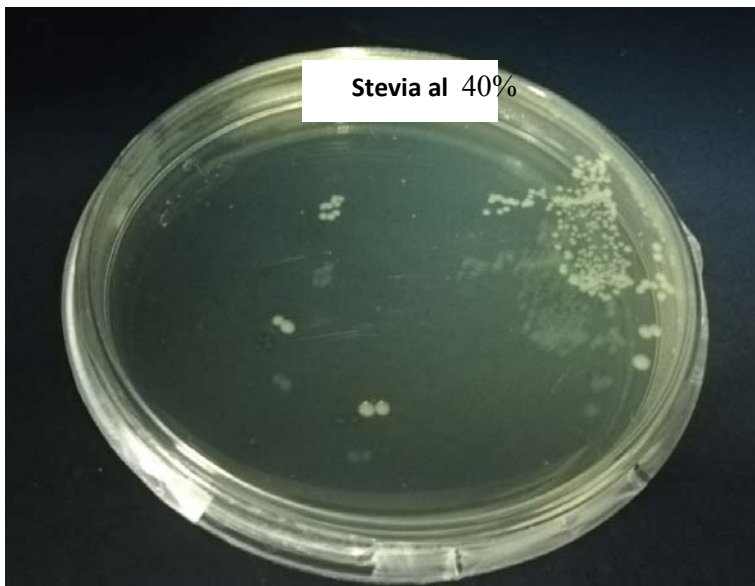
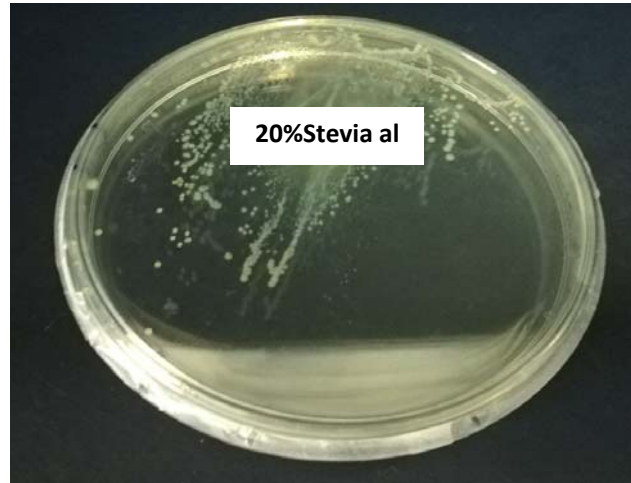
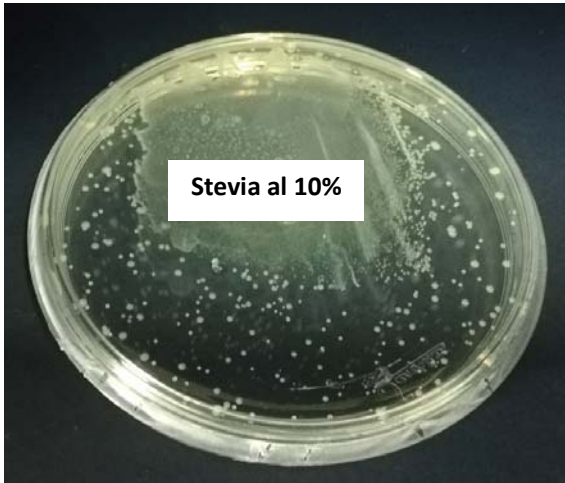


ANEXO 5. Frascos conteniendo el gel *Stevia Rebaudiana* diferentes concentraciones y el gel de clorhexidina al 0.12% para evaluar su actividad frente a *Streptococcus mutans* ATCC

Anexo 6. Tubos con SSFe usados para realizar las diluciones.



Figura 3: Colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que crecieron en medio MH usadas para el recuento expresado en UFC/ml.



Anexo 8:

DECLARACIÓN JURADA

Yo, Gina Jaela Quispe Daza Identificado con D.N.I. 48053271, alumno de pregrado de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, autor(a) de la Tesis titulada: **“COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL GEL DE HOJAS DE *Stevia rebaudiana* (STEVIA) Y GEL DE CLORHEXIDINA AL 0.12% FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175 –DISTRITO DE TRUJILLO, PROVINCIA DE TRUJILLO, DEPARTAMENTO DE LALIBERTAD, 2019”** DECLARO BAJO JURAMENTO QUE LA TESIS NO PRESENTA CONFLICTO DE INTERESES NI ECONOMICOS, NI INSTITUCIONALE.

1. El presente trabajo de investigación, tema de la tesis presentada para la obtención del Título de Cirujano Dentista es original, siendo resultado de mi trabajo personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, fórmulas, ni citas completas “stricto sensu”; así como ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa). Caso contrario, menciono de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

2. Declaro que el trabajo de investigación que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno.

3. Soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en la tesis, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Asimismo, me hago responsable ante la universidad o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado.

De identificarse falsificación, plagio, fraude, o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, responsabilizándome por todas las cargas pecuniarias o legales que se deriven de ello sometiéndome a la normas establecidas y vigentes de la ULADECH.



Trujillo, 22 de mayo del 2021

FIRMA

DNI: 4805327