



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DEL *Lactobacillus plantarum* SOBRE LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans*, -PUNO**

**2022**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. PEDRO ANCCO RAMOS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2023**



## Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**EFFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE  
L Lactobacillus plantarum SOBRE LAS C  
EPAS DE Streptococcus mutans,**

AUTOR

**PEDRO ANCCO RAMOS**

RECuento DE PALABRAS

**14976 Words**

RECuento DE CARACTERES

**83325 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**98 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**13.0MB**

FECHA DE ENTREGA

**Apr 19, 2023 12:35 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Apr 19, 2023 12:37 PM GMT-5**

### ● 15% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 15% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)



Firmado digitalmente por  
CERVANTES ALAGON Sheyla Lenna  
FAL 20145496170 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 19.04.2023 12:40:06 -05:00

Resumen



## DEDICATORIA

*Dedicado primeramente al señor de arriba, de la misma manera a mí familia los cuales me apoyaron incondicionalmente para poder culminar este trayecto en mi vida universitaria; mis tías y a papio quienes me formaron para ser lo que soy ahora, a mis primos que siempre estuvieron para guiarme y apóyame en la culminación de mi formación profesional y que continuare haciéndolo.*

***Pedro Ancco Ramos***



## AGRADECIMIENTOS

*Mi agradecimiento primeramente a la Dra. Tania Carola Padilla Cáceres por compartir sus conocimientos y por inspirarme en empezar con este maravilloso trabajo de investigación.*

*A mi asesor Dra. Sheyla Lenna Cervantes Alagón por estar presente en todo momento con sus conocimientos, disponibilidad en todo tiempo y también en guiarme en la elaboración de este estudio de investigación.*

*Agradecer al médico Dr. Pablo por darme la facilidad de que este proyecto se haga realidad.*

*Al Lic. Lorgio Palacios Frisancho compartir sus conocimientos, guiarme en el proceso de la investigación y por darme facilidad en la culminación de mi investigación.*

*A mis jurados la Dra. Kandy F. Tueros Chirinos, Dra. Betsy Quispe Quispe y al Dr. Yhony R. Rodriguez Mamani por compartir sus conocimientos, por darme las correcciones pertinentes en su oportunidad y por la culminación de este trabajo.*

*A mis amigas Min, Dani y Rous por compartir sus conocimientos y apoyarme en mi proyecto cuando los necesitaba.*

*A cada uno de ellos los agradezco infinitamente porque promovieron en mi las ansias de mejorar y el deseo de triunfar en la vida, lo que aportó en la cumbre de este trabajo.*

**Pedro Ancco Ramos**



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURA**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

<b>RESUMEN .....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>12</b>

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

<b>1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>14</b>
1.2.1. Hipótesis general .....	14
1.2.2. Hipótesis específica.....	14
<b>1.3. OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
1.3.1. Objetivo general .....	15
1.3.2. Objetivos específicos.....	15

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LA LITERATURA**

<b>2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>17</b>
2.1.1 Antecedentes internacionales .....	17
2.1.2. Antecedentes nacionales.....	29
2.1.3. Antecedentes locales .....	29
<b>2.2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>30</b>



2.2.1. <i>Streptococcus mutans</i> .....	30
2.2.2. Probióticos.....	32
2.2.3. <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	34
2.2.4 Medios de cultivo .....	39

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

<b>3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO .....</b>	<b>42</b>
3.1.1. Ámbito general.....	42
3.1.2. Ámbito específico.....	43
<b>3.2. PERIODO Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.....</b>	<b>43</b>
<b>3.3. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>43</b>
3.3.1. Población.....	44
3.3.2. Muestra.....	44
<b>3.4. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA .....</b>	<b>44</b>
3.4.1. Criterios de inclusión.....	44
3.4.2. Criterios de exclusión.....	44
<b>3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LA MUESTRA.....</b>	<b>45</b>
<b>3.6. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....</b>	<b>45</b>
3.6.1. Técnica .....	45
<b>3.7. INSTRUMENTOS .....</b>	<b>46</b>
<b>3.8. MATERIALES.....</b>	<b>46</b>
<b>3.9. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....</b>	<b>49</b>
3.9.1. Obtención de la Bacteria <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	49
3.9.2. Preparación del <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	49
3.9.3. Preparación del agar .....	50



3.9.4. Siembra de la muestra.....	50
3.9.5. Elaboración de las concentraciones del <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	51
3.9.6. Preparación del Agar Mitis salivarius para la replicación.....	51
3.9.7. Preparación del medio de cultivo agar sangre para la replicación .....	52
3.9.8. Siembra de las muestras .....	53
3.9.9. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de difusión en Agar según Kirby Bauer .....	54
3.9.10. Recolección de datos .....	56
3.9.11. Análisis estadístico .....	56
3.9.12. Consideraciones éticas.....	56

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>4.1. RESULTADOS .....</b>	<b>58</b>
<b>4.2 DISCUSIÓN .....</b>	<b>67</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>70</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>71</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

**Área** : Ciencias Medicas

**Línea** : Salud pública y ocupacional

**Fecha de Sustentación:** 21 de abril del 2023



## ÍNDICE DE FIGURA

- Figura 1.** “Prueba estadística de contraste de Tukey del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de *Lactobacillus plantarum* sobre el microorganismo *Streptococcus mutans* a las 24 horas” ..... 60
- Figura 2.** “Prueba estadística de contraste de Tukey del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de *Lactobacillus plantarum* sobre el microorganismo *Streptococcus mutans* a las 48 horas” ..... 63
- Figura 3.** “Prueba estadística de contraste de Duncan del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de *Lactobacillus plantarum* sobre el microorganismo *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas” ..... 66





## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	“Efecto antimicrobiano del <i>Lactobacillus plantarum</i> en concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento sobre el microorganismo <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas” .....	58
<b>Tabla 2.</b>	“Efecto antimicrobiano del <i>Lactobacillus plantarum</i> en concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento sobre el microorganismo <i>Streptococcus mutans</i> a las 48 horas” .....	61
<b>Tabla 3.</b>	“Prueba estadística de contraste de promedios de Duncan del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de <i>Lactobacillus plantarum</i> y los controles positivo y negativo sobre el microorganismo <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 y 48 horas” .....	64



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**SM:** “*Streptococcus mutans*”.

**Lp. LTA :** “*Lactobacillus plantarum* con ácido lipoteicoico “.

**FMI-UNA PUNO:** “Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno”.

**PH:** “Potencial de hidrogenación”.

**FAO:** “Organización para la Agricultura y la Alimentación”.

**EPS:** “exopolisacárido”.

**OMS:** “Organización mundial de la salud”.

**UFC:** “Unidades Formadores de Colonias”.



## RESUMEN

**Objetivo:** La investigación tuvo como propósito determinar el efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas del *Streptococcus mutans* Puno, -2022. **Materiales y Métodos:** Fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal, la muestra estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* que fueron cultivadas en 30 placas Petri, distribuidas en 6 discos de difusión (repeticiones) es decir 180 discos, de las cuales se dividieron en 4 grupos por bacteria, según las concentraciones 25%, 50%, 75%, 100% del fermento del *Lactobacillus plantarum*; para la obtención del efecto antimicrobiano se utilizaron el método de Mac Farlan para la dilución de la carga bacteriana al 0.1 de turbidez y el método de Kirby Bauer para ver la sensibilidad del halo de inhibición, considerando a la clorhexidina al 0.12% como su control positivo. El análisis de datos se realizó con las pruebas de estadísticas de T student para la dispersión de datos; la prueba de rangos múltiples de Duncan, siendo un procedimiento utilizado para realizar comparaciones múltiples de medias y las pruebas de Tukey para la comparación por grupos. **Resultados:** El mayor efecto antimicrobiano lo registro el fermento de *Lactobacillus plantarum* al 100% a las 24 horas con 14.39 mm halos de inhibición antimicrobiana, el menor promedio lo obtiene el fermento de *Lactobacillus plantarum* a una concentración 25% de 9.22mm a las 24 horas halos de inhibición antimicrobiana, entonces a mayor concentración mayor efecto y en 24 horas mejor resultado inhibidor.

**Palabras claves:** Antimicrobiano; *Caries*; *Lactobacillus plantarum*; *Probióticos*; *Streptococcus mutans*.



## ABSTRACT

**Objective:** The purpose of the research was to determine the antimicrobial effect of *Lactobacillus plantarum* on the strains of *Streptococcus mutans* Puno, -2022.

**Materials and Methods:** It was of an experimental, prospective and longitudinal type, the sample consisted of strains of *Streptococcus mutans* that were cultivated in 30 Petri dishes, distributed in 6 diffusion discs (replicates), that is, 180 discs, of which they were divided into 4 groups per bacterium, according to the concentrations 25%, 50%, 75%, 100% of the *Lactobacillus plantarum* ferment; To obtain the antimicrobial effect, the Mac Farlan method was used to dilute the bacterial load to 0.1 turbidity and the Kirby Bauer method to see the sensitivity of the inhibition halo, considering 0.12% chlorhexidine as its positive control. Data analysis was performed using the T student statistics tests for data dispersion; Duncan's multiple range test, being a procedure used to perform multiple comparisons of means, and Tukey's tests for group comparisons.

**Results:** The greatest antimicrobial effect was recorded by the 100% *Lactobacillus plantarum* ferment at 24 hours with 14.39 mm halos of antimicrobial inhibition, the lowest average was obtained by the *Lactobacillus plantarum* ferment at a 25% concentration of 9.22mm at 24 hours. halos of antimicrobial inhibition, so the higher the concentration, the greater the effect and, in 24 hours, the better inhibitory result.

**Keywords:** Antimicrobial; Caries; *Lactobacillus plantarum*; Probióticos; *Streptococcus mutans*.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Existe un factor común entre toda la población que está dada en la cavidad bucal del ser humana donde el ambiente es húmedo que tiene las temperaturas estables entre 34° y 37° y el PH salival estable que está cerca al neutral.

Con lo cual unos aproximadamente más de 6 mil millones de bacterias viven en la cavidad bucal, que tienen presente unas 700 especies diferentes de entre hongos, microplasma, protozoos y virus. Siendo el *Streptococcus mutans* los principales colonizadores.(1)

La caries es uno de las infecciosas bacterianas también más común que afecta entre la mayoría a adultos y niños. Otros autores lo consideran como una enfermedad endógena que resulta del desequilibrio homeostático entre el huésped y microbiota.(2)

Por otra parte, los probióticos según el concepto de la (OMS) son “microorganismos vivos, que cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador ”(3)

La totalidad de estas bacterias probióticas van a corresponden al grupo de *Lactobacillus o bifidobacterium* las cuales éstas se agregan a jugos probióticos o jugos de yogurt.

El *Lactobacillus plantarum* es una de las bacterias que se asocia con una fuerte actividad antimicrobiana por la naturaleza de sus sustancias inhibidoras de la especie *Lactobacillus* orales (4) que permanece en gran parte por caracterizar al peróxido de hidrogeno ,las enzimas bacteriolíticas, las bacteriocinas, bisulfantes entre otros encargadas en inhibir al *Streptococcus mutans* que es el principal causante de la caries.(5)



Estudios en la actualidad han revelado que los productos probióticos jugaran un papel importante en la salud bucal y pueden mejorar la microflora oral al cambiar la composición proteica del biofilms. Con lo cual sea estimulado a la investigación del efecto anti caries de los probióticos en los últimos años en el continente asiático.(1)

El objetivo de esta investigación consistirá en la comparación del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* en las concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento,75 por ciento y al 100 por ciento sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

## 1.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existirá efecto antimicrobiano in vitro del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas *Streptococcus mutans*?

## 1.2. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.2.1. Hipótesis general

#### 1.2.1.1. Hipótesis de investigación

“El *Lactobacillus plantarum* posee efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno 2022”.

#### 1.2.1.2. Hipótesis nula

“El *Lactobacillus plantarum*. no posee efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno 2022”.

### 1.2.2. Hipótesis específica

- “Existe diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum*. al 25 por ciento, 50 por ciento,75 por ciento y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* a las 24 horas”.
- “Existe diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum*. al 25 por ciento, 50 por ciento,75 por ciento y al 100 por ciento sobre el



- Streptococcus mutans* a las 48 horas”.
- “Existe diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum*. al 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas”.
  - “Existe diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum*. al 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* con su control positivo y el control negativo a las 24 y 48 horas”.

### 1.3. OBJETIVOS

#### 1.3.1. Objetivo general

- “Determinar el efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas de *Streptococcus mutans* Puno – 2022”.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- “Determinar el efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* a concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* a sus 24 horas”.
- “Determinar el efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* a concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* a sus 48 horas”.
- “Comparar la diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* a concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas”.



- “Comparar la diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* a concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, y al 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* con su control positivo y el control negativo a las 24 y 48 horas”.





## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

##### 2.1.1. Antecedentes internacionales

Zeng Y., Fadaak A., Alomeir N., Tong T., Rustchenko E., Qing S., Bao J., Gilbert C., X (2022). Rochester, NY, United States. En este estudio evaluaron el efecto de cuatro cepas probióticas de *Lactobacillus* “*Lactobacillus rhamnosus* código 2836, *Lactobacillus plantarum* - código 8014, *Lactobacillus plantarum* - código 14917 y *Lactobacillus salivarius* - código 11741 “en *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* utilizando un completo de biopelícula multiespecie que simulaba condiciones clínicas de alto riesgo de caries. El análisis del transcriptoma (secuenciación de ARN) reveló además la interrupción de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* interacciones entre reinos con *Lactobacillus plantarum* añadido. Los genes de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* implicados en las vías metabólicas (p. ej., formación de EPS, metabolismo de carbohidratos, biosíntesis de glicanos y metabolismo) se redujeron significativamente. Más significativamente, los genes relacionados con la resistencia de *Cándida albicans* a la medicación antifúngica (ERG4), la remodelación de quitina de la pared celular fúngica (CHT2) y la resistencia al estrés oxidativo (CAT1) también se redujeron significativamente. Por el contrario, los genes plnD, plnG y plnN de *Lactobacillus* que contribuyen a la producción de péptido antimicrobiano plantaricina se regularon significativamente. Los hallazgos de nuestro nuevo estudio respaldan una evaluación adicional del papel potencial del probiótico *Lactobacillus plantarum* para el control de biopelículas cariogénicas. Resultando que *Lactobacillus plantarum* 8014 y 14917 inhibieron



*Streptococcus mutans* en las biopelículas a un nivel no detectable (<20 CFU/ml) tan pronto como a las 48 h, y las biopelículas tratadas siguieron siendo *Streptococcus mutans* no detectables (<20 CFU/ml.) a las 72 horas. (6)

**Gònczi N., Strang O., Bagi Z., Rakhely G., Kovàcs K. (2021). Szeged, Hungary.** En este estudio se investigó las interacciones individuales entre 8 cepas patógenas y 8 probióticas y un producto probiótico comercialmente disponible. Casi todos los patógenos, a saber, “*Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii*, *Enterococcus faecalis* y *Prevotella buccae* “son patógenos frecuentemente en la cavidad bucal. Las cepas probióticas utilizadas fueron “*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus del brueckii*, *Bifidobacterium Thermophilum* y dos *Streptococcus dentisani* aislamientos”. Utilizando un método de difusión en agar modificado, investigamos la capacidad de las bacterias probióticas para prevenir el crecimiento de las patógenas con el fin de identificar candidatos para futuros tratamientos terapéuticos. Los resultados indicaron una producción exitosa de bacteriocinas, es decir, inhibición del crecimiento, contra cada bacteria patógena por al menos 5 cepas probióticas.(1)

**Lee D., Im J., Hyun P., Jeong S., Yeong S., Park M., Yoon S., Jaewoong P., Hyun S. (2021). Seoul, korea del sur.** En el presente estudio, aislaron Lp.LTA de cuatro cepas diferentes de *Lactobacillus plantarum* (LRCC 5193, 5194, 5195 y 5310) y comparamos sus efectos anti biofilms en los patógenos dentales, incluido *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus gordonii*. Las bacterias se cultivaron en caldos MRS (Difca Laboratories) durante 48h a 37°C en una botella tapada sin agitación. Se utilizó un



total de 12 cepas de bacterias patógenas dentales, incluido cuatro cepas de *E. faecalis*, *S. gordonii* y *S. mutans*, para determinar el efecto regulador de Lp. LTA en la formación de biopelículas. Todas las bacterias patógenas dentales se cultivaron en medio Todd-Hewitt (Difco Laboratories) suplemento con extracto de levadura al 1% (Difco Laboratories; THY) a 37°C con agitación o estática en condiciones aeróbicas. Resultando que la evaluación del efecto de Lp.LTA en la colonización de biofilm de *Streptococcus mutans* y descubrimos que las formaciones de biopelículas de cuatro cepas de *Streptococcus mutans* se inhibieron de manera efectiva con 30 µg/ml de tratamiento con LRCC 5310 Lp.LTA. Además, LRCC 5310 Lp.LTA fue el más eficaz para controlar la formación de biopelículas de patógenos dentales y su actividad anti biopelícula se debe a la disminución del número de bacterias dentro de la biopelícula. (7)

**Dadgar S., Heydarian A., Sobouti F., Goli H, Rakhhan V, Heidari M., (2021), Tehran, Iran.** El proyecto de estudio fue comparar el efecto del enjuague bucal probiótico experimental *Lactobacillus plantarum* versus enjuagues bucales con fluoruro de sodio y placebo en el conteo de *Streptococcus mutans* presentes en la placa bacteriana alrededor de los Brackets de ortodoncia en pacientes con ortodoncia fija. Participan un total de 38 pacientes, 12 pacientes en el grupo de fluoruro, 13 en el de probiótico y 12 en el grupo de placebo. Se les dio enjuagues bucales para usar dos veces al día durante 2 semanas. El muestreo de placa se realizó mediante la técnica de 4 pases en los tres grupos en dos etapas: antes de la intervención y después de 2 semanas de uso del enjuague bucal. Luego se informó conteo de bacterias presentes en la placa bacteriana en base al número de colonias cultivadas en medio de agar. Wilcoxon ( $\alpha = 0,05$ ). Resultando después de la intervención, el conteo de *Streptococcus mutans* presentes en la placa bacteriana



siguió un aumento en los grupos de placebo ( $P = 0,005$ ) y probiótico ( $P = 0,158$ ) y disminuyó en el grupo de fluoruro ( $P = 0,025$ ). Conclusión El enjuague bucal probiótico *Lactobacillus plantarum* fue ineficaz en la disminución de *Streptococcus mutans* en la placa dura en la cavidad oral. Sin embargo, el enjuague bucal con flúor es considerablemente efectivo contra *Streptococcus mutans* y, por lo tanto, se recomienda. (8)

**Zhang Q., Qin S., Xu X., Zhao J., Zhang H., Liu Z., Chen W. (2020). Jiangsu, China.** La finalidad de este estudio de investigación fue explorar el efecto de *Lactobacillus plantarum* CCFM8724 (CCFM8724) en el tratamiento y prevención de la caries dental inducida por *Streptococcus mutans* y *C. albicans* in vivo. Las ratas se partieron en 6 conjuntos: el grupo de control y el grupo modelo, 2 grupos de tratamiento y 2 grupos de prevención (clorhexidina al 0,02 % o CCFM8724). La fluctuación de la colonización microbiana y el cambio de la flora bacterias en la cavidad oral de la rata después de la siembra de *L. plantarum* CCFM8724 fueron investigados por (UFC) y análisis de microflora. La caries de las ratas se evaluó mediante microtomografía computarizada (micro-CT) y el método de puntuación de Keyes. Los resultados mostraron que *L. plantarum* CCFM8724 en

Los grupos de tratamiento y prevención podría disminuir significativamente la población de *Streptococcus mutans* y *C. albicans* en la cavidad oral de las ratas, la pérdida de minerales del esmalte, y las puntuaciones de caries. Además, *L. plantarum* CCFM8724 exhibió mejores efectos que la clorhexidina. Concluyendo que demostró que *L. plantarum* CCFM8724 es un probiótico oral potencial en el tratamiento y prevención de caries in vivo y puede tener la perspectiva de aplicación en productos de prevención de caries dental. (3)



**Zhang G., Lu M., Liu R.; Tian Y., Ha V., Li Y., liu B., Kushmaro A., Li Y., Sol Q. (2020). Beersheba, Israel.** El objetivo de este estudio fue examinar las cepas de *Lactobacillus* que se encuentran en los encurtidos tradicionales de Sichuan y evaluar sus propiedades antagonicas frente a *Streptococcus mutans* in vitro e in vivo. En el estudio actual, analizamos 54 cepas de *Lactobacillus* aisladas de pepinillos y encontramos que la cepa *L. plantarum* K41 manifestó el positivo efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, así como sobre la formación de partículas exopolisacáridos (EPS) y biopelículas in vitro. La microscopía electrónica de barrido y barrido láser con focal (CLSM) revelaron la reducción tanto del EPS como de la estructura similar a una red en el biofilms de *Streptococcus mutans* cuando estas bacterias se cultivaron conjuntamente con la cepa *L. plantarum* K41. Además, cuando las ratas fueron tratadas con la cepa *L. plantarum* K41, hubo un decrecimiento significativo en la incidencia y rigor de la caries dental. Debido a su origen en un ambiente de alta salinidad, K41 mostró una alta tolerancia a ácidos y sales. Esto puede dar a esta cepa una ventaja en condiciones orales duras. Los resultados mostraron que *L. plantarum* K41 aislado de los encurtidos tradicionales de Sichuan inhibió eficazmente la formación de biopelículas de *Streptococcus mutans* y, por lo tanto, posee un efecto inhibitor potencial sobre la caries dental in vivo. (2)

**Karimi N., Jabbari V., Nazemi A., Ganbarov K., Karimi N., Tanomand A., karimí S., Abbasi A., Yousefi B., Khodadadi E., Kafil. (2020). Tabris, Iran.** El objetivo de estudio de investigación fue identificar los *Lactobacilos* orales en periodontitis crónica y en sujetos con periodoncia sana, y establecer su actividad antimicrobiana contra patógenos bucales putativos. Se recolectaron un total de 238 aislamientos de *Lactobacillus* de la saliva y sitios



subgingivales de 20 periodontitis crónica y 15 sujetos sanos. En total, se identificaron 115 cepas mediante análisis de restricción de ADN ribosómico amplificado rápido. Se evaluó la actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Identificaron *Lactobacilos* pertenecientes a 10 especies. Las cepas más prevalentes en personas sanas fueron *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus fermentum* y en pacientes con periodontitis crónica, *Lactobacillus plantarum*. Los homofermentadores obligados, particularmente *L. gasseri*, fueron menos prevalentes en pacientes con periodontitis crónica en comparación con sujetos sanos (8% de frente a 64% para *L. gasseri*,  $P < 0,01$ ). 69 % de los laboratorios reporto eficiencia en la inhibición en el *Streptococcus mutans*, 88% *A. atinomycetemcomitans*, 82% *P.gingivalis* y 65% *P. intermedia*. La actividad antibacteriana o antimicrobiana más intensa se relacionó con *Lactobacillus paracasei*, *L. plantarums*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus salivarius*. Las cepas de pacientes periodontalmente sanos mostraron una menor actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans* que las cepas de individuos con periodontitis crónica. Concluyendo Tanto los lactobacilos orales homofermentadores como los heterofermentadores suprimen el crecimiento de los patógenos periodontales, pero las propiedades antimicrobianas son específicas de la cepa, la especie y el origen. (9)

**Zhang Q., Qin S., Huang Y., Xu X., Zhao J., Zhang H., Chen. (2020). Jiangsu, China.** Este estudio tuvo como principio determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus plantarum* FB-T9 sobre la colonización de biopelículas de *Streptococcus mutans* in vitro y sobre la prevención y la disminución de la caries dental en ratas. En un estudio in vivo de 70 días de experimento, FB-T9 redujo



significativamente los niveles de *S. mutans* en las superficies dentales de las ratas en más de 2 órdenes de magnitud de los niveles en el grupo modelo de caries dental ( $p < 0,05$ ). Además, FB-T9 redujo significativamente las puntuaciones de caries (método de puntuación de Keyes modificado) tanto en el grupo de prevención como en el de tratamiento ( $p < 0,05$ ) y tuvo un gran potencial de colonización en la cavidad oral. Estos resultados indican la utilidad potencial de *L. plantarum* FB-T9 como probiótico para la prevención y tratamiento de caries. (5)

**Srivastava N., Ellepolla K., Venkiteswaran N., Ann L., Ohshima T., Jayampath C. (2020). Singapur, Singapur.** La presente investigación tuvo como principio de estudio evaluar la eficacia de los componentes secretores de *Lactobacillus plantarum* 108, una cepa probiótica potencialmente prometedora, frente a biopelículas de especies únicas y mixtas de *Streptococcus mutans* y *C. albicans*. Sobrenadante de *L. plantarum* 108 inhibido Biopelículas de una sola especie de *Streptococcus mutans* y *C. albicans* como se muestra en el ensayo de reducción de XTT, el ensayo de cristal violeta y el c de unidades formadoras de colonias. El sobrenadante probiótico inhibió significativamente la formación de biopelículas de especies mixtas de *Streptococcus mutans* y *C. albicans*. Las biopelículas de especies mixtas preformadas también se redujeron con éxito. Los datos demuestran capacidad del sobrenadante de *L. plantarum* 108 para inhibir las biopelículas de especies mixtas de *Streptococcus mutans* y *C. albicans* y puede prevenir biopelículas de especies mixtas bacterianas y fúngicas asociadas con la caries dental. Concluyendo que el presente estudio demostró la capacidad del sobrenadante de *L. plantarum* 108 para inhibir la formación de biopelículas de especies únicas y mixtas de *Streptococcus mutans* y *C. albicans*. (10)



**Kim A., Ahn K., Yun C., Yoo Y., Kum K., Han S. (2019). Seoul, Korea del sur.** En este estudio, investigaron si el ácido lipoteicoico (Lp.LTA) de *Lactobacillus Plantarum* podría inhibir la formación de biopelículas bacterianas patógenas orales multiespecíficas. Métodos se cultivaron *Lactobacillus salivarius*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus mutans* y *Enterococos faecalis* para formar una biofilm multiespecie oral en presencia o ausencia de Lp.LTA en placas de cultivo o cortes de dentina humana. El biofilms preformado se trató con o sin Lp.LTA, seguido de un tratamiento adicional con medicamentos intracanal como hidróxido de calcio o digluconato de clorhexidina. Se realizaron microscopía con focal y ensayo de cristal violeta para determinar la formación de biopelículas. La biopelícula en cortes de dentina humana se visualizó con un microscopio electrónico de barrido. Resultando Lp.LTA disminuyo el desarrollo de biofilm de bacterias multiespecies en las placas de sembrado de forma independiente de la dosis en relacion con el grupo de control sin tratamiento. Lp.LTA también inhibió la formación de biopelículas multiespecíficas en los cortes de dentina de forma dependiente de la dosis. Curiosamente, se demostró que Lp.LTA reduce el biofilm multiespecies preformado en comparación con el grupo sin tratamiento. Además, Lp.LTA potenció la eficacia de los medicamentos intracanal en la eliminación de biopelículas multiespecíficas preformadas. (11)

**Bum K., Eun J., Jin P., Heui C., Hyun S. (2018). Seoul, Korea del sur.** En este estudio se demostró que el ácido lipoteicoico (Lp.LTA) de *Lactobacillus plantarum* inhibía la formación de biopelículas de *Streptococcus mutans* en placas de poliestireno, discos de hidroxiapatita y láminas de dentina sin afectar el crecimiento bacteriano.

Lp.LTA interfiere con la descomposición de sacarosa de *Streptococcus*





*mutans* necesaria para la producción de exopolisacárido, que es un componente principal de la biopelícula. Resultando Los sobrenadantes de cultivo de lactobacilos tales como *L. plantarum*, *Lactobacillus helveticus* y *L. acidophilus*. Los *lactobacillus plantarum* inhibió *Streptococcus mutans* biopelícula de una manera dependiente de la dosis. Concluyendo que demostramos que LTA liberado de *L. plantarum* inhibió la formación de biopelículas de *Streptococcus mutans*, un patógeno representativo que da principio de la caries dental. (12)

**Wasfi R., abd El-Rahman M., Zafer M., Ashour H. (2018). Giza, Egipto.**

El objetivo de este estudio fue ver el probiótico lactobacillus sp. Inhibe el crecimiento, la formación de biopelículas y la expresión genética de *Streptococcus mutans* que induce caries. Materiales y métodos: La actividad antimicrobiana de *Lactobacillus* sp. Sobre *Streptococcus mutans* se desarrolló mediante un método de difusión en agar adaptado del utilizado por Cadirci y Citak. *Streptococcus mutans* se incubó en infusión cerebro y del corazón (BHI) a 37 °Centigrados durante 24 horas y lo mismo ocurrió con el *Lactobacillus* sp. Resultando que la familia de los *Lactobacillus* sp. Mostro un efecto de reducción significativo sobre el desarrollo del *Streptococcus mutans*; En conclusión, *Lactobacillus* sp. los probióticos han confirmado ser eficientes en el tratamiento de ciertos trastornos gastrointestinales. *Lactobacillus* sp. Los probióticos posiblemente podrían controlar la caries dental usando mecanismos similares que pueden jugar contra las estrategias de invasión de *Streptococcus mutans*. Esto se debe a que la familia de los *Lactobacillus* sp. demostraron ser factibles de producir ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas e inhibidores de adhesión.(13)

**Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H. (2017). Zhejang, China. El**



propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de los *Lactobacillus* probióticos en *Streptococcus mutans* (SM) y biofilms multiespecies separadas de niños con caries severa.

Materiales y métodos: Veinte niños con caries activa (DMFS  $\geq 6$ ) fueron seleccionados como grupo experimental y se aisló *Streptococcus mutans* (MS) de su saliva. Después de la identificación, las cepas de MS se mezclaron con lactobacilos a 37 °C, después de lo cual se contaron las colonias de MS viables. Al mismo tiempo, las placas dentales de los niños se mezclaron con *Lactobacilos* in vitro para formar biopelículas, y se enumeró la población de nueve cepas comunes en las biopelículas después de 24 horas de crecimiento. Resultando que “*Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus casei* LC01, *Lactobacillus plantarum* ST-III y *Lactobacillus paracasei* LPC37” tuvieron fuertes efectos inhibidores en la mayoría de las *Streptococcus mutans* aislados de infantes con caries activa, con una tasa de inhibición que alcanzo aproximadamente el 70 – 90% ( $p < 0,05$ ). “*L. casei* Shirota, *L. casei*-LC01, *L. plantarum*-ST- III, *L. paracasei*-LPC37” también redujeron enormemente el número de “SM, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus sanguinis*” y bacterias totales en biopelículas mixtas en relación con el grupo de control ( $p < 0,05$ ). Concluyeron que los cuatro tipos de *Lactobacilos* fueron capaces de inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* y tuvieron efectos sobre la composición de las biopelículas bacterianas in vitro. La ingestión de probióticos puede ser un método prometedor para la prevención de caries. (14)

**Kaktcham P., Zambou N., Tchouanguiep F., El-soda M., Choudhary M. (2012). Dschang, Camerun.** En el presente estudio se caracterizaron e identificaron *lactobacilos* con actividad antagónica aislados de “Kossam” y “Sha'a”. También se evaluó la producción de bacteriocinas, así como algunas



propiedades de seguridad, como la susceptibilidad a los antibióticos, la hemólisis y las actividades de gelatinasa. se probaron su potencial bacteriocinogénico y sus propiedades de seguridad. Estos aislamientos fueron identificados preliminarmente como *Lactobacillus plantarum* (62%), *Lactobacillus rhamnosus* (24%), *Lactobacillus fermentum* (10) y *Lactobacillus coprophilus* (4) basado en características fenotípicas y huellas dactilares genómicas rep-PCR. Doce (57,1%) de las 21 cepas analizadas resultaron ser productoras de bacteriocinas, como lo revela la sensibilidad de sus sustancias antimicrobianas a las enzimas proteolíticas (tripsina, proteinasa K) y la inhibición de otras *Lactobacillus spp.*. Estas cepas bacteriocinogénicas no mostraron actividades hemolíticas y gelatinasa positivas y demostraron ser sensibles a penicilina G, ampicilina, tetraciclina, eritromicina, amoxicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol y doxiciclina, pero resistentes a ciprofloxacino y gentamicina. Las bacteriocinas revelaron una amplia actividad de disminución frente a bacterias patógenas Gram-positivas y Gram-negativas, varias de las cuales están catalogadas como especialmente peligrosas por la Organización Mundial de la Salud, así como frente a cepas multirresistentes. Estos incluyen “*Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica sub sp. enterica serovare Typhi*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Shigella flexneri*”. Estas cepas de *Lactobacillus* son candidatas prometedoras para su uso como cultivos protectores en la fermentación de alimentos. (15)

**Teanpaisan R., Piwat S., Dahèn G. (2011). Songkla, Tailandia.** El objetivo de este estudio fue determinar el efecto inhibitorio del *Lactobacillus* oral contra patógenos orales putativos. Un total de 357 cepas que corresponden 10 especies de *Lactobacillus* oral, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*,



*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasei*, *Lactobacillus rhamnosis*, *Lactobacillus paracasei*, Se utilizaron como cepas productoras *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus oris*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus vaginalis* . Se evaluó el efecto inhibitor frente a un panel de indicadores, patógenos relacionados con la periodontitis y la caries. la mayoría oral *Lactobacillus* pudo inhibir el crecimiento de patógenos relacionados con la periodontitis y la caries. La alta eficacia inhibitoria va estar comprendida con *Lact. paracasei*, *Lact. plantarum*, *Lact. ramnosus*, *Lact. casei* y *Lact. salivario*. *Lactobacillus SD1–SD6*, que representa las seis especies con un fuerte efecto inhibitor, inhibió el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en el modelo de biopelícula. Además, se demostró que el crecimiento de *Streptococcus mutans* fue inhibida en una mezcla con *Lact. paracasei* SD1. La inhibición se potenció en condiciones ácidas y glucosa al 5%. Conclusiones: Los resultados han demostrado que *Lactobacillus* SD1-SD6 oral mostró un fuerte efecto inhibitor contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, así como, patógenos periodontales Gram-negativos *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* .(4)

**Hasslöf P., Hedberg M., Twetman S., Blicks C. (2010). Turku, Finlandia.** El objetivo de trabajo de estudio fue investigar la competencia de una clasificación de grupos de *Lactobacillus*, utilizadas en insumos probióticos disponibles al público, para inhibir o disminuir la colonización de *Streptococcus* orales *mutans* y *C. albicans* in vitro. Método se analizó la inhibición de crecimiento de ocho cepas lactobacilos probióticos en 3 cepas sembrado y separación y 2 separamientos clínicos de *Streptococcus mutans*, así también en dos grupos de cepas de referencia y tres sembrado y separación clínicos de *Cándida albicans* con la metodología de estudio de superposición de agar.



Obteniendo en aglomeraciones de colonias que oscilan entre  $10^9$  y  $10^5$  UFC/ml, la gran mayoría de *Lactobacillus* inhiben y disminuyen grandemente el desarrollo de los *Streptococcus mutans* con la particularidad de *Lactobacillus acidophilus* la que ejecuta solo un poco de eliminación y disminución de pocas colonias a concentraciones proporcionados  $10^7$  y  $10^5$  UFC/ml. En las aglomeraciones bajas de células ( $10^3$  CFU/ml), los únicos *Lactobacillus plantarum* -299v y *L.rhamnosus*- LB21, *L.paracasei*- F19 observación un poco inhibición total del crecimiento, mientras q la *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19 observaron una ligera inhibición para las cinco colonias de “*Streptococcus mutans*, *L. reuteri* PTA 5289 y *L. reuterii* ATCC 55730”. Todos los grupos de cepas de *Lactobacillus* probadas redujeron el desarrollo de *Cándida*, pero el resultado fue colectivamente más débil que para los *Streptococcus mutans*. Las dos colonias de “*Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730” resultaron la mayor disminución de *Cándida albicans*. Donde no se visualizó grandes disconformidades significativas entre las cepas de sembrado y separación (referencia) y los aislados clínicos. Conclusión las cepas probióticas seleccionados mostraron una capacidad significativa, pero algo variable para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* in vitro (16)

### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

No se hallaron antecedentes nacionales.

### **2.1.3. Antecedentes locales**

No se hallaron antecedentes de la localidad.



## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* es un tipo de bacteria Gram positiva descrita por Clark en 1924. (8)

*Streptococcus mutans* es una bacteria acidogénica que forma una biopelícula de placa virolenta en la superficie del diente. (5,13) Proporcionando un medio ácido en el que prosperan los microorganismos asociados en las caries. (3)(8) La bacteria *Streptococcus mutans* ha sido identificado como el principal contribuyente a la caries dental. (13)(2)(3)(9)

#### 2.2.1.1. Bacterias patológicas orales

En la cavidad humana es un ambiente húmedo que tiene relativamente temperatura estable entre 34 y 37° y pH que está cerca del neutral. Gracias a esto la microbiota es muy rica. Con lo cual al menos unos 6 mil millones de bacterias viven en la cavidad bucal, que albergan entre 700 especies diferentes entre hongos mico plasmas, protozoos, y virus siendo los *Streptococcus mutans* los principales colonizadores. (1)

La cavidad bucal es un beneficioso ecosistema y habitado por bacterias y hongos, que ocupan y coexisten colectivamente dentro varios nichos con comunidades de biopelículas. (12)

#### 2.2.1.2. Caries dental

La caries dental es un padecimiento infeccioso bacteriana que puede afectar la salud de adultos y niños. La caries dental es una enfermedad endógena que resulta del desequilibrio homeostático entre el huésped y microbiota. (13)(11)(3)(9) Más prevalentes y costosas que afectan a la mayor parte de la



población mundial. En particular, la caries dental es impulsada por la disbiosis de los dientes. biopelícula adherida a la superficie del esmalte. Tipos específicos de bacterias productoras de ácido, especialmente *Streptococcus mutans*, coloniza la superficie dental y causa daño a la estructura dental dura en presencia de carbohidratos fermentables. *Streptococcus mutans* se ha establecido como el principal patógeno cariogénico responsable de la caries dental humana, con una alta capacidad para formar biopelículas.(6)

La matriz de exopolisacárido (EPS), aportada principalmente por *Streptococcus mutans*, ha sido considerada como determinante de virulencia del biofilms cariogénico. Como EPS es un factor de virulencia importante, apuntar El metabolismo de EPS podría ser útil para prevenir la formación de biopelículas cariogénicas. (17)

La caries dental es la disbiosis de la flora bucal y los probióticos pueden usarse para controlar los cambios microbianos en el entorno oral. (12)

Según la Organización Mundial de la Salud se informó prevalencia que la caries de primera infancia (ECC) es el de 17% en niños de 2 años, del 48% en niños de 4 años y del 70% en niños de 6 años. (12) En el 2016 la caries en dientes permanentes y temporales ocuparon el segundo y el quinto lugar, respectivamente entre las 10 enfermedades con mayor incidencia mundial. (5)

Esta va estar relacionada con la ingesta prolongada de bebidas azucaradas a través de chupones es muy común en los niños. Las bacterias patológicas forman una biopelícula en los tejidos dentales y producen ácidos impulsadores por azúcar con lo cual esto se disuelve la estructura mineral de los dientes de forma irreversible, provocando así la caries dental. (12)



### 2.2.2. Probióticos

Según el concepto del 2001 de la Organización Mundial de Salud, (OMS) también la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) los probióticos son “microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedador”. (12)(3)(8)(16)(9)

En estos tiempos la aceptación de los probióticos en la prevención y el tratamiento de infecciones, enfermedades gastrointestinales, como la diarrea aguda, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn y la reservoritis. También en este tiempo por la aceptación de los probióticos en el ámbito de la salud bucal como prevención oral de las caries, alivio en la periodontitis y regulando la microbiota oral. (3)

La totalidad de los microorganismos probióticos incumben a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* y estos gérmenes se agregan comúnmente a jugos probióticos o productos de yogur. Estudios actuales han manifestado que los probióticos jugaron un beneficio favorable en la salud bucal y pueden modificar la micro ecología oral al cambiar la composición proteica de la placa dental. Esto ha estimulado la investigación para estudiar el efecto anti caries de los probióticos.(1)

Los *Lactobacillus* desempeñan al igual un papel importante en el ecosistema bucal y pueden vincularse enfermedades bucales y con la salud bucal. Los estudios clínicos han confirmado que los lactobacillus probióticos pueden reducir los recuentos de *Streptococcus salivales* y *mutans* después del consumo de *Lactobacillus, rhamnosus GG, Lactobacillus reuteri*. Además las bacterias, las especies de *Lactobacillus naturales*, incluidas *Lactobacillus, paracasei*,





*Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus, rhamnosus*, pueden inhibir las cepas de laboratorio de *Streptococcus mutans*, más ideal como *Streptococcus autólogos mutans* in vitro.(16)

Como los probióticos pueden producir diferentes compuestos antibacterianos, mejorar la ecología microbiana oral y rara vez causan infecciones en humanos, estos organismos representan una forma segura y prometedora de controlar la caries.(9)

Varios estudios han confirmado que la caries es ocasionada por un desequilibrio ecológico en la cavidad bucal. Cuando los patógenos relacionadas con la caries aumentan y las patógenos beneficiosas disminuyen, la placa dental puede transformarse de placa no cariogénica a placa cariogénica. Consiguiente, la vigilancia de la caries debe estar dirigido a mantener una homeostasis ecológico efectivo de la flora bucal. Los agentes cariostáticos no solo deben tener actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* (SM) y lactobacilos, sino que también deben afectar a los aerobios y anaerobios presentes en la placa dental. Los *Streptococcus mutans* (SM) son una de las bacterias cariogénicas más importantes.(14)

La disbiosis oral se encuentra entre los peligros para la salud humana más frecuentes a nivel mundial. La calidad de vida de los pacientes se deteriora notablemente, mientras que los tratamientos suelen ser desagradables, costosos e irreversibles, por ejemplo, la pérdida de dientes.(1) por lo cual con esta investigación deseo dar accesibilidad y beneficio.



### 2.2.2.1. Principios activos

Las bacterias probióticas son microorganismos vivos que pueden darnos beneficios para la salud del huésped cuando se administran en cantidades suficientes. (13)

Incluso los probióticos o los productos de estos pueden tener actividad antimicrobiana y resistir a la colonización de patologías. Hablando inmunológicamente mejoran adyuvante posiblemente estimulan los procesos fagocitarios de leucocitos sanguíneos y aumenten la secreción de IgA. (8)

### 2.2.3. *Lactobacillus plantarum*

*Lactobacillus* es un microorganismo Gram-positiva, con representación de bastón, que no forma esporas y catalasa negativa, que se encuentra en diversos ambientes como alimentos, vegetales y aguas residuales. Varias especies de *Lactobacillus* también se encuentran en humanos, incluida la cavidad oral, el intestino y la vagina. Las especies de *Lactobacillus* presentes en la flora residente de los humanos suelen ser patógenamente inocentes y algunas de ellas se han utilizado como probióticos.(4)

Estas fermentaciones acostumbradas de cereales son manejadas como necesidades básicas de alimentos, con particularidades organolépticas y de preservación mejorada; con lo cual los microorganismos lácticos se hallarán en gran diversidad de ambientes y son utilizados para la fabricación e hicieron de los suministros como cultivos innovadores con el propósito de inspeccionar las fermentaciones.

Se aisló *lactobacillus plantarum* de masas de maíz fermentadas tradicionales en Colombia; este microorganismo presenta actividad amiolítica y



proteolítica, y exhibe potencial inhibitorio frente a bacterias patógenas y hongos.(18)

Una bebida fermentada de maíz en Camerún conocida “de acuerdo con sus actividades antagónicas y se probaron su potencial bacteriocinogénico y sus propiedades de seguridad. Estos aislamientos se identificaron preliminarmente como *Lactobacillus Plantarum* (62 %), *Lactobacillus rhamnosus* (24 %), *Lactobacillus fermentan* (10 %) y *Lactobacillus coprophilus*. (4%) basado en características fenotípicas y huellas dactilares genómicas rep-PCR. Doce (57,1%) de las 21 cepas analizadas resultaron ser productoras de bacteriocinas, como lo revela la sensibilidad de sus sustancias antimicrobianas a las enzimas proteolíticas (tripsina, proteinasa K) y la inhibición de otros *Lactobacillus* spp. Estas cepas bacteriocinogénicas no mostraron actividades hemolíticas y gelatinasa positivas y demostraron ser sensibles a penicilina G, ampicilina, tetraciclina, eritromicina, amoxicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol y doxiciclina.(15)

#### 2.2.3.1. Posición taxonómica

**Dominio:** Bacteria

**División:** Firmicutes

**Clase:** Bacilli

**Orden:** Lactobacillales

**Familia:** Latobacillaceae

**Género:** Lactiplantibacillus

**Especies:** *Lactobacillus plantarum*

**Sinonimia:**



-*Lactobacillus plantari*

-*Lactobacterium plantarum*

-*Streptobacterium plantarum*

- *Lactobacillus plantarum*

### **2.2.3.2. *Lactobacillus plantarum* y sus empleos actualmente**

Es uno de las especies de bacterias más estudiadas y ampliamente, utilizadas en la industria alimentaria como microorganismo probiótico y/o iniciador microbiano.

Se incorporaron con frecuencia en la fermentación de verduras, frutas, pescado, carne y leche; mejorando la textura y el sabor del pan, las salchichas, y el vino, suprimen los microbios por ser los *Lactobacillus* es “generalmente reconocido como seguro (GRAS) siendo por la por la (FAO y OMS) como una cepa segura” (8)

Se utiliza más comúnmente en los alimentos fermentados que son inducidos por la instancia por la población que prefieren los alimentos sean vírgenes, saludables, frescos, mínimamente procesados y nutritivos. Para preservar la esencia/atributo de los productos alimenticios fermentados particulares, se necesitan técnicas para conservar las propiedades organolépticas y prometer una vida útil aceptable. Hasta ahora, los productos lácteos fermentados (p. ej., yogur) se han diseñado como una fuente potencial de cepas beneficiosas (probióticas) y como una forma/matriz estándar para ofrecer dichas cepas funcionales (h). en la conservación de productos cárnicos cocidos, dulces, condimentos, los productos lácteos. (2) (9)



También se le usa por sus efectos positivos en la regulación del sistema inmunológico, la regulación de la micro biota intestinal, la disminución de la del nivel de colesterol, (2) la osteoporosis y otros.(5)

Las especies de *Lactobacillus* que componen una parte más importante en la micro biota ayudan con la infección por patógenos al segregar moléculas antimicrobianas y también al tener efectos positivos en la salud bucal. (11) y para la prevención de enfermedades orales.(4)

Las especies *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* los dos producen ácido láctico entre las sustancias bioactivas, como peróxido de hidrogeno (que reduce la síntesis de ADN bacteriano), bacteriocinas (con capacidad de destrozarse las membranas de las células bacterianas para eliminar los patógenos gram positivas. Como *Streptococcus mutans* que es tolerante a los ácidos y la producción de peróxido de hidrógeno por *Lactobacillus* es baja, es posible que las sustancias antibacterianas en los probióticos sean principalmente bacteriocinas o proteínas similares a las bacteriocinas), biosurfactantes (5), bacteriológicas (9) e inhibidores que alteran la adhesión que afectarían el crecimiento de microorganismos cariogénicos. (13)(3)(6)(15)(14)(4)

Las bacterias del ácido láctico producen componentes antimicrobianos y algunos tienen la capacidad de producir peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que puede ser tóxico para los organismos que producen poca o ninguna enzima eliminadora de  $H_2O_2$ .(16)

Se ha sugerido que el pH final en el medio es un componente trascendental para la inhibición del crecimiento, ya sea directamente o debido a la producción de bacteriocinas a un pH bajo. Encontramos una tendencia similar en los presentes experimentos; las cepas de *Lactobacillus* que provocaron el pH más bajo después



de la incubación también fueron más eficaces para inhibir la *Streptococcus mutans* y el crecimiento de *Candida*.(16)

En los estudios de Mattson C. et al.(22) estableció los efectos de tres factores: experiencia previa de caries; colonización de *Streptococcus mutans*; y el pH final sobre la inhibición mediada por lactobacilos autólogos contra un panel de *Streptococcus mutans* en sujetos jóvenes con desiguales experiencias de caries.

Los tres factores influyeron significativamente en el resultado de la interferencia en el orden; pH final de las cepas de *Lactobacillus*, colonización oral de *S. mutans* autólogo y experiencia de caries. Ocurrió un alto riesgo a un pH más bajo y a un rango de pH más amplio para individuos con experiencia previa de caries y colonización autóloga de *Streptococcus mutans* en comparación con sujetos sin caries que no estaban colonizados. A un pH final de 4,0, este riesgo era aproximadamente ocho veces mayor que el del último grupo. Dos cepas de *Streptococcus mutans* en el panel de prueba demostraron altos valores predictivos individuales de inhibición mediada por *Lactobacillus* orales .(22): En los estudios de Karime N. et al.(9) describen que la actividad antibacteriana depende del pH de cultivo, del peróxido de hidrógeno y de la capacidad de producción de reuterina, una formación proteica antibacteriana a partir del glicerol, resistente a las proteínas lipolíticas y proteolíticas. Las cepas también difieren en cuanto a su capacidad para adherirse a superficies recubiertas de saliva. Esta característica es muy importante porque las bacterias que no están conjugadas con la fase sólida se eliminan fácilmente al tragarlas.(9)

Sin embargo, los estudios escasos sobre la afrontación del *Lactobacillus* con las bacterias, querer ver sus efectos probióticos, lo que me lleva a indagar más sobre el tema.(3)



También la inhibición de la cepa sensible de *Lactobacillus plantarum* confirmo que las sustancias inhibidoras eran las bacteriocinas en su estudio lo reporta n.(15)

Por otra parte, en la investigación de Lin X et all.(14) efecto inhibidor en la mayoría de los *Streptococcus mutans* (SM ) aislados de los niños con caries activa y la tasa de inhibición alcanzó aproximadamente el 70-90%.(14)

En los estudios de Teanpaisan R; Piwat S. y Dahlen G.(4) resaltan el efecto inhibitorio de *Lactobacillus* sobre el *Streptococcus mutans* aumento considerablemente con la concentración de glucosa . El efecto más alto se alcanzó con glucosa al 5% (datos no mostrados) (4)

#### **2.2.4. Medios de cultivo**

##### **2.2.4.1. Agar nutritivo**

En su porcentaje alto en contenido nutritivo es perfecto para el sembrado de bacterias prudentemente estrictos y no estrictos. El uso del agar nutritivo sin la mezcla de otras sustancias no será factible en los cultivos básicos, sin embargo, recomendable durante el cultivo de cepas puras y mantenerlas factibles, entre otros usos.

Por otra parte, cuando se combina con antibióticos es útil para aislar microorganismos anaerobios facultativos y estrictos de importancia clínica provenientes de muestras con flora microbiana mixta.(19)

##### **2.2.4.2. Agar chocolate**

En el agar chocolate se usa la misma manera y procedimientos que el agar sangre (base). Donde su iniciación, la sangre se agregaban a la base fundida y posteriormente se aumenta la temperatura (aproximadamente de 85°Centigrados)



para lisar- cambiar parcialmente las células, con lo cual transformarían la sustancia en una coloración pardo chocolate. Últimamente, la hemoglobina y partículas diferentes encontrados en los lisados de los glóbulos rojos, mencionamos “hemina (factor X) y coenzima NAD (factor V)”, se complementan en agregados a un agar base muy favorable y nutritivo. También se puede agregar IsoVitaleX, un suplemento definido que proporciona el factor V, aminoácidos, vitaminas, iones férricos, coenzimas, glucosa, y otros factores que favorecen el crecimiento de especies exigentes. (19)

#### **2.2.4.3. Agar lactobacillus**

Mitis salivarius Agar es un medio sólido recomendado para su uso en procedimientos cualitativos para el aislamiento selectivo de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* y entero cocos de muestras de flora bacteriana mixta y para la diferenciación de las cepas viridans. (19)

Chapman desarrolló Mitis salivarius Agar para la separación de *Streptococcus* a partir de muestras que contenían flora microbiana mixta. Gold et Alabama. Utilizó Mitis salivarius Agar para seleccionar los estreptococos aislados de la cavidad oral.

Otros investigadores utilizaron este medio de agar en microbios los estudios de especímenes recolectados de placa dental y lesiones cariosas. Por sus cualidades selectivas y diferenciales es especialmente útil para el aislamiento de estreptococos y entero cocos de fuentes que contienen flora microbiana comensal. (19)





#### **2.2.4.4. Agar Muller Hinton**

El agar Muller Hinton es un medio de cultivo excesivo, delineado específicamente para realizar pruebas y ensayos de sensibilidad y encomendado por la junta de la OMS sobre estandarización de pruebas de susceptibilidad. “Este grupo dispuso en los años 70 con la finalidad de establecer la susceptibilidad de las bacterias patógenas contra los antimicrobianos, por no llevar agregados inhibidores de los antimicrobianos, tenemos como muestra, el PABA (ácido p-amino benzoico), que invalida la actividad de sulfamidas y antibióticos y íntegro a su reproducibilidad y asentimiento por las personas que realizan estos trabajos de investigación.” A partir desde entonces su empleo y realización se ha vuelto comúnmente.

El agar Muller-Hinton se utiliza para la realización del ensayo de difusión en placa, en tanto este caldo se emplea para la determinación de la concentración mínima inhibidora en el ensayo de diluciones seriadas. (19)

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL ESTUDIO

##### 3.1.1. Ámbito general

La jurisdicción de Puno está situado al extremo sureste del Perú a pies del Lago Titicaca más alto y navegable, entre los 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y los 71°06'57" y 68°48'46" de longitud oeste del meridiano de Greenwich; recuenta con un territorio de 71 999,0 km<sup>2</sup> resultando el 5to departamento de mayor tamaño en el perímetro nacional. Limitando en el norte con el gobierno regional de Madre de Dios, con este con la república de Bolivia, con el sur con el gobierno regional de Tacna y la república de Bolivia y con oeste con los gobiernos regionales de Moquegua, Arequipa y Cusco.



Fuente : <https://www.deperu.com/imagenes/50467109-el-mapa-de-peru.html>

### 3.1.2. **Ámbito específico**

“Área de Microbiología y Parasitología de la facultad de Medicina Humana de la Universidad de Puno.”



Fuente: Propia del investigador.

### 3.2. **PERIODO Y DURACIÓN DEL ESTUDIO**

Esta investigación llamada “Efecto antimicrobiano in vitro del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, - Puno 2022”, se efectuó desde el primer día de octubre hasta terminar el último día de noviembre del año 2022 haciendo un total de dos meses incluyendo los sábados y domingos como fechas de duración.

### 3.3. **TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

**Según el nivel de investigación:** Explicativo por que trata de explicar los fenómenos que ocurren por medio de la relación causal y el efecto que da.

**Según el diseño de investigación:** Experimental por que se modificó el manejo de la variable independiente de la investigación de forma intencional.

**Según la cronología de la investigación:** Longitudinales por que se realizaron muchas mediciones y datos en diferentes días .



**Según el número de investigación:** Prospectiva porque la recopilación de información se hizo después de la aceptación del proyecto.

### **3.3.1. Población**

Todas las cepas *Streptococcus mutans* debidamente aisladas por el biólogo del laboratorio de microbiología y parasitología de la FMH-UNA PUNO debidamente sustentadas con documentos.

### **3.3.2. Muestra**

Según el tipo de muestreo que es no probabilístico por conveniencia, usando los criterios de inclusión y exclusión, las cepas fueron cultivadas en treinta placas Petri, con seis discos de difusión (repeticiones), es decir ciento y ochenta discos, de las cuales se dividieron en cinco grupos por bacteria, según las concentraciones 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento, 100 por ciento, y el control positivo (clorhexidina 0,12%), treinta discos y pozos por grupo.

## **3.4. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA**

### **3.4.1. Criterios de inclusión**

- Placas vidrio con siembra perfecta y optima de cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus plantarum*.
- Placas vidrio que posterior de la continuación de colocación en la incubación no presenten contaminación.
- Placas vidrio que posteriormente del proceso de incubación manifiesten halos de inhibición en casi perfectas condiciones.

### **3.4.2. Criterios de exclusión**

- Placas Petri que se encuentren con otros microorganismos.



- Placas Petri que muestren defectos por manipulación en el laboratorio.

### 3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LA MUESTRA

Efecto antimicrobiano in vitro del <i>Lactobacillus plantarum</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> – Puno 2022				
Variable	Definición	Indicador	Subindicador	Escala de Medición
<b>Independiente</b> <i>Lactobacillus plantarum</i> .	“Son microorganismos vivos que pueden darnos beneficios para la salud del hospedado cuando confieren en cantidades suficientes”.(5)	Concentraciones	100% 75% 50% 25%	ml
<b>Dependiente</b> <i>Streptococcus mutans</i>	“Es considerada como una de las principales causas etiológicas de la caries dental, ya que puede formar una biopelícula en la superficie del diente, y poseen la facultad de sobrevivir a unos niveles de pH bajo”.(10)	Tamaño de halos de disminución e inhibición de <i>Streptococcus mutans</i>	Halo de inhibición	mm
<b>Variable interviniente</b> tiempo	“Tiempo sucedido desde la aplicación del tratamiento.”	Horas	24 h y 48 h.	Horas

### 3.6. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

#### 3.6.1. Técnica

Observación directa, mediante la medición del halo inhibitorio en (mm) con regla de vernier y ayuda del lector de colonias, del resultado de las



concentraciones de 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de *Lactobacillus plantarum* y como grupo control la clorhexidina 0.12% frente al *Streptococcus mutans* entre las 24 y 48 horas; los datos fueron inscritos en una ficha virtual y física de recolección de datos.

### 3.7. INSTRUMENTOS

- Documental: Hojas de recolección de datos.
- Vernier manual.
- Lector de colonias.

### 3.8. MATERIALES

#### **Materiales de Laboratorio:**

- Hisopos estériles
- Papel Kraft
- Algodón
- Regla milimétrica (Vernier de calibre manual)
- Papel aluminio
- Pipeta calibrada
- Papel filtro
- Pinza
- Mechero
- Atacador
- Clorhexidina al 0.12%



- Jeringas de 10 ml
- Jeringas de 5ml
- Jeringas de 1ml
- Tuberculina
- Agua pura 2L
- Suero de hospital 1L
- Alcohol puro al 97 %

#### **Materiales de vidrio**

- Matraz Erlenmeyer de 260ml.
- Vaso de precipitados.
- Placas Petri
- Tubos de ensayo
- Embudo de vidrio
- Botella de 500 ml
- Frascos de 20 ml (5unidades)

#### **Equipo de protección personal (EPP)**

- Guantes (estériles)
- Anteojos descartables.
- Mandil color azul (descartable)
- Gorra descartable
- Mascarilla descartable



### **Material de limpieza.**

- Detergente 1 bolsa
- Desinfectantes
- Cloro puro
- Escobilla para lavado (manos)

### **Medios de cultivo**

- “Agar nutriticio”
- “Agar Mitis salivarius”.
- “Agar *Lactobacillus.*”
- “Agar Muller Hinton sangre concentración del 5 %”

### **Equipos de laboratorio**

- Autoclave
- Estufa de 5°Centigrados a 220°Centigrados
- Incubadora.
- Jarra con un medio sin oxígeno.
- Cocina a luz.
- Mechero.
- Balanza analítica.
- Balanza de precisión.
- Contador de colonias.
- Microscopio binocular





### **Infraestructura**

- “El estudio se realizó en el área de Microbiología - parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.”

### **Elementos Auxiliares de registro**

- Cámara de fotos 14 Mp.
- Laptop.
- Papeles.
- Lápices.
- Lapiceros azules y negros.

## **3.9. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **3.9.1. Obtención de la Bacteria *Lactobacillus plantarum***

Se obtuvo el fermento de maíz de *Lactobacillus* de origen de la Provincia del Cusco, Departamento de Cusco, en una cantidad 2.5L. Se transportó en cadena de frío en una botella de vidrio esterilizado, para el aislamiento y replica que se activó “en el área de Microbiología y parasitología de la F.M.H. de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.”

### **3.9.2. Preparación del *Lactobacillus plantarum***

Se tomó muestra de la botella de vidrio donde se transportó, se extrajo con una jeringa estéril de 15 ml la muestra de *Lactobacillus* de la parte superficial y líquida del fermento teniendo en cuenta el reposo de la muestra teniendo cuidado no agitar la botella con la muestra. Luego esta se colocó en frascos de muestra esterilizado de 20 ml, para luego ser incubados para activar la bacteria de *Lactobacillus* para su posterior uso.



### 3.9.3. Preparación del agar

- Se preparó el agar *Lactobacillus* según indicaciones y recomendación del fabricante.
- Se convino el agar *lactobacillus* con el agua pura en el matraz Erlenmeyer limpio y esterilizado.
- La Esterilización se efectuó en autoclave a 120 °C a 35 libras de presión / pulgadas por 10 min.
- La solución del agar una vez esterilizado se retiró de la autoclave para dejarlo bajar su temperatura entre 45 a 50 °C alrededor de calor; estando en estas temperaturas se realizó el plaqueo; vertiendo de manera semejante en 5 placas Petri de vidrio y posterior se enfrió gelificando a temperatura adecuada el agar.
- Del frasco que contenía el desarrollo de la bacteria de *Lactobacillus*, con un hisopo se procedió a sembrar por agotamiento en las placas Petri.
- Se llevó a la incubadora de anaeróbico facultativo para su desarrollo de la bacteria a las 24 horas a una temperatura de 37 °C.

### 3.9.4. Siembra de la muestra

- Se identificó las colonias de *Lactobacillus* según sus características morfológicas de las colonias
- Se abrió escrupulosamente el tubo de ensayo que tenía la muestra y se colocó un hisopo limpio dentro del líquido en suspensión del patógeno en estudio.
- Se sumergió el hisopo limpio por encima, removiendo el contenido del tubo para disiparlo contra las paredes del mismo con el fin de mover el alto exceso del inóculo.



- Se esparció el inóculo en la placa Petri que tenían el agar sangre gelificado con el hisopo estéril en diferentes polos impidiendo así inóculos muy condensados.
- Se dejó en una mesa aproximadamente 10 a 15 minutos en las cinco placas Petri de vidrio cuidadosamente cerradas.
- Después de realizado el cultivo se incubó a 37°C por 24 horas en anaerobiosis, después de ese tiempo se analizaron y observaron los resultados y se escogieron las placas Petri de vidrio que mostraban crecimiento positivo de colonias en mayor proporción para realizar el estudio.

### **3.9.5. Elaboración de las concentraciones del *Lactobacillus plantarum***

- Identificado las cepas desde el punto de vista de la constitución de la colonia.
- Se continuo con la dilución en un tubo de ensayo de las colonias desarrolladas en las placas Petri, en 10 ml. De suero fisiológico esterilizado. Que es la concentración del 100%
- Para diluir a concentración de 75% se utilizó 7.5 ml de la cepa diluidas con 2.5 ml de suero fisiológico.
- Para diluir a concentración de 50% se utilizó 5 ml de la cepa diluidas con 5 ml de suero fisiológico.
- Para diluir a concentración de 25% se utilizó 2.5 ml de la cepa diluidas con 7.5 ml de suero fisiológico.

### **3.9.6. Preparación del Agar Mitis salivarius para la replicación**

- Para la elaboración del agar se calculó las medidas adecuadas con la regla de tres simples (aritmético) según las conjeturas del fabricante del agar:



- “Agar Base”:

500gramos  $\longrightarrow$  12500mililitros

X  $\longrightarrow$  300mililitros

X= 12 gramos

- “Agar Mitis salivarius (5%) por ciento”:

12gramos  $\longrightarrow$  100%

X  $\longrightarrow$  5%

X= 0.6 gramos

#### “Agar Base + Agar Mitis salivarius (5%)”

- Medimos 300 ml de agua pura en la probeta de vidrio.
- Pusimos los agares y el agua pura en el vidrio matraz Erlenmeyer para consecutivamente calentarlo en la cocina de luz, anticipadamente estampados con papel aluminio y Kraft
- Después de haber sido mezcladas y combinadas los agares se llevó a la autoclave para su esterilización y licuefacción, a 120 ° por 20 min
- Finalmente se dejaron enfriar aprox. 45- 50° antes de su colocación en las placas Petri de vidrio debidamente esterilizadas. Luego se gelifican.

#### 3.9.7. Preparación del medio de cultivo agar sangre para la replicación

- Inicialmente calculamos las dimensiones con la fórmula de tres simples según las recomendaciones del agar:

- “Agar Base”:

500gramos  $\longrightarrow$  12500mililitros

X  $\longrightarrow$  300mililitros

X= 12 gramos



- Tanteamos 300 ml de agua pura en la probeta de vidrio.
- Pusimos los agares y el agua pura en el vidrio de matraz Erlenmeyer para luego calentarlo en la cocina a luz, claro estos sellados con papel aluminio y papel craft.
- Después de ser mezclados los agares se colocó al autoclave a 121 ° por 10 min
- Pusimos el 5 por ciento de sangre en el vidrio de matraz Erlenmeyer que según la regla de tres simples:  
$$\begin{array}{l} 300\text{mililitros} \longrightarrow 100\% \\ X \longrightarrow 5\% \\ X = 15 \text{ mililitros} \end{array}$$
- Luego de combinar 15 ml de sangre con el agar a temperaturas aprox. 45-50° antes de distribuirlos en las placas Petri de vidrio anticipadamente limpias. Luego se gelifican.

### 3.9.8. Siembra de las muestras

Se abrió manipulo el tubo de ensayo con la muestra en ahí y se introdujo un hisopo limpio dentro de la suspensión del patógeno en estudio.

Se introdujo el hisopo limpio por encima tubo donde concentraban los microorganismos para remover contra las paredes del tubo con la finalidad retirar el excedente del inóculo.

Se esparció el inóculo en toda área del agar sangre con el hisopo estéril en varias orientaciones impidiendo así inóculos muy condensados.

Luego se enfrió entre 10 a 15 minutos con las cinco placas Petri de vidrio aisladas.



Finalmente, al terminar la siembra se incubo a 37°C Centígrados por 24 horas en anaerobiosis, después ese tiempo dado se analizaron los resultados y se escogieron las placas que tendían alto positivo desarrollo de colonias.

### **3.9.9. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de difusión en Agar según Kirby Bauer**

#### **a. PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR 0.5 MC FARLAND PARA EL INOCULO:**

- Se inóculo el *Streptococcus mutans*, luego fue realizo preparación sacando las colonias de sus debidas placas con un isopo estéril
- Se puso suero fisiológico en diferentes tubos que iba disminuyendo 1 ml (10 ml, 9 ml, 8ml, 7ml, 6ml, 5ml)
- Se suspendió la bacteria primeramente en el tubo de ensayo en 10 ml de suero fisiológico.
- Seguidamente se fue agregando 1 ml del tubo precedente (sacamos 1 ml de la suspensión primaria hacia el siguiente tubo con 9 ml de suero fisiológico y así sucesivamente hasta tener una turbidez de 0.5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de  $1.5 \times 10^3$  alfa unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans*
- Esto se obtuvo al comparar la turbidez de cada tubo con el espectrofotómetro

#### **b. INOCULACIÓN DE LAS PLACAS POR EL MÉTODO DE ESTRÍAS POR AGOTAMIENTO**

Se inculó la bacteria *Streptococcus mutans* que se contiene en el tubo de ensayo, homogenizándolos en las placas de vidrio con “el agar Mitis salivarius y Agar sangre” proporcionalmente efectuando líneas en silueta de estrías



varias direcciones para poder asegurar el repartimiento uniforme, repitiendo los siguientes procedimientos en las 30 placas de vidrio.

**c. APLICACIÓN DE LOS DISCOS POR EL MÉTODO DE KIRBY BAUER**

- Para identificar las placas Petri, se rotulo por bacterias (*Streptococcus mutans*) y concentraciones (100 por ciento, 75 por ciento, 50 por ciento y 25 por ciento)
- Se efectuó siete pocillos apartados relativamente acomodados y equitativamente, colocando los discos de diámetros pequeños de papel filtro muy limpios dentro de los pocillos (huecos) soportado por un instrumento (pinza limpia).
- Posteriormente con una pipeta ya calibrada se proporcionó 10µl del *Lactobacillus plantarum* con varias concentraciones 100 por ciento, 75 por ciento, 50 por ciento y 25 por ciento en los pequeños pocillos con papel filtro en 4 placas de vidrio para cada concentración y microorganismo.

**d. INCUBACIÓN**

- Primeramente, se llevaron a la incubadora se sellaron correctamente las placas de vidrio con el Biofilms.
- Se conservaron en espera por 15 minutos las placas de vidrio.
- posteriormente se introdujeron las placas de vidrio con los microorganismos en a lo volteado a 37°Centigrados en la incubadora.
- Pasado el tiempo de las 24 y 48 horas del *Lactobacillus* en la incubación se observó y examinó cada una de las placas y se contaron los halos de inhibición de microorganismo en cada placa de vidrio.



### 3.9.10. Recolección de datos

- Después de las 24 y 48 horas se anotaron y registró los datos observados en la hoja de recolección de datos. Usando el vernier y también el contador de colonias; intención de obtener el halo de inhibición.
- Los efectos antibacterianos se consideraron el tamaño de los halos de inhibición según la escala de Durafford:
  - **Nula = > a 0-8 milímetros.**
  - **Sensible = a 9-14 milímetros.**
  - **Muy sensible = a 15 -19 milímetros.**
  - **Sumamente sensible =< 20 milímetros.**
- La realización del procesamiento y comparación de los datos se usó en una computadora del programa Excel .
- La elaboración de cuadros y gráficos estadísticos se usó el programa Microsoft de Infostat (versión estudiantil)

### 3.9.11. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico para la distribución de datos se hizo la prueba estadística de t, y para las pruebas estadísticas de comparación se manejó estadística descriptiva (“tablas, medias, gráficos”) e inferencial (“ANDEVA y Tukey”).

### 3.9.12. Consideraciones éticas

- Se solicitó autorización dirigida al “área de Microbiología y parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno”.





- Constancia de realización de la investigación del proyecto en el “área de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno”.
- Cepas aisladas certificadas de Microbiología de *Lactobacillus plantarum* y *Streptococcus mutans*.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. RESULTADOS

**Tabla 1.** Efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* en concentraciones del 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 horas.

Prueba estadística de t	Control (clorhexidina 0.12%)	Concentraciones			
		25%	50%	75%	100%
<b>Promedio</b>	15.83 mm	10.28 mm	12.03 mm	13.22 mm	14.11 mm
<b>Desviación estándar</b>	0.57	± 0.67	± 0.76	± 0.57	± 0.56
<b>Límite inferior</b>	15.55mm	9.95 mm	11.65 mm	12.94 mm	13.83 mm
<b>Límite superior</b>	16.12mm	10.61 mm	12.4 mm	13.51 mm	14.39 mm
<b>T<sub>CALCULADO</sub></b>	118.1	107.45	97.64	67.43	65.17
<b>Probabilidad</b>	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Prueba estadística: análisis de varianza (ANDEVA)					P<0.01

Fuente: Elaborado por el investigador.

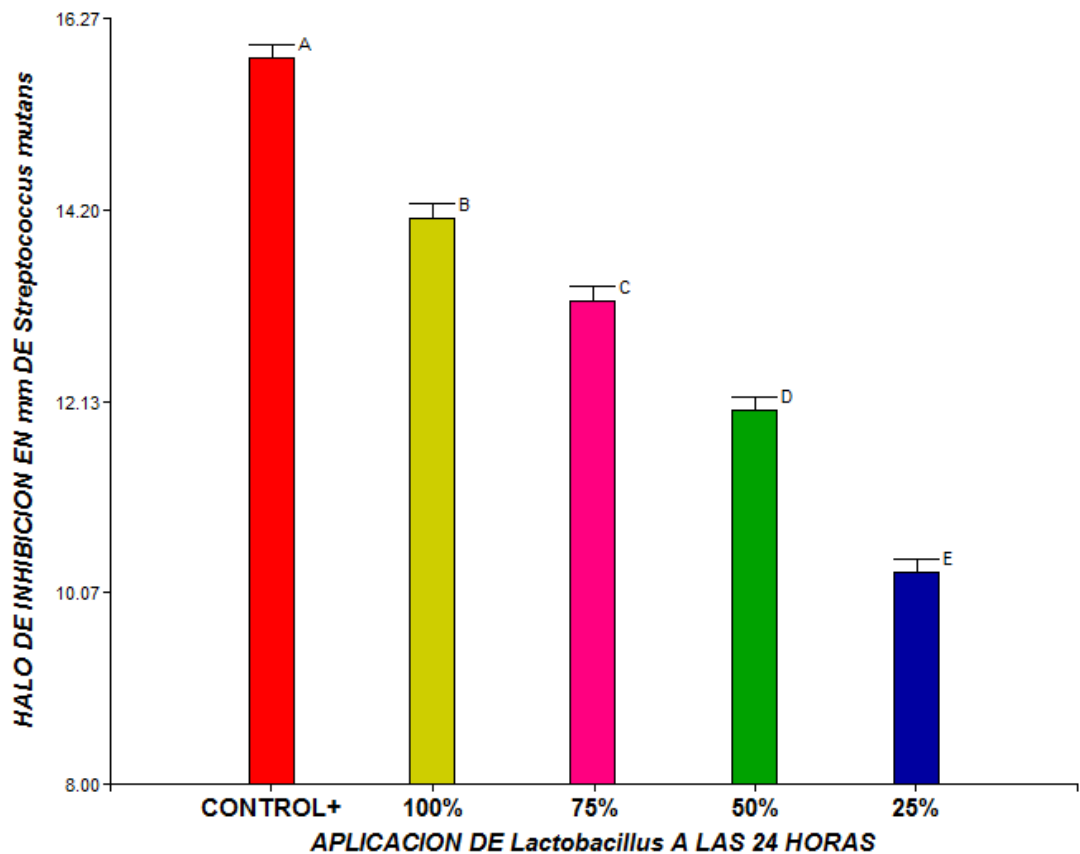
#### INTERPRETACIÓN:

En la tabla 1 se observa el análisis de datos que se sometió a la prueba estadística de t a la bacteria *Lactobacillus plantarum* contra la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 horas, resultando que la bacteria *Lactobacillus plantarum* a una concentración del 100% a las 24 horas tiene un mayor efecto inhibitor frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de 14.11 mm teniendo su desviación estándar de  $\pm 0.56$  en relación a al promedio, seguido de los demás concentraciones de 75%, 50% y 25%, con la concentración del 75% tiene un promedio de 13.22 mm con una desviación estándar



de  $\pm 0.57$ , la diferencia entre la concentración del 100% es de 0.89 mm, así mismo se tiene que la concentración del 50% tiene un efecto inhibitor de un promedio de 12.03 con una desviación estándar de  $\pm 0.76$  con una diferencia de 1.19 mm de halo de inhibición en relación a la concentración del 75%, por último se tiene el resultado del halo de inhibición de la concentración del 25% con un promedio de 10.28 mm con una desviación estándar en relación al promedio de  $\pm 0.67$  y una diferencia de halo de inhibición de 1.75 mm con relación a la concentración del 50%, cabe mencionar que la diferencia entre el mayor y menor halo de inhibición es de 3.83 mm, resultando proporcional el efecto inhibitor en relación a su concentración de la bacteria *Lactobacillus plantarum*, con una probabilidad de  $P \leq 0.05$ . en comparación al control + (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de halo de inhibición es de 15.83 mm con una desviación estándar de  $\pm 0.57$  mm con una diferencia entre el control positivo y el mayor efecto inhibitor de *Lactobacillus plantarum* es de 1.72mm tiene mejor efecto inhibitor a las 24 horas. Concluimos los datos del experimento son homogéneos no dispersos, por lo que aceptamos hipótesis planteada.

**Figura 1.** Prueba estadística de contraste de Tukey del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 75%, 50% y 25% de *Lactobacillus plantarum* sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 horas.



Fuente: Elaborado por el investigador.

P

<0.01

### INTERPRETACIÓN:

En la figura 1 se observa los resultados del análisis de datos con la prueba estadística de análisis de varianza (ANDEVA), siendo la  $C_{\text{calculado}}$  mayor que la  $T_{\text{tabular}}$ , por lo tanto existe una diferencia significativa entre las concentraciones de las aplicaciones de la bacteria *Lactobacillus plantarum* de 100%, 75%, 50% y 25% respectivamente y el

control + (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 horas, siendo su CV = 4.81 una probabilidad alfa 0.01, por lo que se sometió a la prueba de contraste de medias de Tukey, además en el diagrama de barras resultó, alfa = 0.05, DMS= 0.58531 y  $gl=85$ , demostrando el mejor efecto inhibitorio en el control positivo en comparación a los demás aplicaciones, sin embargo la aplicación de la bacteria *Lactobacillus plantarum* al 100% de su concentración tiene un mejor efecto inhibitor en relación a las otras concentraciones, el menor efecto los tiene la bacteria *Lactobacillus plantarum* a una concentración del 25%, por lo que se concluye a mayor concentración mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

**Tabla 2.** Efecto antimicrobiano del *lactobacillus plantarum* en concentraciones del 25% 50% 75% 100 % sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 48 horas.

Prueba estadística de t	Control (clorhexidina 0.12%)	Concentraciones			
		25%	50%	75%	100%
<b>Promedio</b>	15.72 mm	9.47 mm	11.28 mm	12.58 mm	13.53 mm
<b>Desviación estándar</b>	± 0.55	± 0.50	± 0.73	± 1.02	± 0.61
<b>Límite inferior</b>	15.45 mm	9.22 mm	10.91 mm	12.08 mm	13.23 mm
<b>Límite superior</b>	15.99 mm	9.72 mm	11.64 mm	13.09 mm	13.83 mm
<b>T<sub>CALCULADO</sub></b>	121.65	80.51	65.36	52.43	94.76
<b>Probabilidad</b>	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Prueba estadística: análisis de varianza (ANDEVA)

P<0.01

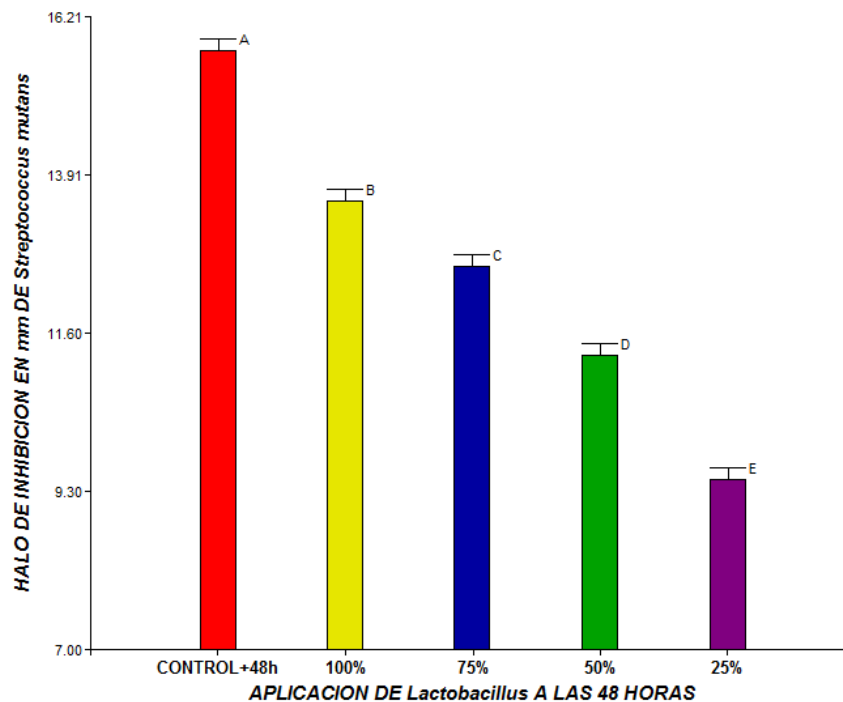
Fuente: Elaborado por el investigador.



## INTERPRETACIÓN:

En la tabla 2 se observa el análisis de datos con la prueba estadística de t a la bacteria *Lactobacillus plantarum* 75%, 50% y 25%, sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 48 horas, resultando que la bacteria *Lactobacillus plantarum* a una concentración del 100% a las 24 horas tiene un mayor efecto inhibidor frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de 13.53 mm teniendo su desviación estándar de  $\pm 0.61$  en relación al promedio, seguido de los demás concentraciones de 75%, 50% y 25%, con la concentración del 75% tiene un promedio de 12.58 mm con una desviación estándar de  $\pm 1.02$ , la diferencia entre la concentración del 100% es de 0.89 mm, así mismo se tiene que la concentración del 50% tiene un efecto inhibidor de un promedio de 12.03 con una desviación estándar de  $\pm 0.76$  con una diferencia de 1.19 mm de halo de inhibición en relación a la concentración del 75%, por último se tiene el resultado del halo de inhibición de la concentración del 25% con un promedio de 10.28 mm con una desviación estándar en relación al promedio de  $\pm 0.67$  y una diferencia de halo de inhibición de 1.75 mm con relación a la concentración del 50%, cabe mencionar que la diferencia entre el mayor y menor halo de inhibición es de 3.83 mm, resultando proporcional el efecto inhibidor en relación a su concentración de la bacteria *Lactobacillus plantarum*, con una probabilidad de  $P \leq 0.05$ . en comparación al control + (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de halo de inhibición es de 15.83 mm con su desviación estándar de  $\pm 0.57$  mm con una diferencia entre el control positivo y el mayor efecto inhibidor de *Lactobacillus plantarum* es de 1.72mm tiene mejor efecto inhibidor a las 24 horas. Concluimos los datos del experimento son homogéneos no dispersos, por lo que aceptamos hipótesis planteada.

**Figura 2.** Prueba estadística de contraste de Tukey del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 75%, 50% y 25% de *lactobacillus plantarum* sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 48 horas.



Fuente: Elaborada por el investigador.

### INTERPRETACIÓN:

En la figura 2 sometidos los datos a la prueba estadística de análisis de varianza (ANDEVA) los resultados que se obtuvieron fueron que la  $C_{\text{calculado}}$  es mayor que la  $T_{\text{tabular}}$ , por lo tanto existe una diferencia significativa entre las concentraciones de las aplicaciones de la bacteria *Lactobacillus plantarum* de 100%, 75%, 50% y 25% correspondientemente y el control + (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus mutans* a las 48 horas, registrándose un  $CV = 5.64$ , una probabilidad alfa 0.05, por lo que se sometió a la prueba de contraste de medias de Tukey donde se aprecia en el diagrama de barras,  $\alpha = 0.05$ ,  $DMS = 0.65555$  y  $gl=85$ , siendo el resultado el que tiene mejor efecto inhibitorio es el control positivo en comparación a los demás

aplicaciones, sin embargo la aplicación de la bacteria *Lactobacillus plantarum* al 100% de su concentración tiene un mejor efecto inhibidor en relación a las otras concentraciones, el menor efecto los tiene la bacteria *Lactobacillus plantarum* a una concentración del 25%, por lo que se concluye a mayor concentración mejor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus mutans*.

**Tabla 3.** Prueba estadística de contraste de promedios de Duncan del efecto inhibidor de los halos de inhibición de las concentraciones de 75%, 50% y 25% de *Lactobacillus plantarum* y los controles positivo y negativo sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.

Aplicaciones	Control(+)	Control(-)	25%	50%	75%	100%
Promedio 24 horas	15.83 mm	0	10.28 mm	12.03 mm	13.22 mm	14.11 mm
Promedio 48 horas	15.72 mm	0	9.47 mm	11.28 mm	12.58 mm	13.53 mm
Porcentaje 24 horas	100%	0	64.93%	75.99%	83.51%	89.13%
Porcentaje 48 horas	99.31%	0	59.82%	58.96%	71.25%	85.47%
Prueba estadística: análisis de varianza (ANDEVA)						P<0.01

Fuente: Elaborado por el investigador.

### INTERPRETACIÓN:

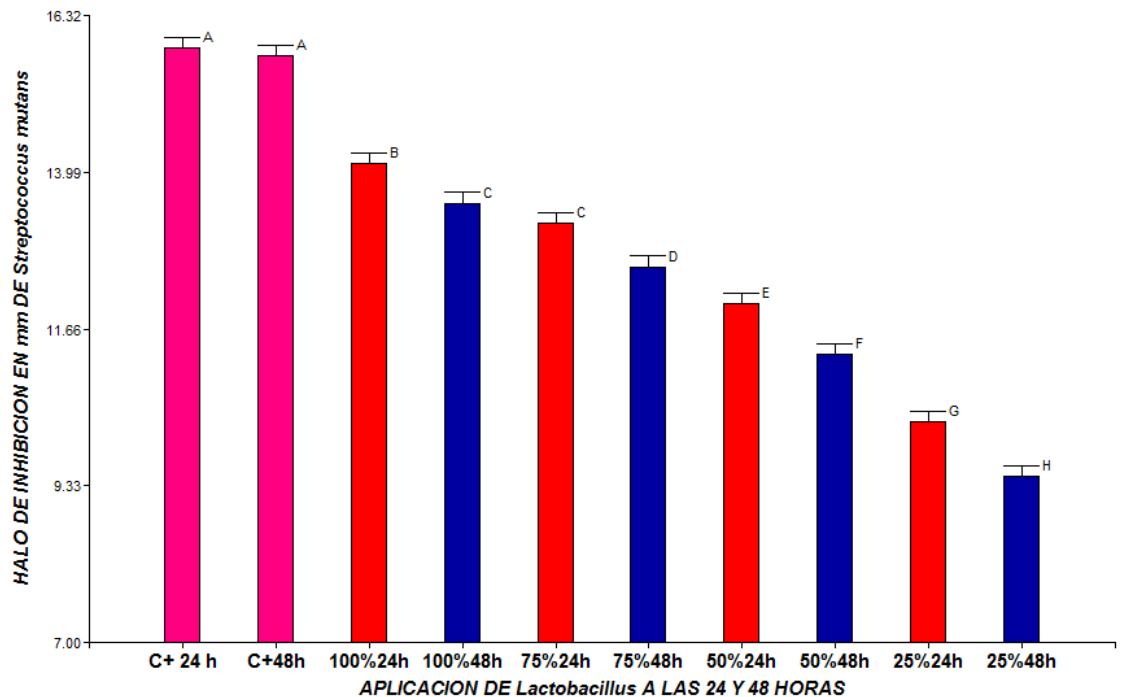
En la tabla 3 se visualiza que los promedios resultaron a las 24 horas y 48 horas, donde se observa que el mejor efecto inhibidor se da a las 24 horas en sus diferentes concentraciones y control positivo en relación a las 48 horas lo que demuestra que a menor tiempo mayor es el efecto inhibitorio del fermento *Lactobacillus plantarum* en sus





diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*. sin embargo, en los resultados se aprecia que el mejor efecto inhibidor se da en la concentración del 100% a las 24 horas seguido por la misma concentración a las 48 horas, el menor efecto inhibitorio lo tiene la concentración a los 25% a las 48 horas. Por lo que afirmamos que a mayor concentración y a menor tiempo mejor efecto inhibidor. En relación al porcentaje de efectividad lo tiene el control positivo a las 24 horas con un 100%, seguido por el mismo control positivo a las 48 horas con un porcentaje de 99.31%, siendo la diferencia porcentual de 0.69%, analizando los porcentajes de efectividad del efecto inhibidor entre las concentraciones de *Lactobacillus plantarum* en relación al control positivo se tiene que el mayor porcentaje de efectividad lo tiene la concentración de 100% de *Lactobacillus plantarum* frente a la bacteria *Streptococcus mutans*. con un 89.13% y el menor porcentaje de efecto inhibidor lo tiene la concentración de 25% de *Lactobacillus plantarum* frente a la bacteria *Streptococcus mutans* con un 59.82% a las 48 horas, siendo la diferencia de efectividad porcentual con el control positivo a las 24 horas de 48.18% de efectividad.

**Figura 3.** Prueba estadística de contraste de Duncan del efecto inhibitor de los halos de inhibición de las concentraciones de 75%, 50% y 25% de *Lactobacillus plantarum* sobre la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.



Fuente: Elaborado por el investigador.

### INTERPRETACIÓN:

En la figura 3 se observa los resultados del análisis de datos con la prueba estadística de análisis de varianza (ANDEVA), siendo la  $C_{\text{calculado}}$  mayor que la  $T_{\text{tabular}}$ , existe una diferencia significativa entre las aplicaciones de la bacteria *Lactobacillus plantarum* en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25% correspondientemente y el control positivo (clorhexidina 0.12%) frente a la bacteria *Streptococcus mutans* a las 24 Y 48 horas, siendo su  $CV = 5.22$  una probabilidad alfa 0.01, por lo que se sometió a la prueba de contraste de medias de Duncan donde se observa en el diagrama de barras, alfa = 0.01,  $EE = 0.4474$  y  $gl = 170$ , el que tiene mejor efecto antibacterianos es el control



positivo a las 24 y 48 horas, en comparación a los demás aplicaciones, el menor efecto los tiene la bacteria *Lactobacillus plantarum* al 25% a las 48 horas.

## 4.2. DISCUSIÓN

El siguiente estudio de investigación tuvo como fundamental objetivo “determinar el efecto antimicrobiano in vitro del *Lactobacillus plantarum* sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, -Puno 2022”, utilizando las concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25% frente al *Streptococcus mutans* y el control + (Clorhexidina al 0.12%), todos estos fueron medidos y evaluados en los plazos de 24 y 48 horas. A partir de las investigaciones encontradas, aceptamos la hipótesis de la investigación que insta que el fermento de *Lactobacillus* tiene un efecto antimicrobiano frente al *Streptococcus mutans*.

Los resultados demostrados en los estudios realizados con el fermento en sus desemejantes aspectos son numerosos:

Los resultados conseguidos en esta estudio revelan que el efecto antimicrobiano del *Lactobacillus plantarum* fue mayor a las 24 horas en comparación de 48 horas donde se obtuvieron el mayor grado de inhibición en clorhexidina al 0.12% que presentaba un control positivo 15.83mm (100% de efectividad) a las 24 horas; luego se continuo con la aplicación del fermento de *Lactobacillus plantarum* al 100% que obtuvo un halo de inhibición de 14.11 mm, al 75% se obtuvo un halo de inhibición de 13.22 mm al 50% se obtuvo un halo de inhibición de 12.03mm y al 25% se consiguió un halo de inhibición de 9.72 mm

Con todo lo investigado permanece confirmada la hipótesis de investigación planteada que indica que el *Lactobacillus plantarum* tiene un efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans*.

Sean demostrado que en las investigaciones de Wasfi R. et al.(10) dio a conocer mediante el microscopio electrónico de barrido revelo una disminución formación de



colonias y la reducción de exopolisacáridos en el estudio realizado probióticos *Lactobacillus* sp. inhibe el crecimiento, la formación de tapiz bacteriano y la expresión genética de *Streptococcus mutans* que induce caries; demostrando el efecto antimicrobiano del “*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*” en concentración al 100% donde los resultados del *Lactobacillus plantarum* obtuvo una zona de inhibición de (19-+1mm) con una ( $p < 0.05$ ) donde los datos fueron más altos que los (14.11mm) con una ( $p < 0.01$ ) obtenidos por mi investigación a las 24 horas.

Similares resultados fueron obtenidos por Zhang G. et all.(2) donde se examinaron 54 cepas del *Lactobacillus* que se encuentran en los aislados de encurtidos tradicionales de Sichuan y evaluar su propiedades antagónicas frente al *Streptococcus mutans* in vitro e in vivo .Seis de las cepas formaron un área inhibitoria alrededor del *Streptococcus mutans* ;obteniendo una mayor actividad antimicrobiana la cepa k41 con un diámetro de inhibición desde (14.7-+1.5mm) en una concentración de al 100% con una ( $p < 0.05$ ).

También en las investigaciones de Dadgar S.et all.(8) se encontraron que en un total de 38 pacientes de las cuales 13 pertenecían al grupo de probióticos experimental de *Lactobacillus plantarum* en un estudio en vivo; cuyo resultado mostro un valor de 16.69 mm de efecto inhibidor sobre el desarrollo de *Streptococcus mutans* con una ( $p < 0.05$ ). Del mismo modo en las investigación de Tanpaisan R. (4) se demostró que de 357 cepas clínicas obtenidas de 100 *Lactobacillus* spp. categorizadas en 3 grupos (A,B y C) donde el grupo A se encontraba el *Lactobacillus plantarum* obtuvo significativamente alta en comparación con los demás con una inhibición de 18 -+1.4 donde ( $P < 0.01$ )

En otras similares investigaciones de Srivastava et all. (10) dio a conocer mediante la microscopia con focal haciendo una medición de densidades óptica observando una



gran inhibición de las biopelículas de *Streptococcus mutans* con los probióticos del *Lactobacillus plantarum* en las concentraciones del 100%, donde se mostró una reducción significativa del (89%) en la actividad del *Streptococcus mutans* en presencia del sobrenadante *Lactobacillus plantarum 108* en comparación con el grupo de control. Similares resultados se demostraron en la biomasa total del biofilm se redujo en un porcentaje del 73% cuando se trató del sobrenadante probiótico; en donde en comparación con nuestro trabajo que se dio en la inhibición del 89.13% de *Streptococcus mutans*.

Sean demostrado en las investigaciones de Lin X. et al.(14) dio a conocer mediante el microscopio electrónico reveló una disminución formación de colonias y la reducción de exopolisacaridos en el estudio realizado en los probióticos *Lactobacillus* sp. inhiben el desarrollo, la formación del biofilms de *Streptococcus Mutans* que estimula la caries; demostrando el efecto antimicrobiano del “*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*” en concentración al 100% donde los resultados del *Lactobacillus plantarum* obtuvo una zona de inhibición de (19-+1mm) con una ( $p < 0.05$ ) donde los datos fueron más altos que los (14.11mm) con una ( $p < 0.01$ ) obtenidos por mi investigación a las 24 horas.



## V. CONCLUSIONES

- Si existe efecto antimicrobiano in vitro del fermento de *Lactobacillus plantarum* al 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento de concentración sobre el *Streptococcus mutans*.
- El fermento de *Lactobacillus plantarum* al 100 por ciento obteniendo el más positivo efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* manifestando ser sensible según la escala de Duraffourd a las 24 horas. A mayor concentración mayor efecto antimicrobiana.
- El fermento de *Lactobacillus plantarum* al 100 por ciento obteniendo el más positivo efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* manifestando ser sensible según la escala de Duraffourd a las 48 horas
- El fermento de *Lactobacillus plantarum* al 100 por ciento tiene mayor efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* a las 24 horas en comparación a las 48 horas manifestando que a poco tiempo y concentración más alta es el efecto antimicrobiano
- Si hay diferencia del efecto antimicrobiano del *Lactobacillus* al 25 por ciento, 50 por ciento, 75 por ciento y 100 por ciento sobre el *Streptococcus mutans* mediante halos con el control ( +) y el control (-) a las 24 y 48 horas.



## VI. RECOMENDACIONES

En vista de los resultados obtenidos se recomienda los siguiente:

**PRIMERO:** Para lograr mayor eficacia del *Lactobacillus plantarum*. sobre otros agentes de microorganismos se sugiere realizar más estudios experimentales *in vitro* del fermento.

**SEGUNDO:** Habiendo tenido resultados favorables y positivos en cuanto al fermento de *Lactobacillus plantarum* se recomienda elaborar estudios comparativos entre los efectos del fermento. sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y otros microorganismos patógenos que habitan en la cavidad oral.

**TERCERO:** Se aconseja efectuar un estudio minucioso de cada componente del *Lactobacillus plantarum*. para determinar el componente exacto que tiene el efecto inhibitorio en el *Streptococcus mutans*.

**CUARTO:** De la misma manera se recomienda investigar los otros componentes del *Lactobacillus plantarum*. como los componentes para hacer un estudio más completo y no solo de sus efectos.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gönczi NN, Strang O, Bagi Z, Rákhely G, Kovács KL. Interactions between probiotic and oral pathogenic strains. *Biol Futur* [Internet]. 2021;72(4):461-71. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42977-021-00091-3>
2. Zhang G, Lu M, Liu R, Tian Y, Vu VH, Li Y, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* Biofilm Formation and Virulence by *Lactobacillus plantarum* K41 Isolated From Traditional Sichuan Pickles. *Front Microbiol*. 2020;11(April):1-12.
3. Zhang Q, Qin S, Xu X, Zhao J, Zhang H, Liu Z, et al. Inhibitory Effect of *Lactobacillus plantarum* CCFM8724 towards *Streptococcus mutans* - And *Candida albicans* -Induced Caries in Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
4. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 2011;53(4):452-9.
5. Zhang Q, Qin S, Huang Y, Xu X, Zhao J, Zhang H, et al. Inhibitory and preventive effects of *Lactobacillus plantarum* FB-T9 on dental caries in rats. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2020;12(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1703883>
6. Zeng Y, Fadaak A, Alomeir N, Wu TT, Rustchenko E, Qing S, et al. *Lactobacillus plantarum* Disrupts *S. mutans*-*C. albicans* Cross-Kingdom Biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12(March):1-12.
7. Lee D, Im J, Park DH, Jeong S, Park M, Yoon S, et al. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acids Possess Strain-Specific Regulatory Effects on the Biofilm Formation of Dental Pathogenic Bacteria. *Front Microbiol*. 2021;12(November).
8. Dadgar S, Heydarian A, Sobouti F, Goli H, Rakhshan V, Heidari M. Effects of





- probiotic and fluoride mouthrinses on *Streptococcus mutans* in dental plaque around orthodontic brackets: A preliminary explorative randomized placebo-controlled clinical trial. *Dent Res J (Isfahan)* [Internet]. 2021;18:74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34760065> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8543094>
9. Karimi N, Jabbari V, Nazemi A, Ganbarov K, Karimi N, Tanomand A, et al. Thymol, cardamom and *Lactobacillus plantarum* nanoparticles as a functional candy with high protection against *Streptococcus mutans* and tooth decay. *Microb Pathog* [Internet]. 2020;148(July):104481. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104481>
  10. Srivastava N, Ellepola K, Venkiteswaran N, Chai LYA, Ohshima T, Seneviratne CJ. *Lactobacillus plantarum* 108 inhibits *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* mixed-species biofilm formation. *Antibiotics*. 2020;9(8):1-20.
  11. Kim AR, Ahn KB, Yun CH, Park OJ, Perinpanayagam H, Yoo YJ, et al. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acid Inhibits Oral Multispecies Biofilm. *J Endod* [Internet]. 2019;45(3):310-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.12.007>
  12. Ahn KB, Baik JE, Park OJ, Yun CH, Han SH. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*. 2018;13(2):1-16.
  13. Wasfi R, Abd El-Rahman OA, Zafer MM, Ashour HM. Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. *J Cell Mol Med*. 2018;22(3):1972-83.



14. Lin X, Chen X, Tu Y, Wang S, Chen H. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of streptococcus mutans and multispecies biofilms isolated from children with active caries. *Med Sci Monit.* 2017;23:4175-81.
15. Kaktcham PM, Zambou NF, Tchouanguép FM, El-Soda M, Choudhary MI. Antimicrobial and safety properties of lactobacilli isolated from two Cameroonian traditional fermented foods. *Sci Pharm.* 2012;80(1):189-203.
16. Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-blicks C. <2010. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by probiotic.pdf>. *BMC Oral Health.* 2010;18(2010):2-7.
17. Lin Y, Chen J, Zhou X, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Crit Rev Microbiol* [Internet]. 2021;47(5):667-77. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1915959>
18. Betancourt Botero SP, Bolívar Escobar GA, Toro CR. High quality protein maize fermentation with *Lactobacillus plantarum* (CPQBA 087-11 DRM) isolated from traditional maize sourdough in Colombia. *Rev Argent Microbiol.* 2013;45(4):282-3.
19. Bailey-Scott Diagnostico microbiologico incompleto.pdf.



## **ANEXOS**

## ANEXO A: “HOJAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS”

MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DEL <i>Lactobacillus plantarum</i> EN mm.						
CONCENTRACIONES		PLACA N°1	PLACA N°2	PLACA N°3	PLACA N°4	PLACA N°5
<i>Lactobacillus plantarum</i> 100 %	repetición 1	13.5	14	14.5	14.5	14.5
	repetición 2	14.5	13.5	15	14	15
	repetición 3	14	13.5	14	13.5	14.5
	repetición 4	14.5	13	14.5	13.5	15
	repetición 5	14	14	15	13.5	15
	repetición 6	14.5	13.5	14.5	14	15
<i>Lactobacillus plantarum</i> 75 %	repetición 1	13.5	13.5	13	14	13.5
	repetición 2	14.5	13	12.5	14	13
	repetición 3	13.5	13	13	13.5	12.5
	repetición 4	12.5	12.5	13.5	14.5	12.5
	repetición 5	13.5	12.5	14	12.5	12.5
	repetición 6	13	13	14	12.5	13
<i>Lactobacillus plantarum</i> 50 %	repetición 1	12	12	13.0	11.5	12
	repetición 2	12.5	11.5	13.5	10.5	11
	repetición 3	12	10.5	12	11.5	13
	repetición 4	12.5	11.5	11	12	12
	repetición 5	12	11	13	11.5	12.5
	repetición 6	12.5	12	12	11	12
<i>Lactobacillus plantarum</i> 25 %	repetición 1	9.0	10	10	9.5	10
	repetición 2	11	9.5	10.5	10	11
	repetición 3	11.5	10	10	9.5	11.5
	repetición 4	10	9.5	10.5	11	10
	repetición 5	11	10	10.5	11.5	10.5
	repetición 6	11.5	10.5	10	9.5	10
clorhexidina al 0.12%	repetición 1	15.5	16	15.0	15	16.5
	repetición 2	16	16.5	16	16.5	16
	repetición 3	16.5	16	16.5	15	16.5
	repetición 4	15	15.5	15	16.5	15.5
	repetición 5	16.5	16	16	16	16
	repetición 6	15	15.5	16.5	15.5	16.5



**ANEXO B: “CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE DE *Streptococcus mutans*”**



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y  
PARASITOLOGIA



**CONSTANCIA DE IDENTIFICACION DE ESPECIE**

El que suscribe coordinador de Microbiología y Parasitología de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:

A solicitud presentada por el Sr. **PEDRO ANCCO RAMOS**, cuyo asunto es la **IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA BACTERIA** para futuro uso experimental.

**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**ASUNTO: IDENTIFICACION DE ESPECIE STREPTOCOCCUS MUTANS**

*Streptococcus mutans* es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o biofilm dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental y es la que más tiene influencia en el desarrollo de dicha enfermedad.

**PROCEDENCIA:**

Cepas aisladas de los investigadores Srta. Rabaly Mamani Zambrano y Srta. Ruth Marleny Flores Atencio en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

**Dominio:** bacteria

**Filo:** firmicutes

**Clase:** Bacilli

**Orden:** Lactobacillales

**Familia:** Streptococcaceae

**Género:** Streptococcus

**Especie:** Streptococcus Mutans



**DR. BALBUENA MARGIO PALACIOS FRISANCHO**

*Balbuena Margio Palacios Frisancho*  
DNI: 00 22 8244  
CARRERAS DE INVESTIGACION EN PUNO



## ANEXO C: “CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE *Lactobacillus plantarum*”



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y  
PARASITOLOGIA  
CONSTANCIA DE IDENTIFICACION DE ESPECIE



El que suscribe coordinador de Microbiología y Parasitología de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:

A solicitud presentada por el Sr. **PEDRO ANCCO RAMOS**, cuyo asunto es la **IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA BACTERIA** para futuro uso experimental.

### RESULTADO DE ANÁLISIS

**ASUNTO: IDENTIFICACION DE ESPECIE LACTOBACILIUS PLANTARUM**

*Lactobacillus Plantarum*, también conocido como fermento de maíz, originaria de América, aunque su cultivo se extiende por Asia, Europa y África.

*Lactobacillus plantarum* es una bacteria en forma de varilla corta, gram positiva, catalasa negativa. También es heterofermentativa facultativa, aeróbica y anaeróbica facultativa. Se encuentran en muchos nichos ambientales y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal de humanos y otros animales.

Pertenece al grupo de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Este es un grupo funcional que comprende bacterias que producen ácido láctico como el principal producto metabólico de la fermentación de carbohidratos.

### PROCEDENCIA:

Provincia de Sandia.

**Dominio:** bacteria

**Division:** firmicutes

**Clase:** Bacilli

**Orden:** Lactobacillales

**Familia:** Lactobacillaceae

**Género:** Lactiplantibacillus

**Especies:** *Lactobacillus Plantarum*

### CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA ESPECIE:

**COLOR:** Blanco amarillentos.

**CANTIDAD:** 2 l.



  
LIC. BAIROBERTO ORTIZ PALACIOS FRISANCHO  
Lic. Bauroberto Ortiz Palacios Frisancho  
DN: 01225404  
ESP. CAL. EST. ADMINISTR. Y MANEJO PUNO



## ANEXO D: “SOLICITUD DE LABORATORIO DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA”

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

SOLICITA: LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

SEÑOR DECCANO DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL  
DEL ALTIPLANO PUNO

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO			
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA			
DECANATO			
RECIBIDO			
14 MAR 2023			
Reg.	Fuente	Hora	Firma
109		07:40	f

Yo, Pedro Ancco Ramos identificado con D.N.I  
N° 47679294, con código de matrícula N°  
120013, estudiantes de la escuela profesional  
de odontología UNA – Puno.

Ante usted con el debido respeto me  
presento y expongo.

Que habiendo recibido el acta de aprobación N° 2022 -2029 del proyecto de tesis titulada  
“EFECTO ANTIMICROBIANO DEL LACTOBACILLUS PLANTARUM SOBRE LAS CEPAS DE  
STREPTOCOCCUS MUTAS PUNO, 2022”, solicito a su digno despacho, se me otorgue el uso de  
su laboratorio de Microbiología para el proceso de cultivo de la bacteria y medición de halos  
de inhibición donde serán necesarios varios instrumentos para su realización según sea el  
caso, todo con previa coordinación sobre horarios e insumos con el fin de no perjudicar  
sesiones académicas y otras actividades.

POR LO EXPUESTO

Solicito a usted acceder a mi petición por ser justo y legal.

Puno, 28 de octubre del 2022

  
Pedro Ancco Ramos  
D.N.I N° 47679294



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

Pase a: Dr. F. Velasco

PARA SU:

1. <input type="checkbox"/> Informe	8. <input type="checkbox"/> Coordinación
2. <input checked="" type="checkbox"/> Conocimiento	9. <input type="checkbox"/> Verificación
3. <input checked="" type="checkbox"/> Opinión	10. <input type="checkbox"/> Dictamen
4. <input type="checkbox"/> Atención	11. <input type="checkbox"/> Control
5. <input type="checkbox"/> Asesoría	12. <input type="checkbox"/> Archivo
6. <input type="checkbox"/> Asesoría Decanal	13. <input type="checkbox"/> Otros
7. <input type="checkbox"/> Difusión	

**INFORME SOBRE RESERVACIONES  
Y PAGO.**

Puno, / 4 de marzo del 2023

  
DECANO (e)  
Roberto Félix P. de Vicuña  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
UNA - PUNO





## ANEXO E: “CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA *Streptococcus mutans*”



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA



### CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANO

EL QUE SUSCRIBE:

Certificado que la pureza de *Streptococcus Mutans* se ha obtenido en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es el agar sangre para observar la actividad hemolítica, y los complejos antígeno anticuerpo.
2. Características ambientales.
  - a. Mesófilo, crece a temperaturas entre 18 a 40 °C.
  - b. Acidófilo, vive en medio de PH.
  - c. Anaerobio facultativo.
3. Para la identificación del *Streptococcus Mutans*, se tomó en cuenta los criterios fenotípicos.
  - a. Morfología macroscópica, borde irregular, elevación cóncava, color blanquecino, forma irregular.
  - b. Morfología microscópica, bacteria coco gran positivo, dispuesto en cadena.
  - c. Resistente o sensibilidad a los antibióticos.
  - d. Propiedades bioquímicas, oxidasa y catalasa negativa, fermentación positiva de rafinosa, manitol, melobiosa thehalosa e inulina; hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina.

Nota: Para la obtención de la cepa pura de *Streptococcus mutans* se siguió los métodos estándar propuesto por el Instituto Nacional de Salud (INS)

Cepas aisladas obtenidas de los investigadores Srta Rubaly Mamaní Zambrano y Srta Ruth Marleny Flores Atencio.



LIC. BAI BENÍ LÓRGO PALACIOS FRISANCHO

Lic. Gabriela Lugo Palacios Frisancho  
D.N.I. 11225984  
EMPLEADA ADMINISTRATIVA F.V.H.U.A.P.A.C.



## ANEXO F: “CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA DE *Lactobacillus plantarum*”



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA Y  
PARASITOLOGIA  
CONSTANCIA DE IDENTIFICACION DE ESPECIE



El que suscribe coordinador de Microbiología y Parasitología de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:

A solicitud presentada por el Sr. PEDRO ANCCO RAMOS, cuyo asunto es la IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA BACTERIA para futuro uso experimental.

### RESULTADO DE ANÁLISIS

**ASUNTO: IDENTIFICACION DE ESPECIE LACTOBACILIUS PLANTARUM**

*Lactobacillus Plantarum*, también conocido como fermento de maíz, originaria de América, aunque su cultivo se extiende por Asia, Europa y África.

*Lactobacillus plantarum* es una bacteria en forma de varilla corta, gram positiva, catalasa negativa. También es heterofermentativa facultativa, aeróbica y anaeróbica facultativa. Se encuentran en muchos nichos ambientales y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal de humanos y otros animales.

Pertenece al grupo de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Este es un grupo funcional que comprende bacterias que producen ácido láctico como el principal producto metabólico de la fermentación de carbohidratos.

### PROCEDENCIA:

Provincia de Sandia.

**Dominio:** bacteria

**Division:** firmicutes

**Clase:** Bacilli

**Orden:** Lactobacillales

**Familia:** Lactobacillaceae

**Género:** Lactiplantibacillus

**Especies:** Lactobacillus Plantarum

### CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA ESPECIE:

**COLOR:** Blanco amarillentos.

**CANTIDAD:** 2 l.



U.T. BAI BUNY LARGO PALACIOS FRISANCHO  
Lic. Baibino Largo Palacios Frisancho  
DN: 01225464  
ESPECIALIZACION EN MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA



## ANEXO G: “CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO EN LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA”



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE HISTOLOGIA



### CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DEL LABORATORIO DE HISTOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

#### HACE CONSTAR:

Que, los señores: PEDRO ANCCO RAMOS, identificado con DNI. 47679294, con código de estudiante N° 120013, de la Escuela profesional de odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNA- PUNO, quienes han realizado su Proyecto de Tesis titulado: “EFECTO ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DEL *Lactobacillus plantarum* SOBRE LAS CELPAS DE *Streptococcus mutans*,-PUNO” para optar el título profesional de cirujano dentista, realizado en el Laboratorio de histología de esta Facultad, en la fecha de septiembre a noviembre del 2022.

Se expide la presente a solicitud de los interesados, para los fines que estimen conveniente.

Puno, 29 de noviembre del 2022



  
LIC. BABITO LORGIO PALACIOS FRISANCHO  
CBP: 2125  
LABORATORIO DE HISTOLOGIA  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO



## ANEXO H: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION	180	0.91	0.90	5.22

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	730.14	9	81.13	181.33	<0.0001
APLICACION	730.14	9	81.13	181.33	<0.0001
Error	76.06	170	0.45		
Total	806.19	179			

### Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.4474 gl: 170

APLICACION	Medias	n	E.E.					
CONTROL+24h	15.83	18	0.16	A				
CONTROL+48h	15.72	18	0.16	A				
Lactabacillus100%24h	14.11	18	0.16		B			
Lactabacillus100%48h	13.53	18	0.16			C		
Lactabacillus75%24h	13.22	18	0.16			C		
Lactabacillus75%48h	12.58	18	0.16				D	
Lactabacillus50%24h	12.03	18	0.16					E
Lactabacillus50%48h	11.28	18	0.16					F
Lactabacillus25%24h	10.28	18	0.16					G
Lactabacillus25%48h	9.47	18	0.16					H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.90	0.90	4.81

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	317.21	4	79.30	199.81	<0.0001
APLICACION	317.21	4	79.30	199.81	<0.0001
Error	33.74	85	0.40		
Total	350.95	89			

### Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.58531

Error: 0.3969 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.				
CONTROL+	15.83	18	0.15	A			
Lactabacillus100%24h	14.11	18	0.15		B		
Lactabacillus75%24h	13.22	18	0.15			C	
Lactabacillus50%24h	12.03	18	0.15				D
Lactabacillus25%24h	10.28	18	0.15				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
Lactobacillus 100% 24 hora..	18	14.11	0.56	13.83	14.39	107.45	<0.0001
Lactobacillus 75% 24 horas..	18	13.22	0.57	12.94	13.51	97.64	<0.0001
Lactobacillus 50% 24 horas..	18	12.03	0.76	11.65	12.40	67.43	<0.0001
Lactobacillus 25% 24 horas..	18	10.28	0.67	9.95	10.61	65.17	<0.0001
CONTROL POSITIVO	18	15.83	0.57	15.55	16.12	118.10	<0.0001

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION	90	0.90	0.90	5.64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	397.91	4	99.48	199.80	<0.0001
APLICACION	397.91	4	99.48	199.80	<0.0001
Error	42.32	85	0.50		
Total	440.23	89			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.65555

Error: 0.4979 gl: 85

APLICACION	Medias	n	E.E.	
CONTROL+48h	15.72	18	0.17	A
Lactabacillus100%48h	13.53	18	0.17	B
Lactabacillus75%48h	12.58	18	0.17	C
Lactabacillus50%48h	11.28	18	0.17	D
Lactabacillus25%48h	9.47	18	0.17	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

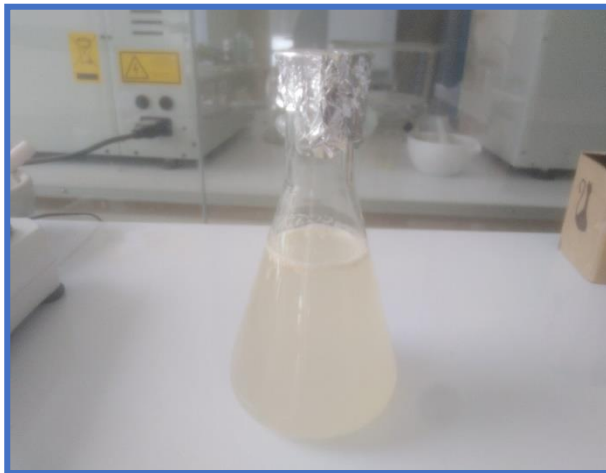
Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

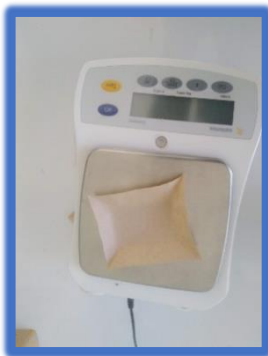
Variable	n	Media	DE	LI(95)	LS(95)	T	p(Bilateral)
100% 48 Horas	18	13.53	0.61	13.23	13.83	94.76	<0.0001
75% 48 Horas	18	12.58	1.02	12.08	13.09	52.43	<0.0001
50% 48 Horas	18	11.28	0.73	10.91	11.64	65.36	<0.0001
25% 48 Horas	18	9.47	0.50	9.22	9.72	80.51	<0.0001
C+ 48 Horas	18	15.72	0.55	15.45	15.99	121.65	<0.0001

## ANEXO I: FOTOGRAFÍAS

### OBTENCIÓN DE *Lactobacillus plantarum*



### MEDICIÓN, PREPARACIÓN, DISOLUCIÓN Y ENVASADO DE LA CEPA



### CEPAS COLOCADAS A BAÑO MARÍA Y SU FINAL OBTENCIÓN.



## COLOCACIÓN EN LA INCUBADORA PARA SU CONSERVACIÓN.



## OBTENCIÓN DE CEPA *Streptococcus mutans*



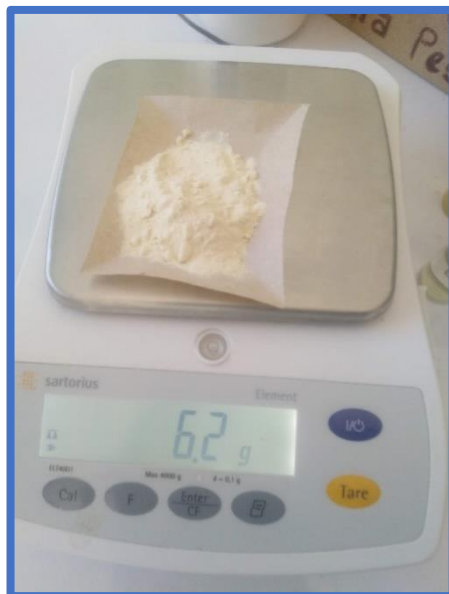
## ESTERILIZADO DE PLACAS PETRI PARA SU POSTERIOR USO Y MEDICIÓN DEL AGAR



## AGAR PARA STREPTOCOCUS Y SU DISOLUCION



## PESAJE DE AGAR LACTOBACILLUS SACADO DE LA REFRIGERADORA

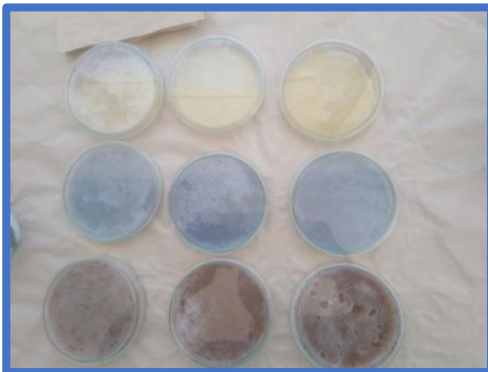




## COLOCACION PARA SU PREPARACION DE LA AGAR Y SU DISOLUCION



## SEMBRADO DE LOS AGARES Y EL AGAR LACTOBACILLUS



## EL AGAR SANGRE Y EL AGAR *Streptococcus mutans*



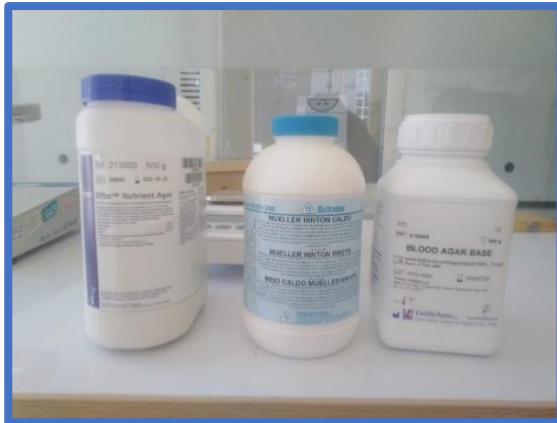
## PREPARACIÓN DE LOS ENVASES CON AGUA DESTILADA EN CONCENTRACIÓN DE 25% 50% 75% Y 100% DE *Lactobacillus*



## POSTERIORMENTE SE PREPARARON LAS PLACAS PARA HACER LA INHIBICIÓN; MEDICIÓN DEL AGAR MAS SU PREPARACIÓN



## AGARES USADOS EN LA PREPARACIÓN



## DISOLUCIÓN DEL AGAR EN COCINA Y LUEGO LLEVADO AL AUTOCLAVE





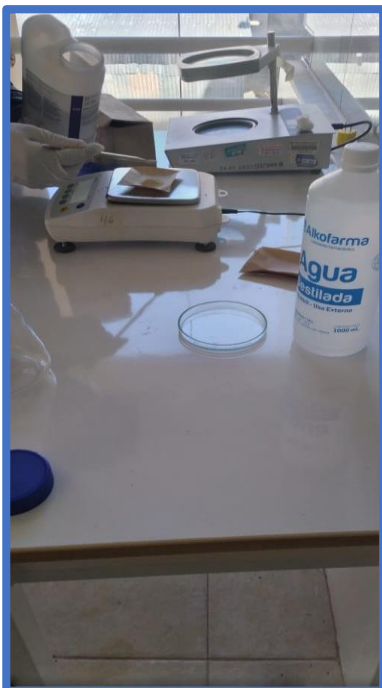
## COLOCAR PLACAS PETRI LAVADAS Y SU LIMPIEZA CON ALCOHOL



## ENVOLVER CON PAPEL KRAFT ; LIMPIAR ERLLENMEYER CON ALCOHOL



## PESADO DEL AGAR; MEDIR EL AGUA DESTILADA CON AGAR



**COLOCAR A LA COCINA Y MANTENER MOVIENDO HASTA PRIMER  
HERVOR; COLOCAR EN AUTOCLAVE POR 15 MIN A 120 °C**



**SACAR Y HACER ENFRIAR LEVEMENTE; ALISTAR LAS PLACAS PETRI  
ESTERILIZADAS YA; SEMBRAR EL *Streptococcus mutans* CONSERVADO EN  
FRASCO**



**COLOCAR EL AGAR CON SANGRE EN LAS PLACAS TENIENDO  
ENCENDIDO EL MECHERO; SEMBRAR EL *Streptococcus mutans***



**CONSERVADO EN FRASCO CON FLAMA CERCA PARA EVITAR  
CONTAMINACIÓN MICROSCÓPICA; REALIZAR LOS HUECOS PARA LOS  
INOCULAS**



## TENIENDO TODO LISTO; OBTENER EL *Lactobacillus* EN UN FRASCO PARA INOCULAR



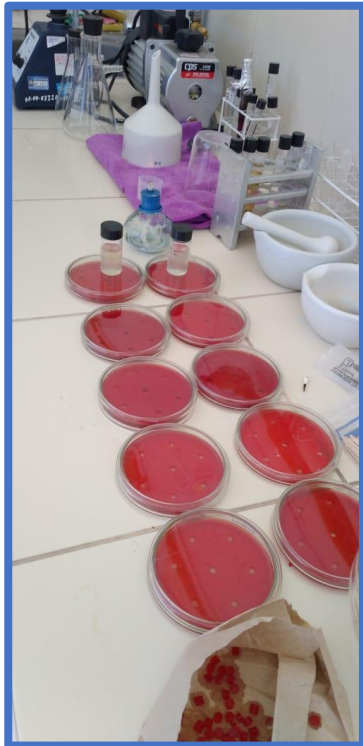
## INOCULACIÓN CON PIPETA



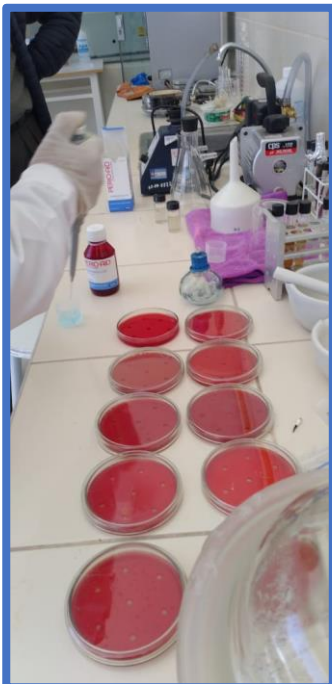


## INOCULACIÓN CON LOS PORCENTAJES Y SU COLOCACIÓN EN PAPEL

### FILTRO CIRCULARES

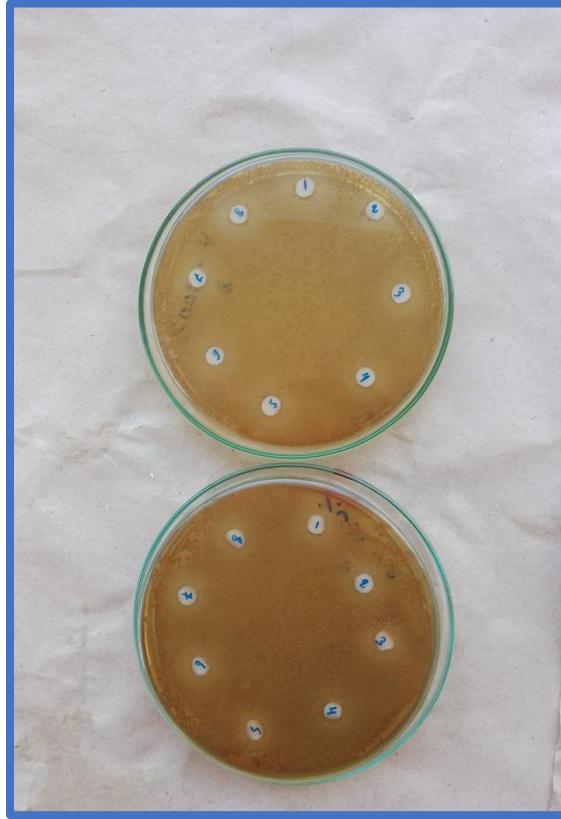


**COLOCACIÓN DE LA CLORHEXIDINA al 012% PARA EL CONTROL;  
FINALMENTE, LLEVADO A LA INCUBADORA**





## HALOS DE INHIBICIÓN DEL *Lactobacillus plantarum* A LAS 24 HORAS 100%





### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Pedro Amico Ramos  
, identificado con DNI 47679294 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Odontología

, informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación para la obtención de  Grado  
 Título Profesional denominado:

" Efecto antimicrobiano in vitro de Lactobacillus plantarum  
sobre las copas de Streptococcus mutans, - Puno 2022  
" Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 20 de abril del 2023

[Firma]

FIRMA (obligatoria)



Huella



## AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Pedro Ancio Ramos  
identificado con DNI 47679294 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

Odontología  
, informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación para la obtención de  Grado

Título Profesional denominado:

“Efecto antimicrobiano in vitro del Lactobacillus plantarum  
sobre los cepas de Streptococcus mutans, - Puno 2022”

” Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

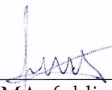
En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 20 de abril del 2023

  
FIRMA (obligatoria)



Huella