

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE
SEMILLAS DEL *LUPINUS MUTABILIS SWEET* Y EL
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%, FRENTE
AL *STREPTOCOCCUS MUTANS*, AREQUIPA 2016”**

Tesis presentada por el bachiller:

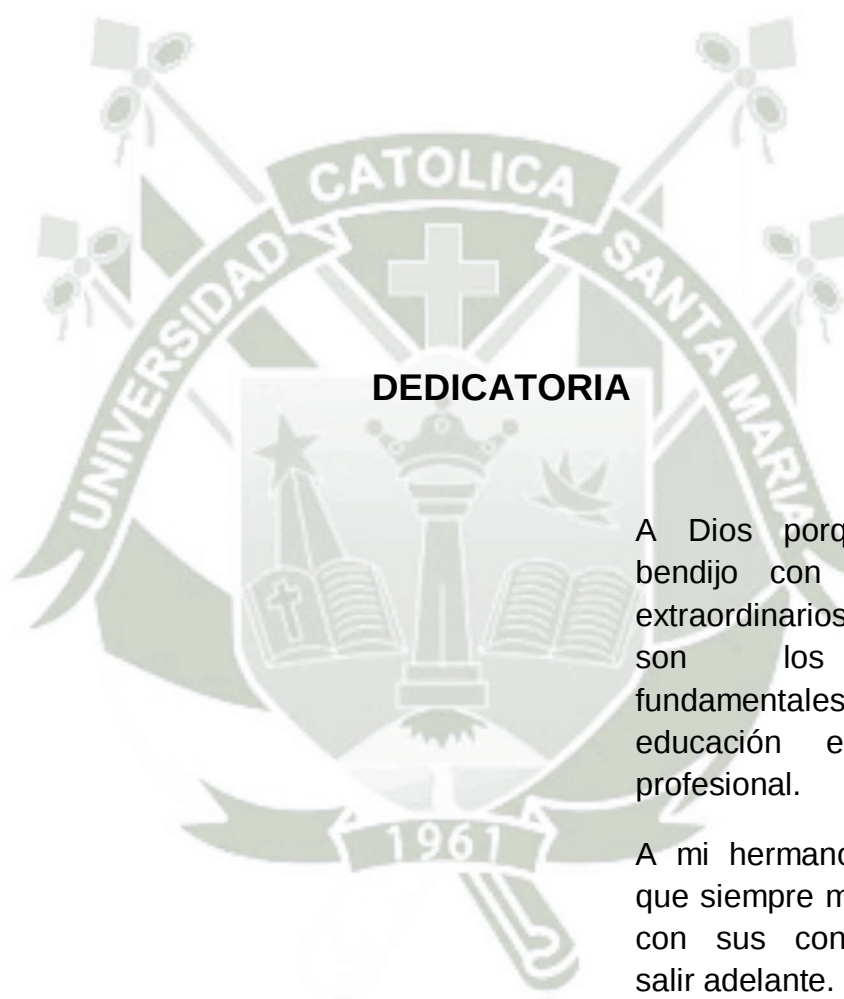
Alejandra Migene Guzmán Del Carpio

Para optar el título profesional de:

Cirujano dentista

Arequipa-Perú

2016



DEDICATORIA

A Dios porque él me bendijo con dos seres extraordinarios, quienes son los pilares fundamentales en mi educación espiritual y profesional.

A mi hermano y cuñada que siempre me apoyaron con sus consejos para salir adelante.

A mi tío Walter por su ayuda para poder realizar mi investigación

Al Biólogo José Fernández Por su ayuda en el proceso de elaboración de la tesis



AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Agustín, en especial al Departamento de Microbiología, por todas las facilidades brindadas.

Y a todas las personas que me brindaron su ayuda en la culminación de este trabajo de investigación

INDICE

RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
INTRODUCCION.....	IX
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO TEORICO.....	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACION.....	2
1.1. DETERMINACION DEL PROBLEMA.....	2
1.2. ENUNCIADO.....	2
1.3. DESCRIPCION DEL PROBLEMA.....	3
a. Área del conocimiento.....	3
b. Análisis de variables.....	3
c. Interrogantes básicas.....	4
d. Tipo de investigación.....	4
e. Nivel de la investigación.....	4
1.4. JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION.....	5
a. Originalidad.....	5
b. Relevación práctico humana.....	5
c. Viabilidad.....	5
d. Contribución académica.....	5
e. Relevancia contemporánea.....	6
f. Interés y conveniencia personal.....	6
2. OBJETIVOS.....	6
3. MARCO TEORICO.....	7
3.1. ESQUEMA DE CONCEPTOS BASICOS.....	7
3.1.1. LUPINUS MUTABILIS.....	7
A. Descripción botánica.....	7
B. Descripción geográfica y hábitat.....	9
C. Uso en la medicina tradicional.....	9
D. Clasificación taxonómica.....	9
E. Composición química.....	10
F. Toxicidad.....	11
3.1.2. GLUCONATO DE CLORHEXIDINA.....	12

A. Grupo químico.....	12
B. Propiedades fisicoquímicas.....	12
C. Mecanismo de acción.....	12
D. Espectro de actividad.....	13
E. Indicaciones y concentraciones de uso.....	13
F. Efectos adversos.....	14
G. Precauciones de uso	14
H. En la odontología.....	15
I. Espectro antimicrobiano.....	15
J. Propiedades biológicas.....	16
K. Toxicidad y efectos colaterales.....	16
L. Indicaciones en la odontología.....	16
3.1.3. STREPTOCOCCUS MUTANS.....	17
A. Clasificación.....	17
B. Streptococcus del grupo mutans.....	18
C. Streptococcus mutans.....	18
D. Factores de virulencia de los streptococcus mutans.....	19
3.1.4. MEDIOS DE CULTIVO.....	21
A. Concepto.....	21
B. Composición.....	21
C. Condiciones.....	23
D. Controles.....	23
E. Clasificación.....	23
F. Medios de cultivo utilizados.....	24
4. HIPOTESIS.....	26
CAPITULO II: PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	27
1. TECNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACION.....	28
1.1. Técnica.....	28
1.2. Instrumento.....	28
1.2.1. Instrumento documental.....	28
1.3. Material.....	28
1.3.1. Material biológico.....	28
1.3.2. Medios de cultivo.....	29
1.3.3. Equipos de laboratorio.....	29
1.3.4. Instrumental de laboratorio.....	29

1.3.5. Material de escritorio.....	30
1.3.6. Otros.....	30
1.4. Técnicas.....	30
2. CAMPO DE VERIFICACION.....	44
2.1. UBICACIÓN ESPACIAL.....	44
2.2. UBICACIÓN TEMPORAL.....	44
2.3. UNIDADES DE ESTUDIO.....	44
3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCION.....	45
3.1. Organización.....	45
3.2. Recursos.....	45
3.3. Validación del instrumento.....	46
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS.....	46
4.1. A nivel de sistematización.....	46
4.2. A nivel de estudio de datos.....	47
4.3. A nivel de conclusiones.....	48
4.4. A nivel de recomendaciones.....	48
5. CRONOGRAMA DE TRABAJO.....	49
CAPITULO III: RESULTADOS.....	50
CONCLUSIONES.....	58
RECOMENDACIONES.....	59
BIBLIOGRAFIA.....	60
HEMEROTECA.....	64
INFOMATOGRAFIA.....	65
ANEXOS	

RESUMEN

El *Streptococcus Mutans* es el principal microorganismo relacionado con el proceso cariogenico, se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental. La búsqueda de nuevas fuentes de control del agente patógeno de procedencia natural, me incentivo a realizar un estudio con el objetivo de establecer la actividad antibacteriana del extracto de semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet, frente al *Streptococcus Mutans*. Se hizo un repicaje en Brain Heart Infusion (BHI), y en placas Petri conteniendo Agar Mitis Salivarius, medio de cultivo selectivo. Finalmente se procedió a efectuar la investigación por el método de dilución y conteo de colonias, para corroborar la actividad antibacteriana. En conclusión validamos la existencia de la propiedad bactericida del extracto de semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet mediante las técnicas estadísticas de ANOVA, TUKEY y T-STUDENT. Siendo efectiva en cultivo in vitro sobre el *Streptococcus Mutans*, pero también se determinó que posee un menor registro significativo en comparación con el Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, reiterando su disminución de efecto inhibitorio del *Lupinus Mutabilis* sweet a medida que disminuye su concentración, observando que la actividad es bactericida a una concentración de 10 mg/ml, lo que resulta valioso.

Palabras claves:

Lupinus Mutabilis sweet

Gluconato de Clorhexidina

Streptococcus Mutans

ABSTRACT

Streptococcus Mutans is the main microorganism related to the cariogenic process is associated with the onset and development of dental caries. The search for new sources of control naturally occurring pathogen, incentive me to conduct a study with the aim of establishing the antibacterial activity of the extract of seeds of *Lupinus Mutabilis* sweet, against *Streptococcus Mutans*. One repicaje was in Brain Heart Infusion (BHI), and in Petri dishes containing Agar Mitis salivarius, selective culture medium. Finally, we proceeded to carry out research by the method of dilution and colony counting, to corroborate the antibacterial activity. In conclusion, we validate the existence of the bactericidal property seed extract sweet *Lupinus Mutabilis* by ANOVA statistical techniques, TUKEY and T-STUDENT. It is effective in in vitro culture of *Streptococcus Mutans*, but also determined that has a significantly lower registration compared with Chlorhexidine Gluconate 0.12%, reiterating its decreased inhibitory effect of *Lupinus Mutabilis* sweet with decreasing concentration, watching the activity is bactericidal sweet at a concentration of 10 mg / ml, which is valuable.

Keywords:

Lupinus Mutabilis sweet

Chlorhexidine Gluconate

Streptococcus Mutans

INTRODUCCION

La medicina alternativa constituye una valiosa contribución, ya que las plantas poseen una fuente inagotable de una serie de principios activos, muchos de los cuales han sido de utilidad en el tratamiento de diversas patologías, dando así solución a los problemas en la Salud pública y una opción ante la falta de medicamentos, que en ocasiones suelen tener un alto precio en el mercado nacional e internacional que los hace inalcanzables para aquellas personas de menores recursos económicos.

Así mismo, muchos de los usos de las plantas como parte de la medicina tradicional, se encuentra a nivel de testimonios, por lo que se hace indispensable el estudio sistematizado de las mismas. Actualmente se están realizando estudios para evaluar los efectos de las diferentes plantas medicinales de acuerdo a uso popular que se les atribuye.

El género *Lupinus* es uno de los más diversos de la familia Leguminosae. El *lupinus Mutabilis* sweet es una leguminosa oriunda de los andes sudamericanos, las semillas desamargadas y en conocimiento son utilizadas por el poblador andino de nuestro país como alimento y medicina.

Si bien es cierto el género *Lupinus* ha sido estudiado desde el punto de vista nutricional, por su alto contenido de alcaloides no se ha permitido el consumo directo, debiendo previamente eliminarse estos. El producto líquido del desmargado ha sido utilizado por pequeños agricultores como regulador del crecimiento o fertilizantes en los cultivos de maíz, trigo soja y papa, ante el ataque de hongos e insectos y otros como posible cura a enfermedades bucales.

En el proceso hídrico de desamargado se elimina alcaloides, siendo su contenido más alto en el agua de infusión, por lo que al ser eliminadas estas sustancias indiscriminadamente, contribuye a los procesos de contaminación ambiental. Ante esta problemática se busca alternativas para reutilizar este residuo y elaborar productos beneficios para el hombre, aprovechando las propiedades benéficas que poseen los alcaloides presentes en el agua de desamargado.

Además no podemos dejar pasar por alto la gran incidencia que tiene en nuestro medio la caries, por lo que el control de los agentes implicados causales de esta enfermedad debe buscar nuevas alternativas.

En este contexto, y en base a estudios preliminares que han demostrado las propiedades que pueden ser explotadas a partir de los alcaloides, el objetivo de esta investigación fue evaluar in vitro la actividad antibacteriana de los alcaloides del *Lupinus Mutabilis* sweet sobre cepas de *Streptococcus Mutans* y comparándolo con el efecto del Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, ya que su uso es cada vez mayor en la odontología; además de su amplio espectro de acción antibacteriana.



CAPITULO I

PLANTEAMIENTO

TEÓRICO

CAPITULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

El conocimiento de las propiedades curativas de las plantas ha sido y es un reto constante que nos ha llevado por los caminos de la investigación, es de interés personal conocer la aplicación de las semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet en el área de la odontología, debido a que, actualmente se le atribuye diferentes propiedades que pueden ser valiosos en nuestra práctica, actuando en la disminución del *Streptococcus Mutans* en la cavidad oral, ya que se ha comprobado que son los principales microorganismos iniciadores de la caries.

Por esta razón es necesario realizar estudios que permitan conocer en mejor forma las propiedades y limitaciones del *Lupinus Mutabilis* sweet, con el fin de utilizarlos confiablemente, ya que posee más accesibilidad a la mayoría de poblaciones por su bajo costo y disponibilidad en el país.

1.2. ENUNCIADO

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE SEMILLAS DE LUPINUS MUTABILIS SWEET Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%, FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, AREQUIPA 2016”.

1.3. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

a. Área del conocimiento

- **Área General:** Ciencias de la salud.
- **Área Específica:** Odontología.
- **Especialidad:** Microbiología Bucal.
- **Línea o tópico:** Fitoterapia.

b. Análisis de variables

TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	INDICADORES	SUB INDICADORES
Variable Estimulo 1	Extracto de semillas de <i>Lupinus Mutabilis</i> sweet “tarwi”.	Solución al 10%	Bactericida Bacteriostático
Variable estimulo 2	Gluconato de Clorhexidina.	Solución al 0.12%	
Variable Respuesta	Actividad antibacteriana sobre el <i>Streptococcus Mutans</i> .	Dilución y conteo de colonias	

c. Interrogantes básicas:

1. ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de semillas del *Lupinus Mutabilis* sweet, frente al *Streptococcus Mutans*?
2. ¿Cuál es la actividad antibacteriana del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus Mutans*?
3. ¿Cuál de las dos soluciones, tiene mayor actividad antibacteriana frente al *Streptococcus Mutans*?

d. Tipo de investigación

La presente investigación es laboratorial

e. Nivel de investigación del problema:

Es una investigación experimental y comparativa porque utiliza el influjo de dos variables estímulo aplicadas para ver su aspecto modificante sobre una variable respuesta.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio se justifica por las siguientes razones:

a. Originalidad

En el medio no se registró antecedentes investigativos en el efecto que tiene el extracto de semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet frente al *Streptococcus Mutans*.

b. Relevancia practico humana

La presente investigación es relevante porque da mayor énfasis a los productos naturales como el *Lupinus Mutabilis* sweet, pudiendo darle así, un valor importante a la Medicina Alternativa en el campo de la Odontología, que además beneficiara a un número elevado de pacientes por la técnica sencilla de aplicación, bajo costo y una alternativa natural para el control de uno de los causantes de la caries dental.

c. Viabilidad

La investigación es viable, ya que existe disponibilidad bibliográfica, recursos humanos, físicos y financieros para planificar y ejecutar eficazmente el presente estudio.

d. Contribución académica

A partir de este trabajo de investigación se pretende desarrollar una teoría basada en el estudio de las propiedades de las semillas del *Lupinus Mutabilis* sweet, siendo además la microbiología el área básica

escogida para evaluar la eficiencia sobre *Streptococcus Mutans*, especie más patógena en la producción de caries.

e. Relevancia contemporánea

Propone una alternativa para la disminución de *Streptococcus Mutans* en la boca.

f. Interés y conveniencia personal

Radica en el estudio de las propiedades de las semillas del *Lupinus Mutabilis* sweet, puesto que estas propiedades no han sido aplicadas en el aspecto bacteriológico sobre el *Streptococcus Mutans* y además esta investigación me permitirá obtener el título profesional de cirujano dentista.

2. OBJETIVOS

1. Establecer la actividad antibacteriana del extracto de semillas del *Lupinus Mutabilis* sweet frente al *Streptococcus Mutans*.
2. Establecer la actividad antibacteriana del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus Mutans*.
3. Comparar cuál de las dos soluciones, Tiene mayor actividad antibacteriana frente al *Streptococcus Mutans*.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. ESQUEMA DE CONCEPTOS BÁSICOS

3.1.1. *LUPINUS MUTABILIS*

Muchas especies del género *Lupinus* se ha utilizado para consumo animal y humano desde tiempos remotos, debido a su elevado poder nutritivo y su resistencia a condiciones extremas. Sin embargo, su uso se ha visto restringido debido a la presencia de alcaloides.¹

***LUPINUS MUTABILIS* SWEET TARWI**

FIGURA 1: Tarwi (*Lupinus Mutabilis* sweet)¹



A. Descripción botánica

Es una leguminosa de origen andino. Se cultiva principalmente entre los 2.000 y 3.800 msnm, en climas templados y fríos.

¹ <http://3.bp.blogspot.com/-DPRpXfOMvw8/UmgBmezjCqI/AAAAAAAAACQ/BkVfZLiCQrU/s1600/tarwi+a.jpg>

- **Tallo.** Robustos y leñosos.
- **Hojas.** Las hojas tienen forma alargada. En la base del peciolo existen pequeñas hojas. Se diferencia de otras especies de *Lupinus* en que las hojas tienen menos vellosidades. El color puede variar de tamaño verdoso a verde oscuro.²
- **Flores:** varían en color desde el azul el morado y dependen de las hojas para atraer a los insectos polinizadores. Estas emiten un aroma parecido al de la miel. La vainas de 5 a 10 cms. de largo.²
- **Semilla.** Contienen de 2 a 6 semillas por vaina y pueden ser ovaladas, redondas o cuadrangulares de 0.6 a 1 cm de diámetro. Las semillas son de coloración muy variada que van de blanco o marrón negruzco. Los colores del grano también incluyen amarillo, gris, ocre, pardo, castaño, marrón y colores combinados como marmoleados, media luna, ceja.²

FIGURA 2: Semillas de Tarwi (*Lupinus Mutabilis* sweet)³



² http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/cdrom/contenido/libro10/cap03_1_3html

³ <http://gsperu.bligoo.com.pe/media/users/20/1001619/images/public/240277/tartar.jpg?v=1332897115973>

B. Descripción geográfica y hábitat

Es una planta sudamericana tradicionalmente en los Andes, se encuentra en los países de Perú, Ecuador y Bolivia. **(CAICEDO Y PERALTA 2000)**

- *Lupinus Mutabilis* sweet, chocho (norte de Perú y Ecuador)
- *Lupinus Mutabilis* sweet, “tarwi” (centro y sur de Perú) ³

Respecto a las condiciones de luz esta planta se encuentra expuesta en pleno sol sin ninguna protección. ⁴

C. Uso en medicina tradicional

Los pobladores andinos utilizan el *Lupinus Mutabilis* como abortivo, utilizando las hojas y flores; en los abscesos, empleando las hojas; en úlceras y reumatismos se usan las semillas; para erradicar los ectoparásitos de sus animales empleando el agua proveniente del lavado de las semillas.⁵

D. Clasificación taxonómica

El tarwi es una planta que pertenece a la familia botánica Fabáceas. La especie comprende diversas variedades diferenciadas en base a características como: desarrollo y tamaño de la planta. ⁶

TABLA 1: Clasificación taxonómica ⁷

CLASIFICACIÓN	DESCRIPCIÓN
NOMBRES COMUNES	Tarwi, chocho, tauri, Muti
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Lupinus mutabilis</i>
REINO	Vegetal
DIVISIÓN	Espermatofitas
CLASE	Dicotiledóneas
ORDEN	Fabales
FAMILIA	Fabáceas (Leguminosas)
SUBFAMILIA	Faboideae
TRIBU	Cytiseae
GENERO	<i>Lupinus</i>
SUBGÉNERO	<i>Platycarpus</i>
ESPECIE	<i>Mutabilis</i>

E. Composición química

El componente más importante, según antecedentes teóricos, es el alcaloide.

La identificación y cuantificación de los alcaloides del *Lupinus Mutabilis* sweet, es de gran importancia, ya que la toxicidad y el sabor amargo del grano dependen del tipo y proporción de estos componentes. De los alcaloides identificados, la lupanina es el mayor constituyente, pues alcanza el 2.5% en el grano crudo y el 11.5% en el extracto. El segundo en importancia es la esparteína y

⁷http://cipca.org.pe/cipca/información_y_desarrollo. Año 2008

⁸ Villacres, E., Propiedades Y Aplicaciones De Los Alcaloides Del Chocho. Pág.6

corresponde al 0.32% en el grano crudo y 2.5 % en el extracto purificado.⁸

Otros compuestos como la 3-B-hidroxilupanina y 13-hidroxilupanina y tetrahidrorombifolina, se encuentran en menor cantidad. Este último alcaloide desaparece durante la purificación y concentración del extracto.

F. Toxicidad:

Las semillas en fresco se pueden utilizar en guisos, purés, salsas, ceviches, sopas, postres y jugos con harina de *Lupinus Mutabilis* sweet. También puede ser utilizado en panificación.

Además hay investigaciones que confirman que el hombre puede consumir hasta 2.5Kg de semilla de Lupino desamargado por día, sin sufrir daño alguno.⁹

⁸hatzold T. Quinolizidine alkaloids in seeds of lupinus mutabilis J. Agric. Food Chem. Pág. 934-935

3.1.2. GLUCONATO DE CLORHEXIDINA

A. Grupo químico

Clorofenilbiguanida. Es el antiséptico más efectivo del grupo de las biguanidas.¹⁰

B. Propiedades fisicoquímicas

Es una base fuerte. Sus distintas sales (diacetato, diclorhidrato, digluconato) son más solubles en alcohol que en agua. El digluconato es la sal más soluble en agua; a causa de su alta solubilidad. Es incolora, inodora (con excepción de las sales de diacetato) y tiene gusto amargo.¹¹

C. Mecanismo de acción

Se absorbe rápidamente por difusión pasiva a través de las membranas, tanto de las bacterias como de las levaduras. El efecto bactericida de la clorhexidina empieza con su unión a la pared celular de las bacterias (cargadas negativamente), por tratarse de una molécula catiónica a pH fisiológico. A bajas concentraciones esa unión causa una alteración del equilibrio osmótico de la bacteria que provoca un efecto bacteriostático. Sin embargo, a altas concentraciones su acción bactericida se debe a la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos. Tiene una duración de acción prolongada de 6 horas, a causa de su afinidad por adherirse a la piel y a las membranas mucosas.¹²

¹⁰ Carranza, Fermin A. Newman, Michael G. Periodontología Clínica Pag.557

¹¹ <http://carefirst.staywellsolutionsonline.com/spanish/relateditems/121,1059es>

¹² Seif R., "Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental", Revista Actualidad Medico- Odontológico, 1997. Pág. 266

D. Espectro de actividad

Espectro de actividad Se trata de un agente bactericida de potencia intermedia, más activo frente a microorganismos Gram positivos que Gram negativos,¹³

Gram positivos	Gram negativos	Micobacterias	Virus lipídicos	Virus no lipídicos	Hongos	Esporas
+++	++	Bacteriostático (+)	++	-	+	-

Alcanza su máxima eficacia a un pH neutro o ligeramente ácido. Previene la formación de placa, rompiendo la placa existente e inhibiendo la gingivitis, debido a su concentración catiónica.¹⁴

E. Indicaciones y concentraciones de uso

- En la antisepsia de la piel en el preoperatorio: se utilizan al 0.5%.
- En el cuidado de la piel alrededor de la zona de inserción de catéteres se utiliza una solución acuosa al 2% o cremas de clorhexidina al 0.5%.
- Como antisepsia de la piel en heridas, rozaduras y quemaduras y en la limpieza obstétrica: se emplean soluciones acuosas del 0.5 al 2% de digluconato o diacetato de clorhexidina.
- En la higiene bucal como adyuvante en el tratamiento al 0.12% y prevención de gingivitis, cirugía periodontal, mantenimiento en el tratamiento periodontal al 0.05%.¹⁵

¹³Asociacion Odontológica Argentina P. Niños Vol.2, N°3 Pág.17

¹⁴<http://www.strijp.chlorhexidine/mutansstreptococci/ms>

¹⁵Bascones A, Manso. Clorhexidina en odontoestomatología: conceptos actuales y revisión de la literatura. Avances en Odontoestomatología Pág. 685.

F. Efectos adversos

Puede producir reacciones alérgicas, irritación de la piel y mucosas, pero son de escasa prevalencia. La frecuencia de irritación dérmica depende de la concentración. Los enjuagues de clorhexidina ocasionan alteraciones del gusto de forma temporal cuando se administran de forma continuada.¹⁶

G. Precauciones de uso

Es un antiséptico muy seguro, ya que su absorción a través de la piel y la mucosa intestinal es mínima. Sin embargo tener en cuenta las siguientes precauciones:

- No debe utilizarse en la preparación preoperatoria de la piel de la cara y la cabeza.
- Es importante extremar las precauciones en caso de perforación del tímpano.
- Debe evitarse el contacto con los ojos.
- En la higiene bucal se recomienda no utilizar clorhexidina durante más de seis meses porque perjudica el esmalte dental.¹⁷

Por sus propiedades catiónicas, la clorhexidina también se une electrostáticamente a la hidroxiapatita de los dientes, esto significa que los depósitos de clorhexidina son liberados lentamente, manteniendo de esta forma el fármaco activo durante un tiempo.¹⁸

¹⁶ Greenstein G, Berman C, Jafin R. Chlorhexidine: as adjunct to periodontal therapy. J of Periodontol Pág. 357.

¹⁷ <http://www.db.odonto.lu.se/chxstart.html-chlorhexidin.html>

¹⁸ Velasco Martín, Alfonso. Farmacología. Pág. 1242.

H. En la odontología

En la odontología la preparación bucal común es el digluconato de clorhexidina.¹⁹

El mecanismo de acción de la clorhexidina está relacionado con la reducción de la formación película salival, alteración de la absorción de bacterias de los dientes y alteración de la pared celular bacteriana.²⁰

La interacción de la clorhexidina con la bacteria comienza con la absorción en la pared celular. La integridad de la membrana se altera y se facilita la liberación de los componentes intercelulares.²¹

I. Espectro antimicrobiano

Reduce los organismos aerobios y anaerobios de la placa en un 64-67% en 6 meses. Es el agente antimicrobiano de elección para disminuir el número de microorganismos cariogénicos.²²

A pH entre 5 y 8 es un bactericida muy rápido y eficaz frente a bacterias Gram positivas y muchas negativas, pero ineficaz sobre bacterias ácido-resistentes o virus.²³

Durante un periodo de 40 días, utilizando diariamente un buche de 10 ml de clorhexidina al 0.12% se presenta una reducción entre 85 y 90% del número total aerobios y anaerobios presentes en la saliva.²⁴

¹⁹ Barrios M. Gustavo. Odontología sus fundamentos Biológicos Pág.230.

²⁰ <http://www.medisa.pt/cd/cap14.html>

²¹ http://www.odontologosecuador.com/espanol/artodontologos/gluconato_dental.htm.

²² López J. Del Carmen Manual de Odontopediatria. Pág. 40.

²³ Cultura Odontológica, Revista Especializada. Pág.37.

²⁴ Negróni. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Pág. 265.

La clorhexidina es también efectiva contra la candida albicans in vitro e in vivo.²⁵

Una vez absorbida, la clorhexidina muestra una acción antibacteriana persistente que dura 12 horas.²⁶

J. Propiedades biológicas

La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y las mucosas, incluidas las vías gastrointestinales, por lo tanto no se ha descrito toxicidad sistemática.²⁷

Es escasa la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal, desapareciendo si es ingerido al cabo de 12 horas. La clorhexidina se absorbe escasamente, por lo tanto su toxicidad es baja.²⁸

K. Toxicidad y efectos colaterales

El uso de clorhexidina posee efectos secundarios, en especial manchas pardas de los dientes y restauraciones de resinas, así como la alteración pasajera de la percepción gustativa.²⁹ Tratamientos con clorhexidina reducen la intensidad en la percepción de la sacarosa y soluciones del ácido cítrico.³⁰

L. Indicaciones en la odontología³¹

Actividad anti placa	Gingivitis	Periodontitis	Cirugía periodontal	Alta actividad de caries	Irrigación de conductos
-------------------------	------------	---------------	------------------------	-----------------------------	----------------------------

²⁵ Jan Lindhe Periodontología Clínica E Implantología Odontológica. Pág.748.

²⁶ Vicente Ausina Ruiz, Santiago Moreno Guillén Tratado de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Pág. 233.

²⁷ Juan Martínez Hernández Manual de higiene y medicina preventiva hospitalaria. Pág. 48.

²⁸ Revista N°4 de la Asociación dental mexicana Pág. 213

²⁹ Roberto Pelta Fernández, Mar Gandolfo Cano. Guía de alergia para residentes y Atención Primaria. Pág.263

³⁰ Andrés Bello. Vademecum Farmacológico-terapéutico Pág.400

³¹ Richard J. Lamont, George N. Hajishengallis, Howard F. Jenkinson Microbiología e inmunología oral Pág.123

3.1.3. *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Los estreptococos son un grupo grande de cocos Gram positivos que se desarrollan en pares o cadenas.³²

Microrganismos esféricos que crecen en cadenas, se aislaron primera vez de exudados purulentos en 1874. El género streptococcus pertenece a la familia de los streptocaceae. Los streptococos facultativos forman el grupo más numeroso en la cavidad oral, promediando en la mayoría casi la mitad de las cuentas viables de saliva y dorso de la lengua aproximadamente $\frac{1}{4}$ de las cuentas viables de la placa y en surco gingival.³³

A. Clasificación

Las clasificaciones que se han propuesto para estas bacterias son innumerables y se basan en sus distintas características; las más actuales tienen en cuenta la biología molecular.³⁴

Los *Streptococcus* se clasifican de acuerdo a las siguientes características:

- Estructura antigénica
- Características fisiológicas
- Características genéticas y estructurales
- Tipo de hemólisis³⁵

³²Liebana José, "Microbiología Oral" Pág. 326-328

³³Burnett George. Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca pág. 507

³⁴Stuart Walker "Microbiología" Pág. 112.

³⁵Jawetz E. Melnick J., Alderberg E.A., Microbiología Médica. Pág. 65

B. *Streptococcus* del grupo mutans

Su presencia en la placa bacteriana se ve favorecida por el alto nivel de sacarosa en la dieta. Son los principales productores de ácido in vivo. En este grupo la especie más predominante del mundo es la descrita como *S. Mutans* que se encuentra en el 90% de personas.³⁶

C. *Streptococcus Mutans*

Streptococcus Mutans fue descrito por primera vez por Clarke en 1924 pero recientemente ha aumentado el interés por esta especie.³⁷

Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa bacteriana o biofilm dental.

Metaboliza la sacarosa para producir polisacáridos extracelulares (sustancia laxa que facilita su adhesión a las caras libres de las piezas dentarias) e intracelulares (metabolismo energético).³⁸

Es el microorganismo más relacionado con la caries dental; se instaure en la cavidad bucal poco después del brote de la dentición temporal, pues carece de capacidad de adhesión a los tejidos blandos bucales; transitoriamente se halla en la saliva, cuya concentración de *S. mutans* se relaciona con el nivel de infección en la placa dentobacteriana.

³⁶ Bruneton Jean. "Elementos de Fotoquímica y Farmacognosia". Pag.508

³⁷ Pumarola, Luis. Operatoria Dental Procedimientos Preventivos y restauradores Pag.5-6.

³⁸ Koneman, Elmer, Diagnostico Microbiológico Pag.580

El *S. mutans* se adquiere por transmisión directa o indirecta: la transmisión indirecta es menos frecuente, ocurre por las gotitas de flügge de saliva con unidades formadoras de colonias de *S. mutans* depositadas en superficies inanimadas. La supervivencia aproximada fuera de la cavidad bucal es de 24 horas, la transmisión directa es más frecuente, requiere de aproximación o contacto estrecho entre 2 personas, de forma que los microorganismos diseminados por las gotitas de flügge de la saliva sean recibidos por el nuevo hospedero. Diversos factores influyen en la transmisión, que es más fácil durante la primera infancia, por lo que las personas con alta infección por *S. mutans* convivientes con infantes pueden transmitirle el microorganismo.

Los padres y en especial las madres han sido identificados como principales responsables de la infección temprana de sus hijos. Existe evidencia de la asociación entre los niveles de infección de los niños y la prevalencia e incidencia de caries.³⁹

D. Factores de virulencia de los *Streptococcus Mutans*

ACIDOGÉNESIS: rápidamente se metabolizan los azúcares por la vía glicolítica, así se alcanza el pH crítico de desmineralización de 4,5 – 5,5. Presenta distintos mecanismos enzimáticos para el transporte de azúcares al interior de la célula. Éstos sufren un proceso de fermentación y producción de ácidos, principalmente ácido láctico.

³⁹ García Rodríguez José. Microbiología Medica General y Clínica. Pág.204

ACIDOFILIA: la acidificación, producto de la fermentación de carbohidratos, favorece el crecimiento de *S. mutans* y al mismo tiempo inhibe el de microorganismos comensales, como *S. sanguinis*; *S. gordonii*; y *S. oralis*.

Sólo *S. mutans* puede producir ácidos, a partir de la fermentación de los azúcares, a pH 4,4; desarrollar pH 4.8 y sobrevivir sobre estas condiciones de estrés al percibir rápidamente los cambios ambientales, lo que permite modificar su fisiología.

BACTERIOCINAS: *S. mutans* produce diversas bacteriocinas, mutacinas, que participan de un proceso de competición microbiana. Las mutacinas inhiben a los microorganismos comensales competidores, como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, y aún a otras especies de estreptococos del grupo mutans. Juegan un papel importante, en la transferencia de cepas más o menos virulentas.

⁴⁰. Mouton, Christian. Bacteriología Bucodental. Pag.49

3.1.4. MEDIOS DE CULTIVO

A. Concepto

Son preparados que intentan reproducir artificialmente las condiciones del hábitat natural de los agentes bacterianos. Sus componentes deben cubrir todas las necesidades nutricionales de las bacterias que se van a estudiar y deben incorporarse en una mezcla justa y equilibrada.

B. Composición

Peptonas: Son mezclas complejas de compuestos orgánicos nitrogenados y sales minerales que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales. Las peptonas son muy ricas en péptidos y aminoácidos pero pueden ser deficientes en determinadas vitaminas y sales.

Extractos: Para su preparación, ciertos órganos o tejidos animales o vegetales los cuales son extraídos con agua y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo⁴⁰

Fluidos Corporales: Estos contribuyen no solamente con factores de crecimiento, sino también con sustancias que neutralizan inhibidores

del crecimiento de algunas bacterias. Indicadores de pH: Indicadores ácido- base se añaden a menudo a los medios de cultivo con objeto de detectar variaciones del pH.

Sistemas amortiguadores: Algunos componentes son incorporados al medio de cultivo de cultivo para mantener el pH dentro del rango óptimo de crecimiento bacteriano. Los microorganismos más comunes son neutrófilos (el pH óptimo para su crecimiento está próximo a la neutralidad), y sales como fosfatos bisódicos o bipotásicos, o sustancias como las peptonas, previenen una desviación del pH.

Agentes reductores: Para crear condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos o anaerobios.

Agentes selectivos: La adición de determinadas sustancias puede convertirlo en selectivo.⁴¹

Agentes solidificantes: se incorporan para obtener medios de cultivo sólidos o semisólidos. El más utilizado es el agar que es un polímero obtenido de algas rojas como gelidium corneum, pero también existen el silicagel y la gelatina.

⁴¹ Gamazo Ramón Díaz- Carlos, Ignacio López. “Tratado de Biología” Pág.9

C. Condiciones:

Debe tenerse en cuenta la temperatura, la atmósfera, presión osmótica, humedad y el pH adecuados.

D. Controles

Se establecerán tres tipos de controles antes de considerarlos aptos para su uso. Los cuales son: control de esterilidad, control de calidad y control de caducidad.

E. Clasificación: Según su utilización en el laboratorio:

Medios generales: Permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismos.

Medios de enriquecimiento: Favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo, sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento del resto.

Medios selectivos: Permiten el crecimiento de un tipo de microorganismo determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás.⁴²

⁴² Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case, Introducción a la microbiología Pág. 168

E. Medios de cultivo utilizados

Caldo brain heart infusion (bhi)

Es un medio de uso general adecuado para el cultivo de una amplia variedad de tipos de organismos, incluidos las bacterias, levaduras y hongos filamentosos, a partir de muestras clínicas.⁴³

La infusión de cerebro y corazón ha resultado ser efectiva en el cultivo de una amplia variedad de microorganismos, incluidos muchos tipos de patógenos. Se ha utilizado como medio base para las nuevas fórmulas de medios de cultivo cuando se suplementa con sangre o agentes selectivos. Brain Heart Infusion (BHI) sin suplemento se recomienda actualmente como medio universal para bacteriología aerobia y para la recuperación primaria de hongos a partir de muestras clínicas y no clínicas.

Brain Heart Infusion (BHI) obtiene los nutrientes de la infusión de cerebro y corazón, la peptona y la glucosa. Las peptonas y la infusión son fuentes de nitrógeno orgánico, carbono, azufre, vitaminas y sustancias de traza. La glucosa es la fuente de carbohidratos que los microorganismos utilizan mediante fermentación.⁴³

⁴³<https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8800>

AGAR MITIS SALIVARIUS

Mitis Salivarius Agar es usado con la Solución Tellurite el 1 % en el aislamiento *Streptococcus Mitis*, *S. salivarius* y *Enterococcus*, en particular de especímenes extremadamente contaminados.

S. mitis, *S. salivarius* y la especie *Enterococcus* hacen parte de la flora normal humana. *S. mitis* y *S. salivarius* se conocen como *Streptococcus Viridans*. Estos organismos desempeñan un papel en cariogenesis e infecciones endocarditis y causan un número creciente de bacteremias.

Los Enterococcus causan infecciones de extensión urinarias, enrollan infecciones y bacteremia. Estos organismos pueden colonizar las membranas de la piel y mucosas.

Agar Mitis Salivarius contienen peptonas como las fuentes de carbón, nitrógeno, vitaminas y minerales. La dextrosa y la sacarosa son fuentes de hidrato de carbono. El cristal violeta y el potasio tellurite (de la Solución Tellurite el 1 %) inhiben la mayoría de los bacilos gram negativos y bacterias gram positiva excepto *Streptococcus*. Trypan azul da un color azul a las colonias. Agar es el agente que se solidifica. ⁴⁴

⁴⁴<http://myslide.es/documents/agar-mitis-salivarius.html>

4. HIPOTESIS

Dado que las semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet presentan alcaloides dentro de su composición fitoquímica, los mismos que poseen propiedades antibacterianas, y que el Gluconato de Clorhexidina al 0.12% posee actividad antibacteriana.

Es probable:

Que el extracto de semillas del *Lupinus Mutabilis* sweet y el Gluconato de Clorhexidina al 0.12% tengan actividad antibacteriana sobre el *Streptococcus Mutans*.





CAPITULO II

PLANEAMIENTO

OPERACIONAL

CAPITULO II

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

La presente investigación utilizó la observación experimental laboratorial como técnica para la recolección de los datos de la investigación

VARIABLE INVESTIGATIVA	TECNICA	INSTRUMENTO DOCUMENTAL
Variable estímulo - Extracto de las semillas de <i>Lupinus Mutabilis</i> sweet “tarwi” - Gluconato de clorhexidina al 0.12%	Observación y registro laboratorial	Documental y ficha de laboratorio
Variable respuesta Actividad antibacteriana frente al <i>Streptococcus Mutans</i>		

1.2. Instrumento

1.2.1. Instrumento documental

Se utilizó un solo instrumento de tipo elaborado denominado, ficha de observación y registro laboratorial.

1.3. Material

1.3.1. Material biológico

- Semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet
- Gluconato de Clorhexidina

- Cepas liofilizadas de ***Streptococcus Mutans*** ATCC 25175

1.3.2. Medios de cultivo

- Caldo Brain Heart Infusión (BHI)
- Agar Mitis salivarius

1.3.3. Equipos de laboratorio

- Balanza analítica
- Cámara de Bioseguridad
- Cocina eléctrica
- Estufa de esterilización
- Autoclave
- Incubadora
- Refrigeradora

1.3.4. Instrumental de laboratorio

- Frascos de vidrio de 250 ml
- Pipetas
- Micro pipetas
- Matraz
- Mechero de Bunsen
- Ansas de inoculación
- Embudo de vidrio
- Probeta
- Tubos de ensayo
- Placas Petri
- Matraz kitasato
- Gradilla de tubos de ensayo

- Varilla de vidrio

1.3.5. Material de Escritorio

- Computadora e impresora
- Cámara fotográfica digital
- Fotocopiadora
- Utilería en general

1.3.6. Otros

- Alcohol 70°
- Agua destilada
- Gasa
- Campo de trabajo
- Guantes estériles
- Hisopos estériles
- Papel de filtro Whatman
- Etiquetas
- Papel craft
- Papel platino

1.4. Técnicas:

a. Preparación de los frascos utilizados para tomar las muestras:

Los Frascos para las muestras serán los de vidrio con capacidad de 100 y 250 ml, neutro e incoloro de boca ancha. En el cuello de los frascos se envolvió papel aluminio, ya sujeto se sometió a esterilización en autoclave durante 45 minutos a 121° C.

b. Recolección de las muestras:

Para el presente trabajo se recolectaron:

- **Grupo experimental 1:** Semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet.
- **Grupo experimental 2:** Gluconato de Clorhexidina

c. Características generales para ambos grupos:

Lavarse manos y antebrazos con agua y jabón

Colocarse guantes y barbijo.

Proceder a tomar la muestra sin enjuagar el frasco. Se quitará la tapa y el protector de papel simultáneamente, manejándolos como unidad, evitando que se contaminen para lo cual será necesario sostener esta unidad hacia abajo. Se debe dejar el espacio libre requerido para la agitación de la muestra previa al análisis.

Efectuada la toma de muestra, debe colocarse la tapa con el papel de protección e identificar las muestras para lo cual deben etiquetarse los frascos y envases con la siguiente información: Número de control para identificar la muestra Fecha de muestreo.

Por último colocarse en hielera con bolsas refrigerantes o bolsas de hielo cerradas para su transporte al laboratorio, a una temperatura entre 4 y 10°C, cuidando de no congelar las muestras.

El periodo máximo que debe transcurrir entre la toma de muestra y el inicio del análisis microbiológico en óptimas condiciones de preservación y transporte es de hasta 6 horas.

d. Características individuales para cada grupo:

➤ **Grupo experimental 1:**

La recolección de muestras se llevó a cabo de la siguiente manera:

Obtención del material vegetal (la parte del estudio):

La planta (semilla) de estudio *Lupinus Mutabilis* sweet “tarwi” se obtuvo en el país de Perú, departamento de Puno, provincia de Yunguyo en la comunidad de Chinumani. Se eligió semillas sanas que no poseen signos de infestación parasitaria, ubicadas a 3825 metros sobre el nivel del mar, cosechado en el mes de agosto a una temperatura de -4°C, aproximadamente.

Limpieza de la semilla del vegetal

Se limpia las semillas ya seleccionadas para liberarlas de residuos de las vainas.

Almacenamiento y conservación

Para el almacenamiento se trabaja con 700 gramos de muestra, se utiliza papel kraft, protegidos de la luz y la humedad.

Método de obtención de la muestra de las semillas del *Lupinus Mutabilis sweet*.

Para la obtención de la muestra se utilizó el método de **infusión:**

Fundamento: Se fundamenta en la extracción de los principios activos de un material vegetal al poner en contacto con un solvente, a fuego lento.

Se pesa en una balanza 100gr. de semilla de *Lupinus Mutabilis sweet* “tarwi” y con una probeta estéril se mide 100ml. de agua destilada, se coloca en un matraz a fuego lento en una estufa. Una vez que llegue a ebullición se retira del fuego y se traspasa rápidamente a un frasco de vidrio y sellar nuevamente con el papel de aluminio para poder evitar que

se contamine la muestra lo que evitara que se desnaturalicen los compuestos termolábiles.

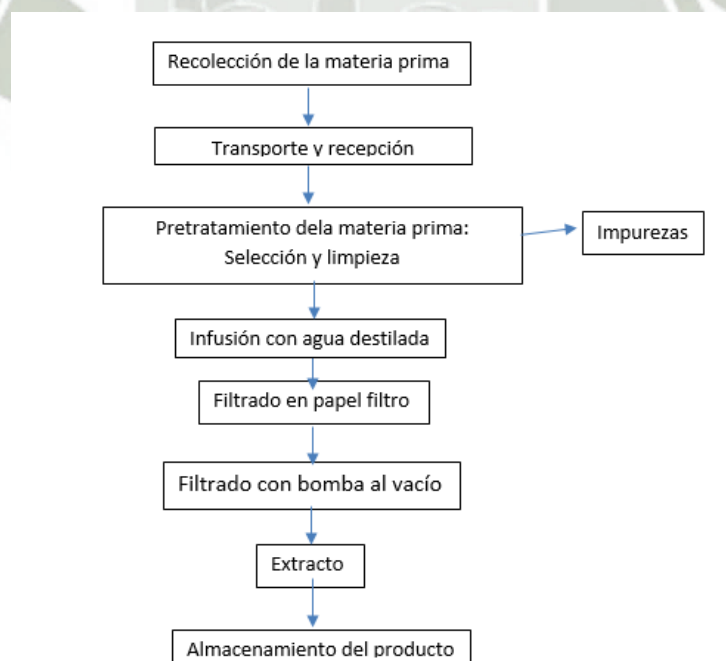
Filtrado con papel filtro Whatman

Se filtra el producto de la infusión utilizando papel filtro, un embudo y un matraz, previamente esterilizados.

Filtrado con bomba al vacío

Se coloca un filtro esterilizado a un matraz de Katasato y este adherido a un motor con manguera, el cual se encargara de succionar y filtrar el producto final para poder ser estudiado.

DIAGRAMA OPERACIONAL



Determinación de las características de la muestra del *Lupinus*

Mutabilis sweet.

○ **Determinación del olor**

Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 5 cm de largo y se introdujo en el tubo de ensayo donde contenía la muestra del *Lupinus Mutabilis sweet*, se olfatea y se determina si corresponde con la característica del producto.

○ **Determinación del color**

Se tomó un tubo de ensayo estéril y seco; se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color.

○ **Determinación del pH**

Se realizó con ayuda de cintas reactivas introduciéndolo en la muestra de ensayo.

○ **Determinación de la densidad**

Se realizó con ayuda del densímetro introduciéndolo en la muestra de ensayo

➤ **Grupo experimental 2:** La recolección de muestras se

llevó a cabo de la siguiente manera:

Limpiándose el orificio de salida de la botella de Gluconato de Clorhexidina con una gasa estéril o torunda de algodón impregnada de alcohol. Adicionalmente se calentó a flama directa el frasco estéril donde se depositó 100 ml de la muestra.

Obtención de las bacterias patógenas: Se utilizaron los siguientes microorganismos.

Cepas de *Streptococcus Mutans*

Cepas liofilizadas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 certificadas.

Los cuales fueron seleccionados bajo los siguientes criterios:

- Son agentes patógenos para humanos, por su relación con los diferentes cuadros clínicos que causan.
- Crean resistencia con mucha facilidad.

Precauciones ante el uso de bacterias patógenas

El *Streptococcus Mutans* es exclusivamente para uso in vitro y el crecimiento posterior de estos microorganismos en un medio de cultivo se consideran material biológico peligroso. A la vez son microorganismos viables que pueden, bajo determinadas circunstancias, producir enfermedades.

Presencia de Streptococcus Mutans observados en el microscopio

- **Preparar y fijar un frotis:**

Con la ayuda de un mechero de Bunsen, flamear un asa bacteriológica y esperar que enfríe un poco.

Tomar el asa (previamente flameada) y con ésta coger un poco de muestra.

Una vez obtenida una pequeña cantidad de la muestra (con el asa), hacer que ésta tenga contacto con una lámina portaobjetos, la cual servirá para depositar la muestra contenida en el asa.

Con el asa (conteniendo la muestra) sobre la lámina portaobjetos, proceder a realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios (dar vueltas con el asa) sobre la lámina, de tal forma que al terminar la extensión, tengamos como producto un espiral en la parte media la lámina.

Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero Bunsen para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las

bacterias a observar. El calor deseable es aquel en el que el portaobjetos sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano.

Una vez obtenido el frotis con la muestra, se procede a teñir la misma con violeta de genciana, utilizando una cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 1 minuto.

Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua NO debe caer directamente sobre la muestra, ésta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. El chorro debe ser un chorro delgado, aproximadamente de medio a un centímetro de espesor. También el enjuague se debe realizar poniendo la lámina en posición inclinada hacia abajo.

Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente el lugol durante 1 minuto más.

El mordiente es cualquier sustancia que forme compuestos insolubles con colorantes y determine su fijación a las bacterias.

Lavar con agua para quitar los residuos de decolorante y esperar que seque la lámina al aire libre o con la ayuda de la llama de un mechero de la forma anteriormente descrita.

Y se procede a observar al microscopio.

e. Medios de cultivo

Se prepara caldo Brain Heart Infusión y se selecciona como medios de cultivos el agar Mitis Salivarius, ya que estos promueven el desarrollo de la mayoría de los aislamientos bacterianos clínicamente significativos. El medio tendrá de alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm.

f. Procedimiento para la preparación del inóculo

Debido a que la concentración bacteriana debe ser de aproximadamente 10^5 microorganismos por milímetro se trabajara de la siguiente manera:

- Tocar con un hisopo estéril la superficie de una o varias colonias de cepas bacterianas puras, luego se sumergirá el hisopo en 2 ml de caldo nutritivo hasta que la turbidez del medio será equivalente al estándar 0.5 de Mc Farland cuya turbidez corresponde a la concentración de microorganismos buscada.

g. Dilución en caldo de la muestra de *Lupinus Mutabilis* sweet.

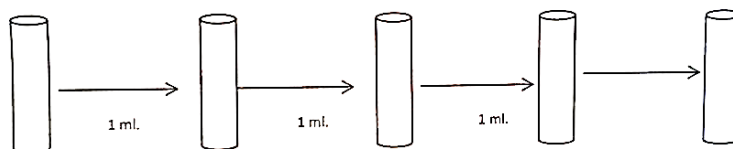
Se empleara el método de **dilución en caldo**.

Fundamento: Habitualmente se prepara el juego de 5 tubos con 1ml de caldo estéril sin antimicrobiano. Para un pequeño número de pruebas se preparan diluciones al doble directamente en los tubos, del método siguiente:

Se colocan 1 ml de solución de muestra de *Lupinus Mutabilis* sweet en el primer tubo de la serie de diluciones. En cada uno de los tubos restantes se añade 1 ml de caldo Brain Heart Infusión. Con pipetas estériles se transfiere 1 ml del primer tubo al segundo. Después de mezclar el contenido del segundo tubo, se transfiere 1ml con una pipeta diferente (en esta transferencia y en todas las sucesivas) al cuarto tubo. El proceso continuo hasta el cuarto tubo, al que se le quita 1 ml, que se descarta. El último tubo no recibe solución y sirve de control de crecimiento.

Añadir a cada tubo 10 micromilímetros de inóculo ajustado.

DIAGRAMA OPERACIONAL DE LA DILUCION



1ml de solución de *Lupinus Mutabilis* sweet

solo caldo BHI

1ml de caldo BHI

h. Sembrado en las placas Petri

Se dividen 3 placas Petri en 4 partes iguales y se rotula con un lápiz de cera la dilución (1, 0.5, 0.25, 0.125) correspondiente.

i. Incubar

Las placas serán colocadas en una estufa a 37°C en condiciones anaerobias. Además estas serán colocadas invertidas en la incubadora de modo que la humedad o condensación que se acumule en la placa no caiga sobre la superficie de agar tratada.

El método estándar recomienda que todas las determinaciones finales se lleven a cabo exactamente a las 18 horas.

j. Dilución en caldo de la muestra de Gluconato de Clorhexidina

Se empleara el método de **dilución en caldo**.

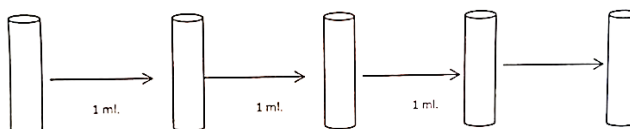
Fundamento: Habitualmente se prepara el juego de 5 tubos con 1ml de caldo estéril sin antimicrobiano. Para un pequeño número de pruebas se preparan diluciones al doble directamente en los tubos, del método siguiente:

Se colocan 1 ml de solución de muestra de Gluconato de Clorhexidina en el primer tubo de la serie de disoluciones. En cada uno de los tubos restantes se añade 1 ml de caldo Brain Heart Infusión. Con pipetas estériles se transfiere 1 ml del primer tubo al segundo. Después de mezclar el contenido del segundo tubo, se transfiere 1ml con una pipeta diferente (en esta transferencia y en todas las sucesivas) al cuarto tubo. El proceso continuo hasta el cuarto tubo, al que se le quita 1 ml, que se descarta. El último tubo no recibe solución y sirve de control de crecimiento.

Se prepara un inóculo bacteriano ajustando la turbidez de un caldo de cultivo al estándar.

Añadir a cada tubo 10 micromilímetros de inóculo ajustado.

DIAGRAMA OPERACIONAL DE LA DILUCION



1ml de solución de Gluconato de Clorhexidina

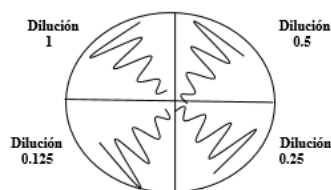
solo caldo BHI

1ml de caldo BHI

k. Sembrado en las placas Petri

Se dividen 6 placas Petri en 4 partes iguales y se rotula con un lápiz de cera la dilución (1, 0.5, 0.25, 0.125) correspondiente a ambas muestras (*Lupinus Mutabilis* sweet y Gluconato de Clorhexidina).

DIAGRAMA OPERACIONAL



AGAR MITIS SALIVARIUS

l. Incubar

Las placas serán colocadas en una estufa. Además estas serán colocadas invertidas en la incubadora de modo que la humedad o condensación que se acumule en la placa no caiga sobre la superficie de agar tratada.

El método estándar recomienda que todas las determinaciones finales se lleven a cabo exactamente a las 18 horas.

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. UBICACIÓN ESPACIAL

La investigación se llevó a cabo en la Región Arequipa, en la Universidad Nacional de San Agustín y, en el ámbito específico de los laboratorios de Microbiología y Patología.

2.2. UBICACIÓN TEMPORAL

La investigación corresponde al año 2015 y 2016

Es una investigación prospectiva, así mismo longitudinal

2.3. UNIDADES DE ESTUDIO

Se optó por la alternativa de estímulos, los cuales asumirán los roles de estímulo 1 (*Lupinus Mutabilis* sweet) y estímulo 2 (Gluconato de Clorhexidina)

a. IDENTIFICACIÓN DE LOS SECTORES

Para ambos grupos se procedió a una minuciosa replicación de la cepa certificada de *Streptococcus Mutans*

- **ESTIMULO 1:** Semillas de *Lupinus Mutabilis* sweet al cultivo de *Streptococcus Mutans*.
- **ESTIMULO 2:** Gluconato de Clorhexidina al 0.12% al cultivo de *Streptococcus Mutans*

b. CRITERIOS PARA EVALUAR LOS GRUPOS

Al tratarse de un estudio estrictamente in vitro no se consideran criterios de inclusión ni de exclusión

c. TEMPORALIDAD

Los hecho motivo de la investigación abarcan el periodo comprendido entre los meses de octubre 2015 a marzo 2016, razón por la cual constituye una visión transversal o seccional.

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización

- Coordinación para la acreditación del proyecto
- Solicitud para la autorización del laboratorio
- Preparación de unidades de estudio
- Pruebas pilotos
- Realización de la investigación
- Recolección de datos
- Análisis de datos

3.2. Recursos

a. Recursos humanos

Investigador: Alejandra Migene Guzmán Del Carpio

Asesor: Dr. Rufo Alberto Figueroa Banda

Co-Asesor: José Fernández Rivera

b. Recursos físicos

- Laboratorios de Microbiología de la Universidad Nacional de San Agustín.
- Biblioteca de ciencias de la salud de la Universidad Nacional de San Agustín.
- Internet

c. Recursos económicos

El presupuesto ha sido autofinanciado por la investigadora

d. Recursos institucionales

Universidad Nacional de San Agustín y el personal que labora.

3.3. Validación del instrumento

La prueba piloto se realizó en un grupo provisorio de cepas de *Streptococcus Mutans* para:

- Ver eficacia del instrumento
- Evitar errores con el instrumental
- Calcular el tiempo de aplicación por instrumento

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. A nivel de sistematización

a. Tipo de procesamiento

Los datos fueron procesados manualmente y de manera computarizada, terminado el tiempo de llenado y análisis de cada instrumento estos fueron ordenados de manera conveniente en una matriz de registro y control.

b. Plan de operaciones.

- Recuentos

El recuento se ha realizado de forma computacional, es decir por medio de software (Excel), usando matrices de conteo en igual número al de los cuadros elaborados y el esquema tabular debe ser prácticamente similar al de estos.

- Codificación

No se usó.

- Clasificación

La información obtenida fue ordenada en una matriz de registro y control

- Tabulación

Se utilizaron gráficos, para el grupo de estudio

- Graficas

Se emplearon graficas de barras

4.2. A nivel de estudio de los datos

a. Metodología para interpretación de datos

Se tomó en cuenta la jerarquización de datos más relevantes y se hará una apreciación crítica de los mismos teniendo en cuenta la comparación de los resultados obtenidos con la teoría.

Tratamiento Estadístico

Prueba estadística ANOVA, TUKEY, PRUEBA T-STUDENT

b. Modalidades interpretativas

Las obtenemos por la explicación subsiguiente a cada cuadro por considerarla más explicativa y apreciativa de los resultados.

c. Operaciones interpretativas

Para las respectivas interpretaciones se utilizó la estadística descriptiva indicando las medidas de tendencia central y de dispersión.

d. Niveles de interpretación

El nivel de interpretación ha sido el descriptivo.

4.3. A nivel de conclusiones

Las conclusiones están en función del logro de los indicadores, objetivos e hipótesis

4.4. A nivel de recomendaciones

Se efectuó mediante la formulación de sugerencias simples y factibles en base a los aportes, dificultades y características encontradas durante el transcurso de la investigación, orientados a continuar con las investigaciones.

5. CRONOGRAMA DE TRABAJO

TIEMPO ACTIVIDAD	2015 Octubre				2015 Noviembre				2015 Diciembre				2016 Enero				2016 Febrero				2016 Mazo			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Acopio de la información	X	X	X	X																				
Elaboración del marco teórico					X	X	X	X																
Elaboración de los procesos laborales									X	X	X	X												
Recolección de datos													X	X	X	X								
Ordenamiento de datos e información																	X	X						
Estructuración de resultados, analizando e interpretando																		X	X	X				
Informe final																						X	X	X



CAPITULO III

RESULTADOS

TABLA 1

**CARACTERÍSTICAS DEL AGUA OBTENIDA POR
INFUSIÓN EN EL PROCESO DE DESAMARGADO DE
LAS SEMILLAS DEL *LUPINUS MUTABILIS SWEET***

	Características
Color	Amarillo claro
Sabor	Amargo
Olor	Característico
PH	6.6
Densidad	1.7

Fuente: Elaboración propia

TABLA 2

ANALISIS DE VARIANZA Y TEST DE TUKEY

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *LUPINUS MUTABILIS* SWEET

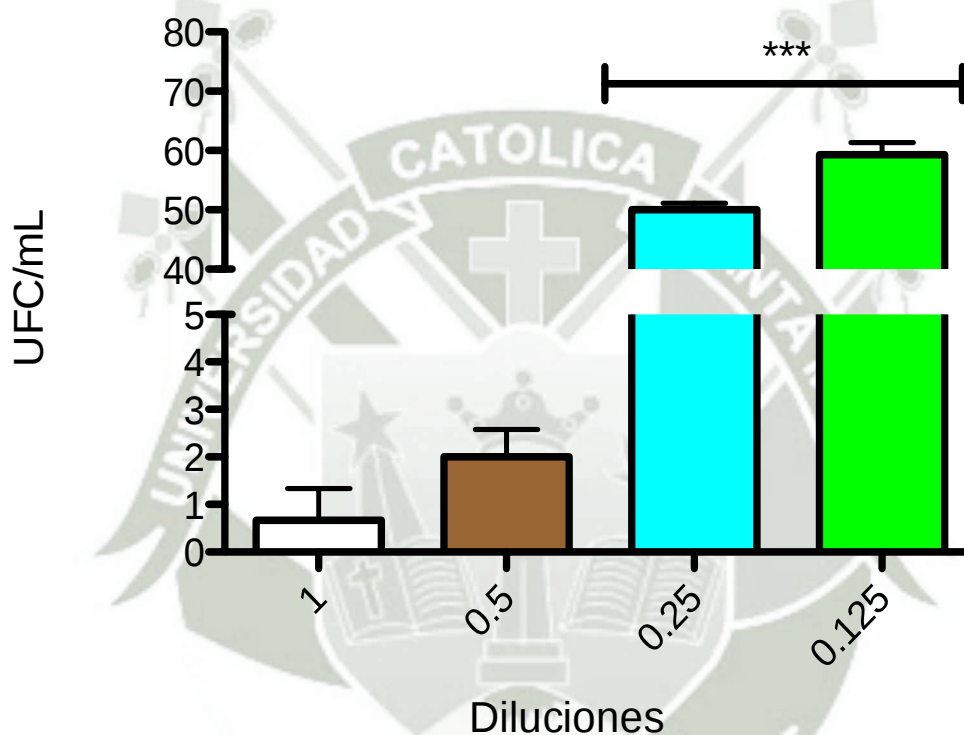
ANALISIS DE VARIANZA	
Valor P	< 0.0001
Resumen del valor P	***
Significativamente diferentes ($P < 0.05$)	si
Número de grupos	4
R cuadrado	0,9957

TEST DE TUKEY	Diferencia significativa	q	Significancia $P < 0.05$	Resumen	95%
1 vs 0.5	-1,333	1,069	No	-	-6.982 to 4.315
1 vs 0.25	-49,33	39,55	si	***	-54.98 to -43.68
1 vs 0.125	-58,67	47,04	si	***	-64.32 to -53.02
0.5 vs 0.25	-48,00	38,49	si	***	-53.65 to -42.35
0.5 vs 0.125	-57,33	45,97	si	***	-62.98 to -51.68
0.25 vs 0.125	-9,333	7,483	si	**	-14.98 to -3.685

Fuente: Matriz de registro y control

GRAFICO 1

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *LUPINUS MUTABILIS* SWEET SEGÚN DILUCIONES



INTERPRETACION

Según el análisis de ANOVA y el test de TUKEY podemos observar que la dilución 1 es más efectiva y que a medida que va disminuyendo la concentración del *Lupinus Mutabilis* sweet pierde sus propiedades inhibitorias significativamente frente al *Streptococcus Mutans*.

TABLA 3

ANALISIS DE VARIANZA Y TEST DE TUKEY

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%

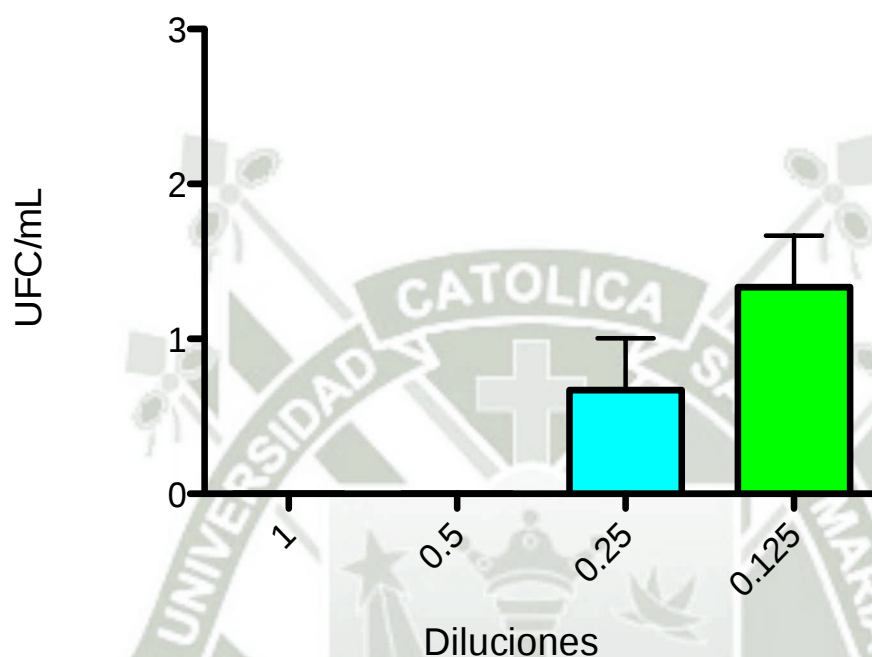
ANALISIS DE VARIANZA	
Valor P	0,0110
Resumen del valor P	*
Significativamente diferentes ($P < 0.05$)	Si
Número de grupos	4
R cuadrado	0,7333

TEST DE TUKEY	Diferencia significativa	q	Significancia $P < 0.05$	Resumen	95%
1 vs 0.5	0,0000	0,0000	No	-	-1.067 to 1.067
1 vs 0.25	-0,6667	2,828	No	-	-1.734 to 0.4008
1 vs 0.125	-1,333	5,657	Si	*	-2.401 to -0.2658
0.5 vs 0.25	-0,6667	2,828	No	-	-1.734 to 0.4008
0.5 vs 0.125	-1,333	5,657	Si	*	-2.401 to -0.2658
0.25 vs 0.125	-0,6667	2,828	No	-	-1.734 to 0.4008

Fuente: Matriz de registro y control

GRAFICO 2

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12%



INTERPRETACION

Según el análisis de ANOVA y el test de TUKEY podemos observar que la dilución 1 (0.12%) y la dilución 2 (0.06%) son más efectivas y que a medida que va disminuyendo la concentración del Gluconato de Clorhexidina pierde sus propiedades inhibitorias frente al *Streptococcus Mutans*.

TABLA 4

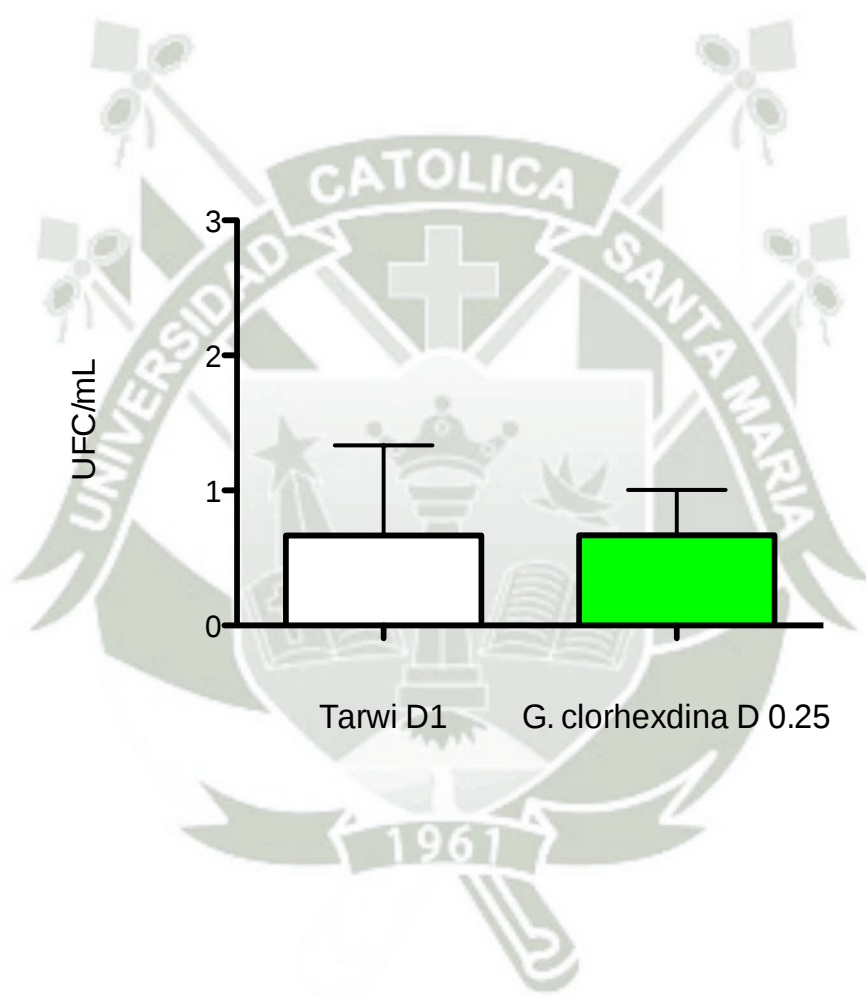
PRUEBA DE T-STUDENT

PRUEBA DE T-STUDENT	
Columna A	1
Vs	vs
Columna B	0,25
Valor P	1,0000
Resumen del valor P	-
Diferencia significativa ($P < 0.05$)	No
Valor de una o dos columnas P	Dos columnas

Fuente: Matriz de registro y control

GRAFICO 3

COMPARACION ENTRE LA DILUCION 1 DEL LUPINUS MUTABILIS CON LA DILUCION 0.25 DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA



INTERPRETACION

Según la prueba T-STUDENT podemos observar que la dilución 1 (10%) del *Lupinus Mutabilis* sweet.es igual de efectiva que el Gluconato de Clorhexidina a una dilución 0.25 (0.03%) frente al *Streptococcus mutans*.

CONCLUSIONES

PRIMERA: Las semillas del *Lupinus Mutabilis Sweet*, demostraron poseer actividad bactericida frente al *Streptococcus Mutans*, pero a menor concentración pierde su efecto inhibitorio significativamente ante el *Streptococcus Mutans*.

SEGUNDA: La actividad antibacteriana del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% presentó ser bactericida y a menor concentración va conservando su efecto inhibitorio ante el *Streptococcus Mutans*.

TERCERA: Se evidencio mayor actividad antibacteriana para el Gluconato de Clorhexidina que para el extracto de semillas de *Lupinus Mutabilis sweet*, no descartando así el efecto antibacteriano del *Lupinus Mutabilis sweet*.

RECOMENDACIONES

PRIMERA: Se recomienda al estudiante a realizar estudios más profundos sobre las semillas del *Lupinus Mutabilis sweet*, para conocer la acción antibacteriana sobre otros microorganismos de interés odontológico y médico.



BIBLIOGRAFIA

BARRIOS M. GUSTAVO. “Odontología sus fundamentos Biológico”. 2da edición. Editorial Colombia, 2004

BELLO, Andrés, “Vademecum Farmacologico-terapeutico.” 3ra Edición. Editorial Andrés Bello. Chile, 1991.

BASCONES A, MANSO FJ. “Clorhexidina en odontoestomatología: conceptos actuales y revisión de la literatura. Avances en Odontoestomatología”.3ra Edición. Editorial Avances Médicos dentales. Madrid 2001.

BRUNETON, Jean. “Elementos de Fotoquímica y Farmacognosia”, 1ra Edición. Editorial Acribia. España. 1993.

BURNETT, George. “Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca”. 1ra Edición. Editorial Limusa, Madrid, 1990.

CARRANZA, FERMIN A. NEWMAN, MICHAEL G. “Periodontologia Clínica de Glickman”. 7ma Edición. Editorial Interamericana Mcgrawhill. México, 1994.

DIAZ, Ramón - GAMAZO Carlos, LOPEZ Ignacio. “Tratado de Biología”, 1ra edición. Editorial Masson S.A. España, 1994.

GARCIA RODRIGUEZ, José. "Microbiología Medica General y Clínica". 1ra Edición. Editorial Síntesis. Madrid, 2000.

GAVILANES MOLINA, María Karina. "Planta de desamargado de chocho (lupinus mutabilis sweet)". Facultad de ciencias y bioquímica de la escuela superior politécnica de Chimborazo. Riobamba Ecuador 2013.

GERARD J. TORTORA, BERDELL R. FUNKE, CHRISTINE L. CASE, "Introducción a la microbiología". 3ra Edición. Editorial Médica Panorámica. Buenos Aires, 2007.

GREENSTEIN G, BERMAN C, JAFTIN R. "Chlorhexidine: as adjunct to periodontal therapy. J of Periodontol." 3ra Edición. Editorial Wegner. Inglaterra 2009.

HATZOLD T. "Quinolizidine alkaloids in seeds of lupinus mutabilis J. Agric. Food Chem". 1ra Edición. University of Wisconsin – Madison 2010.

J. KAYS Stanley "Cultivated Vegetables of the World: A Multilingual Onomasticon" 1ra edición. Editorial wageningen academic. Netherland 2011.

JAWETZ E. MELNICK J., ALDERBERG E.A., "Microbiología Médica". 18ava Edición. Editorial Guanabara Koogan, 1991

LINDHE, Jan “Periodontología Clínica e Implantología Odontológica”. 5ta Edición Tomo 2. Editorial Médica Panorámica. Buenos Aires, 2009.

KONEMAN, Elmer. “Diagnostico Microbiológico” 6ta edición. Editorial medica panorámica. Buenos Aires, 2008.

LIEBANA UREÑA, José “Microbiología Oral” 2da Edición, Editorial Interamericana. Madrid. 2002.

LÓPEZ J, DEL CARMEN “Manual de Odontopediatria” 3ra Edición. Editorial the University Of Michigan. 2008

MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, Juan. “Manual de higiene y medicina preventiva hospitalaria”. 2da Edición. Editorial Díaz de Santos. Buenos Aires, 2013.

MOUTON, Christian. “Bacteriología Bucodental”. 1ra edición. Editorial Masson. España, 1995.

NEGRONI. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2da edición editorial medica panorámica. Buenos Aires, 2009.

PELTA FERNÁNDEZ, Robert. “Guía de alergia para residentes y atención primaria”. Editorial Díaz de Santos. Madrid, 2001.

PUMAROLA, Luis. “Operatoria Dental Procedimientos Preventivos y restauradores”. 2da Edición. Editorial Masson S.A. España, 1999.

RICHARD J. LAMONT, GEORGE N. HAJISHENGALLIS, HOWARD F. JENKINSON “Microbiología e inmunología oral” 1ra edición. Editorial el manual moderno. México, 2015.

SEIF R. Tomas. “Careologia. Prevención. Diagnóstico y Tratamiento Contemporáneo de la Caries Dental”. 1ra Edición Actualidades Medico Odontológicos Latinoamericana Caracas Venezuela. 1997.

T. STUART, Walker “Microbiología” 2da edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana, 2000

VELASCO Martin, Alfonso. “Farmacología Clínica y Terapéutica Medica”. 1ra Edición, Editorial Síntesis. Madrid, 1996.

VICENTE AUSINA RUIZ, SANTIAGO MORENO GUILLÉN “Tratado de enfermedades infecciosas y microbiología clínica”. 1ra Edición. Editorial Médica Panorámica .Madrid, 2006.

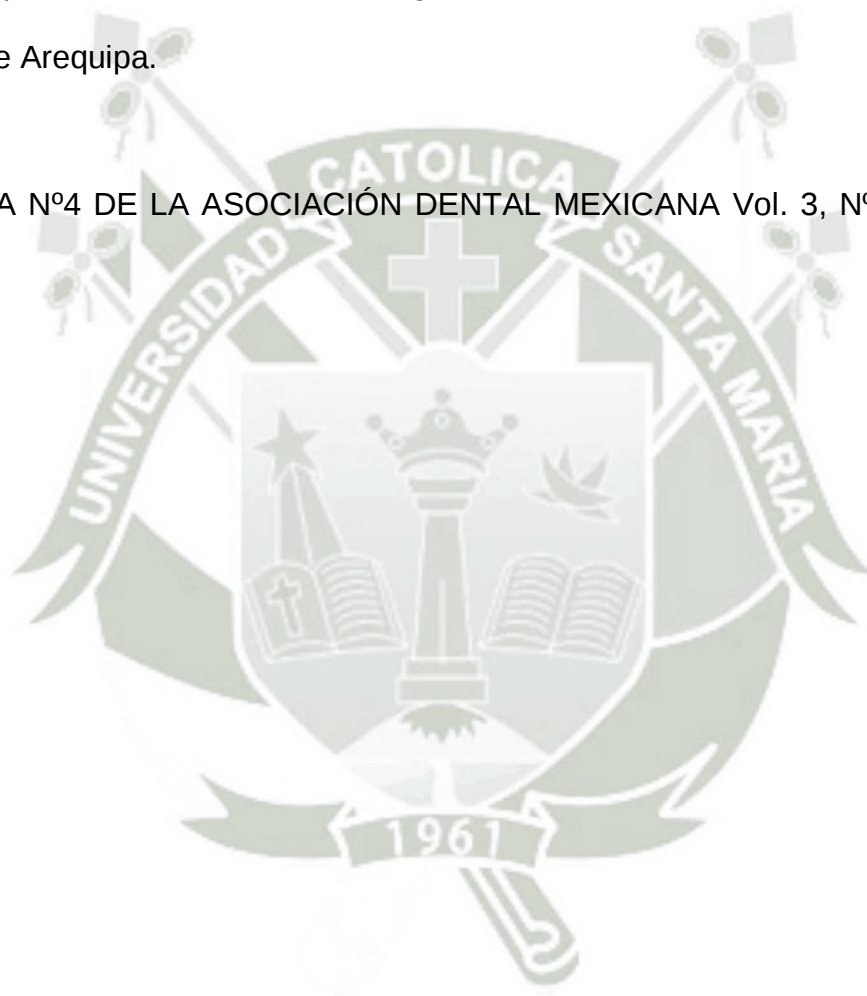
VILLACRES E. “Propiedades Y Aplicaciones De Los Alcaloides Del Chocho”, 1ra Edición. Editorial Grafistas. Ecuador 2009.

HEMEROTECA

ASOCIACION ODONTOLÓGICA ARGENTINA P. Niños Vol.2, Nº3.
Setiembre/Diciembre 1996.

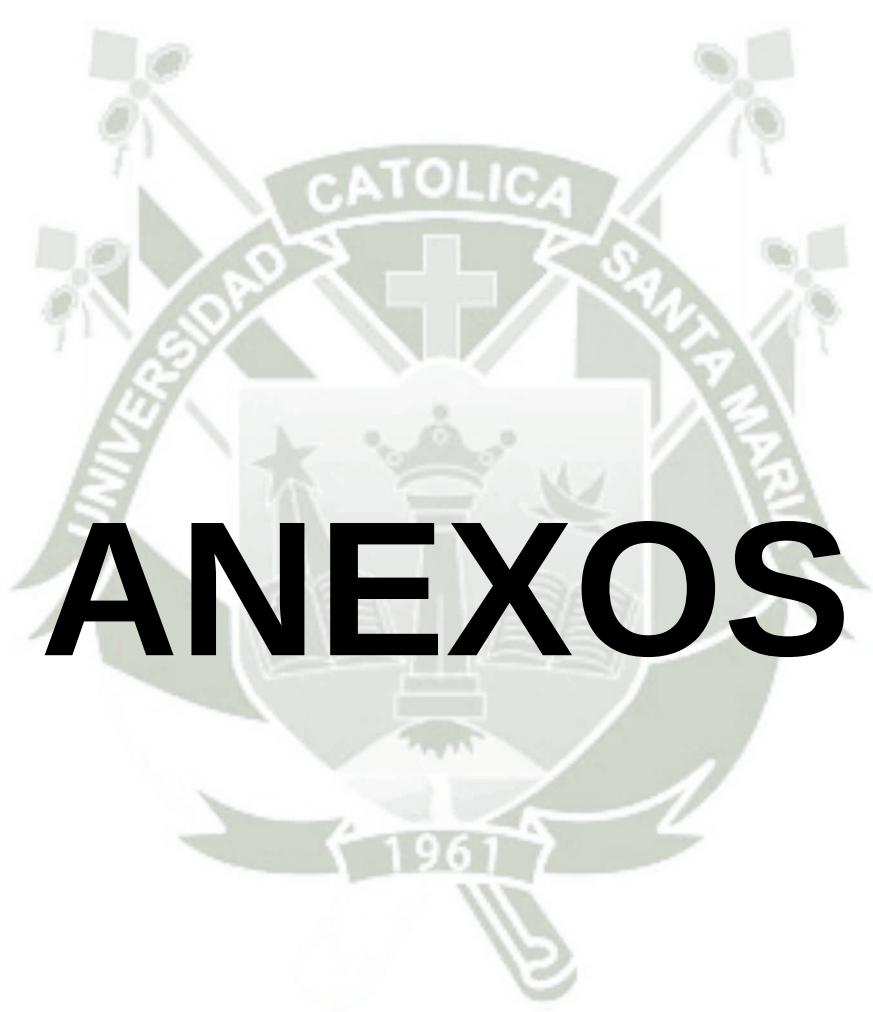
CULTURA ODONTOLÓGICA, REVISTA ESPECIALIZADA. Año 5 Numero 1
Editada por la facultad de Odontología de la Universidad Católica De Santa
María De Arequipa.

REVISTA Nº4 DE LA ASOCIACIÓN DENTAL MEXICANA Vol. 3, Nº4. Agosto
2009



INFORMATOGRAFIA

1. <http://3.bp.blogspot.com/-DPRpXfOMvw8/UmgBmezjCqI/AAAAAAAAACQ/BkVfZLiCQrU/s1600/tarwi+a.jpg>
2. http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/cdrom/contenido/libro10/cap03_1_3html
3. <http://gsperu.bligoo.com.pe/media/users/20/1001619/images/public/240277/tartar.jpg?v=1332897115973>
4. <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/3810/I/T-1436.pdf>
5. [http://cipca.org.pe/cipca/información_y_desarrollo.Año 2008](http://cipca.org.pe/cipca/información_y_desarrollo.Año%202008)
6. <http://www.strijp.chlohexidine/mutansstreptococci/ms>
7. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8800>
8. <http://myslide.es/documents/agar-mitis-salivarius.html>
9. <http://carefirst.staywellsolutionsonline.com/spanish/relateditems/121,1059es>
10. http://www.odontologosecuador.com/espanol/artodontologos/gluconato_dental.htm

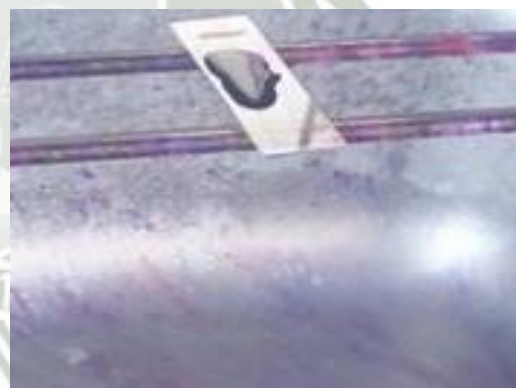


ANEXOS

CEPAS LIOFILIZADAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS



OBSERVA LA PRESENCIA DE STREPTOCOCCUS MUTANS



STREPTOCOCCUS MUTANS



RESERVA STREPTOCOCCUS MUTANS EN CALDO TRIPTOSA CON
GLICEROL



PREPARACION DE CALDO BHI





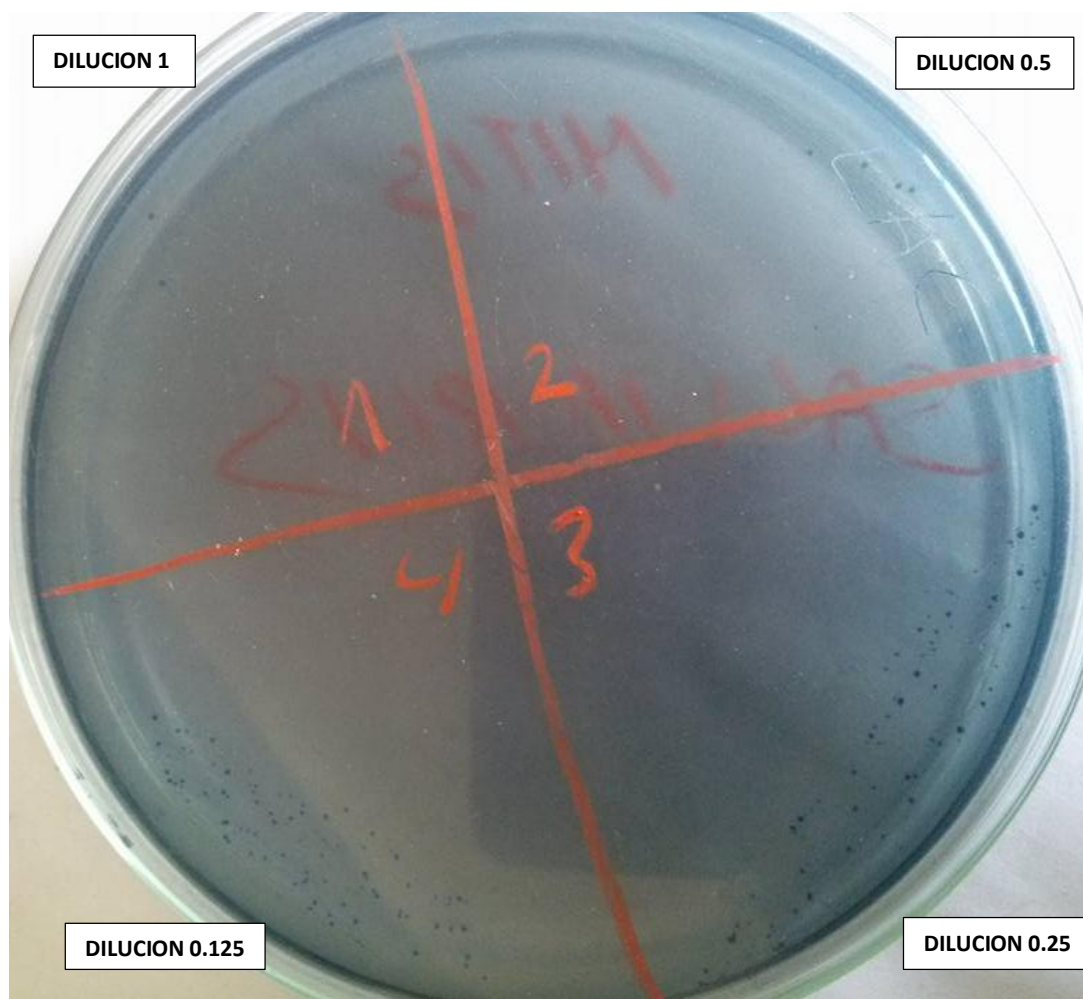
BOMBA AL VACIO PARA EL FILTRADO



PHIMETRO Y DENSIMETRO



**EFFECTO “IN VITRO” DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS
ALCALOIDES DEL AGUA OBTENIDA POR INFUSION EN EL PROCESO DE
DESAMARGADO DE LAS SEMILLAS DEL *LUPINUS MUTABILIS SWEET*
FRENTE AL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175 EN AGAR MITIS
SALIVARIUS**



MODELO DE INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION Y REGISTRO LABORATORIAL

Espécimen:.....

Solución:.....

Nº de Repetición:.....

	DILUCIÓN 1	DILUCIÓN 0.5	DILUCIÓN 0.25	DILUCIÓN 0.125
CONTEO DE COLONIAS				



MATRIZ DE DATOS

	<i>Lupinus Mutabilis</i> sweet “tarwi”			
	Dilución 1 (10%)	Dilución 0.5 (5%)	Dilución 0.25 (2.5%)	Dilución 0.125 (1.25%)
REPETICION 1	0 colonias	2 colonias	48 colonias	59 colonias
REPETICION 2	2 colonias	3 colonias	50 colonias	63 colonias
REPETICION 3	0 colonias	1 colonia	52 colonias	56 colonias

	Gluconato de Clorhexidina			
	Dilución 1 (0.12%)	Dilución 0.5 (0.06%)	Dilución 0.25 (0.03%)	Dilución 0.125 (0.015%)
REPETICION 1	0 colonias	0 colonias	1 colonia	2 colonias
REPETICION 2	0 colonias	0 colonias	0 colonias	1 colonia
REPETICION 3	0 colonias	0 colonias	1 colonia	1 colonia



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y
PATOLOGÍA
Av. General GARCERAN 101 No. 1000, Arequipa, PERÚ 20000
Arequipa, Perú

CONSTANCIA

El que suscribe, Jefe del Departamento de Microbiología y Patología de la UNSA
hace constar que la Sra

ALEJANDRA MIGENE GUZMÁN DEL CARPIO

Ha realizado su tesis de Bachiller titulada "EFECTO "INVITRO" DE LA
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ALCALOIDES DEL AGUA OBTENIDA
POR INFUSION EN EL PROCESO DE DESAMARGADO DE LAS SEMILLAS
DEL *LUPINUS MUTABILIS SWEET* EN COMPARACION CON EL GLUCONATO
DE CLORHEXIDINA AL 0.12%, FRENTE AL *STREPTOCOCCUS MUTANS*
ATCC 25175, AREQUIPA 2016", bajo el asesoramiento del Mg. Jose Fernandez
Rivera, desde el 09 al 31 de diciembre del 2015.

Demostrando capacidad, responsabilidad en la realización de su trabajo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada y para los fines
pertinentes

Arequipa, 11 de marzo del 2016



Dr. Rolando Ayaqui Flores
Director del Departamento Académico
de Microbiología y Patología





UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA 30-2015-HUSA

El Director del Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que en el Laboratorio de Botánica se ha logrado determinar una muestra fresca de planta con semillas traída de la Localidad de Chinomani, provincia de Yunguyo - departamento de Puno para el estudio de Identificación Biológica para la ejecución de investigación de Tesis, "Efecto antibacteriano del extracto total por infusión de *Lupinus mutabilis* Sweet "tarwi" sobre el *Streptococcus mutans*, y el gluconato de clorhexidina al 0.12% Arequipa-2015. Ejecutado por ALEJANDRA MIGENE GUZMAN DEL CARPIO de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María.

Los resultados de dicha identificación corresponde a:

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: Rosidae

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae

GENERO: *Lupinus*

ESPECIE: *Lupinus mutabilis* Sweet

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 28 de Diciembre del 2015

Bigo. Leoncio Martho Herrera
DIRECTOR



Avenida Daniel Alcides Carrion s/n cercano
Telefono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal 0028
AREQUIPA - PERU