

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Odontología

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DEL

Pelargonium hortorum (GERANIO) FRENTE A

Streptococcus mutans. TACNA 2016

TESIS

Presentada por:

Bach. Jhonatan Braulio Maquera Coillo

Para optar el Título Profesional de:

CIRUJANO DENTISTA

TACNA - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Odontología

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DEL

***Pelargonium hortorum* (GERANIO) FRENTE**

A *Streptococcus mutans*. TACNA 2016

TESIS

Presentada por:

BACH. JHONATAN BRAULIO MAQUERA COILLO

Para optar el Título Profesional de:

CIRUJANO DENTISTA

Aprobado por Unanimidad, ante el siguiente jurado:



Dra. Maria Dalila Salas de Cornejo
PRESIDENTA



C.D. Roysi Factor Velez Toala
MIEMBRO



C.D. Edgardo Javier Berríos Quina
MIEMBRO



C.D. Carlos Enrique Valdivia Silva
ASESOR

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Jorge
Basadre Grohmann, aula mater
que me acogió en esta etapa de
formación académica.

Dr. Alejandro Aldana Cáceres,
por su aporte y apoyo en mi
trabajo

Al microbiólogo Edwin Obando
Velarde

Agradezco de manera especial y sincera al
Dr. Carlos Valdivia Silva, por el apoyo y
confianza en mi trabajo y su capacidad
para guiarme, ha sido un aporte invaluable,
no solamente en el desarrollo de esta tesis,
sino también en nuestra formación como
estudiante. Debo destacar, por encima de
todo, su disponibilidad y paciencia en sus
explicaciones a nivel científico.

DEDICATORIA

A Dios quien es mi guía, mi fuerza en mis momentos más difíciles y por permitirme llegar hasta el final de mi carrera profesional.

A mis padres, Eusebio y Aurora quienes siempre ha estado cuando los he necesitado, en los buenos y en los malos momentos. El logro también es de ellos.

Mi cordial agradecimiento a los docentes de la Escuela de Odontología, por su gratas y valiosas enseñanzas, en mi trayectoria académica universitaria.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

1.1	Fundamentos y formulación del problema	4
	1.1.1. Descripción del problema.....	4
	1.1.2. Formulación del problema.....	7
1.2	Objetivos del estudio	7
	1.2.2. Objetivo general:	7
	1.2.3. Objetivos específicos:	8
1.3	Justificación	8
1.4	Formulación de la hipótesis.....	9
1.5	Operacionalización de las variables.....	11

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	12
-----	--	----

2.1.1	Ámbito internacional.....	12
2.1.2	Ámbito nacional	14
2.2	BASES TEÓRICAS CIENTÍFICAS	19
2.2.1	Concepto de efecto antimicrobiano	19
2.2.2	Antibacterianos naturales	20
2.2.2.1	La hoja del Geranio (<i>Pelargonium hortorum</i>)	21
2.2.2.2	Clasificación taxonómica	22
2.2.2.3	Extracto del aceite esencial de Geranio (<i>Pelargonium hortorum</i>).....	22
2.2.3	<i>Streptococcus mutans</i>	24
2.2.3.1	Características de <i>Streptococcus mutans</i>	25
2.2.3.2	Taxonomía	27
2.2.3.3	Morfología	28
2.2.3.4	Factores de virulencia.....	30
2.3.	Definición de términos.....	32

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1	MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.2	POBLACIÓN O UNIVERSO	36
3.2.1	Población cualitativa.....	36
3.2.2.	Población cuantitativa	36

3.2.3. Criterios de selección	36
3.3 TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.	37
3.4 PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	37
3.5 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS	46

CAPÍTULO IV

DE LOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS.....	47
4.2 DISCUSIÓN	66
CONCLUSIONES	73
RECOMENDACIONES.....	74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXO	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01.....	49
Tabla 02.....	49
Tabla 03.....	50
Tabla 04.....	51
Tabla 05.....	52
Tabla 06.....	53
Tabla 07.....	54
Tabla 08.....	55
Tabla 09.....	59
Tabla 10.....	61
Tabla 11.....	62
Tabla 12.....	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 01.....	57
Gráfico 02.....	58

RESUMEN

El presente trabajo de tesis “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DEL *Pelargonium hortorum* (GERANIO) FRENTE A *Streptococcus mutans*. TACNA 2016**”, tiene como: **Objetivo:** Determinar la acción antibacteriana in vitro del extracto de las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) frente a *Streptococcus mutans*. **Metodología:** El diseño de estudio fue experimental, prospectivo, longitudinal, el extracto *Pelargonium hortorum* (Geranio) se realizó con la desecación del producto, la acción antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* in vitro, se hizo mediante el método de difusión de disco (Kirby Bauer), obteniendo el grado de sensibilidad en función al tamaño del halo de inhibición. **Resultados:** El método Kirby Bauer determinó el Tratamiento N° 2 (T2) con una concentración de 17,5mg/ml con un halo de inhibición promedio de 44,33 mm. Cumpliendo la sensibilidad límite según Duraffourd y Lapraz, la Concentra Mínima Inhibitoria (CMI) fue en el Tubo N° 5 (T5) con una concentración de 25 mg/ml que presentó pérdida de turbidez frente a *Streptococcus mutans*. **Conclusión:** Existe actividad antibacteriano del extracto de las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio), frente a la *Streptococcus mutans*, siendo más sensible > 14 mm (+++) a una concentración de 30 mg/ml.

Palabras clave: CMI, CMB, Kirby Bauer, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The present thesis work "ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE EXTRACT OF *Pelargonium hortorum* (GERANIO) AGAINST *Streptococcus mutans*. TACNA 2016 "has as: **Objective:** To determine the in vitro antibacterial action of the extract of the leaves of *Pelargonium hortorum* (Geranium) against *Streptococcus mutans*. **Methodology:** The study design was experimental, prospective, longitudinal, the extract *Pelargonium hortorum* (Geranium) was performed with the product drying, the antibacterial action against *Streptococcus mutans* in vitro was done by the disc diffusion method (Kirby Bauer) , obtaining the degree of sensitivity according to the size of the inhibition zone; **Results:** The Kirby Bauer method determined Treatment No. 2 (T2) with a concentration of 17.5 mg / ml with an average inhibition halo of 44.33 mm. Complying with the limit sensitivity according to Duraffourd and Lapraz, the Minimum Inhibitory Concentrate (MIC) was in Tube No. 5 (T5) with a concentration of 25 mg / ml that showed loss of turbidity against *Streptococcus mutans*. **Conclusion:** There is antibacterial effect of the extract of the leaves of *Pelargonium hortorum* (Geranium), against *Streptococcus mutans*, being more sensitive > 14 mm (+++) at a concentration of 30 mg / ml.

Keywords: CMI, CMB, Kirby Bauer, *Streptococcus mutans*.

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal es un ambiente ampliamente colonizado por bacterias, que en condiciones normales son propias de dicho hábitat pues viven en constante armonía, no produciendo de esta manera enfermedad. Sin embargo, cuando este equilibrio se altera o rompe se generan enfermedades producto de bacterias oportunistas o simplemente por predominio de una de ellas (1).

A nivel mundial, casi el 100% de los adultos tienen caries dental, Las enfermedades bucodentales más frecuentes son la caries, las afecciones periodontales (de las encías), alrededor del 30% de la población mundial con edades comprendidas entre los 65 y los 74 años no tiene dientes naturales (2).

Actualmente, en el Perú, las enfermedades de la cavidad oral de alta incidencia son la caries dental y las enfermedades gingivoperiodontales, las cifras de caries son alarmantes, superando al 90% como consecuencia de una pésima cultura odontológica (3).

En los últimos tiempos se ha revalorado los efectos beneficiosos de plantas medicinales, utilizándolas en la composición de diversos productos destinados al control de la placa bacteriana, como cremas dentales y colutorios (4).

Pelargonium hortorum (Geranio) es conocida por sus propiedades terapéuticas antibacterianas sustentadas en diversos estudios científicos. Las investigaciones realizadas en el área odontológica demuestran que presenta actividad antibacteriana in vitro frente a bacterias y hongos presentes en la cavidad oral (4).

En la enfermedad periodontal existen bacterias periodontopatógenas, siendo la más representativa los generos ***Porphyromonas***, ***Prevotella***, ***Bacteroides***, ***Fusobacterium***, ***Streptococcus***, las cuales tiene mayor prevalencia en la periodontitis crónica motivo por el cual será objeto de estudio en esta investigación (4).

Por lo tanto, la presente investigación tiene como objetivo determinar la acción antibacteriana “in vitro” del extracto seco de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) frente a ***Streptococcus mutans***, constituyendo de esta manera una posible alternativa para la prevención de las enfermedades

gingivoperiodontales, así como establecer una base para una elaboración futura de un producto aplicable en la práctica odontológica, empleando como en este caso, un recurso disponible en nuestro medio.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

1.1 Fundamentos y formulación del problema

1.1.1 Descripción del problema

El *Streptococcus mutans* es una de las bacterias más frecuentes y juegan un papel muy importante en la formación de la caries dental y enfermedad periodontal. Diversos autores coinciden de manera más significativa que la colonización por *Streptococcus mutans*, junto a una deficiente higiene bucal y alto consumo de alimentos ricos en sacarosa deteriora la salud bucal (5).

Los estudios han demostrado, que mayores recuentos de ***S. mutans*** se recuperan de pacientes periodontales tratados durante el seguimiento, que los no tratados. Sin embargo, estudios recientes informan que los pacientes no tratados con periodontitis tienen altas tasas de recuperación de ***S. mutans*** de la saliva, el dorso de la lengua, la mucosa bucal y la placa supra y subgingival. Además, los estudios que evaluaron la composición de la biopelícula de la caries

radicular han reportado recuentos más elevados de ***S. mutans*** en comparación con las superficies radicales sanas. De hecho, se han descrito más caries radiculares durante el seguimiento de pacientes tratados periodontalmente con recuentos elevados de ***S. mutans*** que en aquellos con menor número de microorganismos (5).

Este patógeno tiene la capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos causando un problema a nivel mundial, por esta razón existe la necesidad de buscar alternativas de tratamiento como el uso de productos naturales en este caso el extracto de *Pelargonium hortorum* (6),

La medicina natural a partir de las plantas y sus propiedades ha recibido últimamente mucha atención por parte de los científicos, quienes van descubriendo nuevos compuestos y propiedades de los mismos, confirmando así su utilidad para combatir agentes patógenos y tratar diversas afecciones (7).

En el Perú, existe una gran biodiversidad botánica y eso hace mucho más importante el hecho de considerar el estudio de cada una de las plantas para conocer más a fondo sus verdaderas propiedades y sus principios activos. Así, Karolina V. comprobó que el extracto oleoso

de ***Pelargonium hortorum*** tiene un poder de inhibición considerable sobre el crecimiento bacteriano, especialmente sobre los gérmenes que causan la placa bacteriana y la caries dental. En el experimento realizado, de las 10 placas en estudio, 9 inhibieron por completo el crecimiento bacteriano en las zonas tratadas (8).

Es conocido que muchas plantas de la flora medicinal del medio peruano poseen efecto antibacteriano y antiinflamatorio en virtud a que la mayoría contiene flavonoides, triterpenoides y taninos. Por ejemplo, el extracto de Salvia posee efecto antibacteriano sobre ***S. aureus***, ***Streptococcus hemolítico***, ***K. pneumoniae***, y ***Corynebacterium diphtheria***; el extracto de orégano posee actividad antimicrobiana sobre microorganismos grampositivos y gramnegativos, y el yacón tiene efecto antibacteriano sobre ***S. aureus*** (9).

La medicina alternativa actual y sus aplicaciones en odontología se hace cada vez más relevante y teniendo en cuenta que ***Pelargonium hortorum*** (geranio) es cosmopolita en el mundo y en nuestro país, es de fácil producción y accesible para la población de bajos recursos económicos (10), por ello, motivó

evaluar la actividad antibacteriana del extracto del *Pelargonium hortorum*, sobre microorganismos ***Streptococcus mutans***, patógeno más frecuente y responsable de infecciones adquiridas en la comunidad.

1.1.2 Formulación del problema

¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones frente a ***Streptococcus mutans***?

1.2 Objetivos del estudio

1.2.2 Objetivo general:

- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto de las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones frente a ***Streptococcus mutans***.

1.2.3 Objetivos específicos:

- Identificar el grado de sensibilidad que presenta ***Streptococcus mutans*** frente al extracto de ***Pelargonium hortorum*** (**Geranio**) mediante la técnica de difusión en disco (Kyrbi Bauer).
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) frente a ***Streptococcus mutans***.
- Establecer la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) frente a ***Streptococcus mutans***.

1.3 Justificación

El motivo por el que se decide desarrollar la presente investigación, es que se ha podido observar que los colutorios o antisépticos químicos presentan muchas veces reacciones adversas o efectos secundarios a largo plazo, los cuales no son beneficiosos para nuestra salud bucal. Además de ello, se desea aportar a la comunidad

científico-odontológica sobre la existencia de extractos que presentan propiedades antibacterianas, dentro de las cuales se encuentra el extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio), y que esta como una alternativa beneficiosa a los pacientes con enfermedades gingivoperiodontales actuando sobre el biofilm oral, o si es que la enfermedad periodontal está ya instaurada, pueda servir como terapia coadyuvante.

De esta manera, la elaboración de fármacos naturales tendría un impacto importante en la sociedad científica, gracias a las bondades de la medicina tradicional, generando así una variedad de productos de uso farmacéutico de origen natural, las que puedan llegar a todas las poblaciones incluyendo a las de bajos o limitados recursos económicos por su bajo coste.

1.4 Formulación de la hipótesis

- Hi: El extracto de las hojas de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) posee actividad antibacteriana frente a ***Streptococcus mutans***.

- Ho: El extracto de las hojas de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) no posee actividad antibacteriana frente a ***Streptococcus mutans***.

1.5 Operacionalización de las variables

- **Variables independientes:**

El extracto de las hojas de *Pelargonium hortorum* (*Geranio*)

- **Variable dependiente:**

Streptococcus mutans.

VARIABLES DEPENDIENTE	INDICADOR	CATEGORIA	ESCALA
Actividad antibacteriana del extracto de <i>Pelargonium hortorum</i> (<i>Geranio</i>)	Diámetro de halo de inhibición (Según las pautas de Duraffourd)	Nula (-): ≤ 8 mm Sensible límite (+): de 9 mm a 14 mm Muy sensible (++): 15mm a 19 mm Sumamente sensible (+++): ≥ 20 mm	Cualitativa ordinal
	Concentración Mínima inhibitoria (CMI)	Pérdida de turbidez Sin pérdida de turbidez	
	Concentración Mínima Bactericida (CMB)	Muerte bacteriana del 99% de <i>Streptococcus mutans</i>	
VARIABLES INDEPENDIENTE	INDICADOR	CATEGORIA	ESCALA
<i>Streptococcus mutans</i>	Crecimiento bacteriano	Turbidez UFC $1,5 \times 10^8$	Cuantitativa razón

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 Ámbito internacional

Guerrero J, et al. (2013) Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a clorhexidina. Cuba.

Es un estudio comparativo de la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso obtenido de las hojas de *Pelargonium peltatum*(L.) L'Hér (geranio hiedra) sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis*, frente a la clorhexidina. Para el ensayo antibacteriano se empleó el método de difusión en agar. Se trabajó con 18 muestras de microorganismos de cada especie mencionada, aisladas de los pacientes de una clínica dental. Posteriormente, se prepararon 6 concentraciones diferentes del extracto acuoso, para comparar la actividad antibacteriana frente al colutorio de clorhexidina. Resultados: la más alta actividad antibacteriana se obtuvo en la concentración de 400 mg/mL y la más baja en la de 25 mg/mL del extracto acuoso, sobre las tres especies de *Streptococcus*, en comparación con la clorhexidina; con efecto

similar a la concentración de 200 mg/mL. El ensayo fitoquímico preliminar indicó la presencia de flavonoides, taninos, esteroides, antocianinas y saponinas. Se concluye que el extracto acuoso de *Pelargonium peltatum* tiene actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus sanguis* (10).

Baculima D. (2010) Determinación in vitro del efecto antibacteriano y antimicótico de *Pelargonium zonale* en patología bucofaríngea. Ecuador.

La presente investigación está orientada a determinar el posible efecto antibacteriano y antimicótico in vitro de *Pelargonium zonale* frente a bacterias gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y levadura *Candida albicans*. Se realizó el análisis fitoquímico y actividad bacteriana con el extracto alcohólico de las hojas de *Pelargonium zonale*. En el análisis realizado para comprobar el efecto antibacteriano del *P. zonale* frente a los antibióticos utilizados como control, se observó una diferencia estadística significativa en cada uno de los ensayos realizados. Las distintas dosis empleadas de *P. zonale* en *S. aureus* en comparación con la DL50 obtenida; resultan tóxicas, sin embargo no presentan un

efecto antibacteriano significativo (mayor o semejante) a los antibióticos empleados como control. En el ensayo de toxicidad en artemia salina se determinó que el ***Pelargonium zonale*** es tóxico a dosis de 10ppm en adelante; por lo cual no es recomendable utilizar su extracto internamente. Mediante el ensayo del antibiograma podemos demostrar que el extracto seco de ***P. zonale*** no presenta un efecto antibacteriano considerable. La existencia de resultados se debe a que se trabajó con dosis altas consideradas tóxicas (11).

2.1.2 Ámbito nacional

García S. (2015) Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Trujillo- Perú.

La investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de ***Pelargonium hortorum*** sobre la cepas de ***Pseudomonas aeruginosa*** ATCC 27853 y ***Staphylococcus aureus*** ATCC 25923. El estudio experimental incluyó un total de 16 repeticiones de cada concentración al 5%,25%,50% y 75%. El efecto antibacteriano se procesó mediante la técnica de Kirby Bauer. El análisis de varianza muestra que

existe diferencia altamente significativa entre las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*. Se determinó que el aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en las concentraciones 25%,50% y 75%; y en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923., en todas las concentraciones 5%,25%,50% y 75%. Los promedios del diámetro de los halos de inhibición fueron mayores en las concentraciones de 50 y 75% para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y al 75% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, el grupo control con Imipenem y Vancomicina, comparados con las concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, fueron los que obtuvieron mayor diámetro de inhibición. Estos resultados demuestran que el Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 259235 (12).

Ríos N, (2014) Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, IMET- ESSALUD-2013. Iquitos – Perú.

La actividad antibacteriana se determinó mediante la prueba de sensibilidad, utilizando la técnica de disco difusión en medio sólido. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por el método de macrodilución. Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos. Entre los resultados obtenidos se demostró: El extracto acuoso liofilizado de la planta entera de ***Geranium ayavacense***, tiene actividad antibacteriana sobre el crecimiento de ***Enterococcus faecalis***, ***Escherichia coli*** y ***Staphylococcus aureus***. La actividad antibacteriana fue evidenciada en todos los ensayos realizados, en los que se demuestra claramente la inhibición producida por el extracto de acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, sobre el crecimiento de estas bacterias. El extracto acuoso liofilizado de la planta entera de ***Geranium ayavacense***, presenta elevados porcentajes de inhibición sobre el crecimiento de las tres cepas bacterianas estudiadas. El mayor porcentaje de inhibición se obtuvo a una concentración de 900mg/ml del extracto, sobre el crecimiento de ***Staphylococcus aureus***, el cual fue de 89,08%, respecto a la inhibición producida por el control positivo. Sobre el crecimiento de ***Escherichia coli***, el mayor porcentaje de inhibición fue de 75,46% y sobre el crecimiento de ***Enterococcus faecalis***, el mayor porcentaje de inhibición fue de

69.22%. La concentración mínima inhibitoria del extracto acuoso liofilizado de la planta entera de ***Geranium ayavacense***, sobre el crecimiento de las colonias de ***Staphylococcus aureus*** fue de 8,00mg/ml, sobre el crecimiento de ***Enterococcus faecalis*** fue de 10,67mg/ml de concentración del extracto, sobre el crecimiento de ***Escherichia coli***, la concentración mínima de inhibición del extracto fue de 13,33mg/ml (13).

Lazo J. (2007) Extracto de *Croton lechleri* y de *Pelargonium robertianum* L. en el tratamiento de la gingivitis asociada al embarazo. Lima Perú.

La muestra estuvo conformada por 150 gestantes con diagnóstico de gingivitis asociada al embarazo. 75 pacientes gestantes recibieron el tratamiento mecánico más la topicación con el extracto acuoso liofilizado de ***Pelargonium robertianum*** (Geranio); y 75 pacientes gestantes, recibieron el tratamiento mecánico más la topicación del ***Croton lechleri*** (Sangre de Grado). Ambas sustancias se aplicaron tópicamente durante 5 días en un mes, los resultados indicaron que existe acción curativa para la gingivitis asociada al embarazo. Sin embargo, al control en el 7mo día se logró controlar más las características clínicas iniciales de este tipo de gingivitis en un 5,3% con el uso del extracto de ***Pelargonium robertianum***

y en un 1,3% con la resina de ***Croton lechleri***, y a los treinta días ambos grupos de estudio experimentaron resultados de 57,3% y 22,7% respectivamente. El extracto de ***Pelargonium robertianum L*** (geranio), cumplió una buena acción terapéutica usado como coadyuvante en el tratamiento mecánico de la gingivitis asociada al embarazo. Los resultados obtenidos en forma ventajosa en los pacientes tratados con ***Pelargonium Robertianum L***. se debe posiblemente al efecto del geraniol aceite esencial que actúa como un antimicrobiano con una mayor actividad sobre gérmenes gram (+), microorganismos relacionados mayormente con la gingivitis asociada al embarazo (14).

Ramos C. (2012) Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum (coca)* sobre *Porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro.

El estudio investigó la actividad antibacteriana, mediante el test de difusión en Agar y la prueba de dilución en medio líquido. Los resultados del primer estudio indicaron que el extracto de ***Erythroxylum "coca"*** tiene sensibilidad nula (-) para la mayor parte de las concentraciones evaluadas, y sensibilidad límite (sensibilidad:+) para la máxima concentración del extracto (100 %)

sobre el crecimiento, *in vitro*, de la bacteria ***Porphyromonas gingivalis***. Los resultados del segundo estudio determinaron una concentración mínima del extracto, capaz de inhibir el crecimiento de dicha bacteria. Este valor fue 6,25 %, el cual representa la concentración mínima inhibitoria (CMI) (15).

2.2 BASES TEÓRICAS CIENTÍFICAS

2.2.1 Concepto de efecto antimicrobiano

La tecnología antimicrobiana describe el conocimiento colectivo, la experiencia y los métodos de uso de aditivos para crear productos que están permanentemente protegidos contra los microorganismos.

El término antimicrobiano se usa para describir sustancias que demuestran la capacidad de reducir la presencia de microorganismos, como bacterias y hongos. Muchas sustancias se pueden describir como antimicrobianas; como desinfectantes, antibióticos y, por supuesto, aditivos antimicrobianos (20).

Aunque muchas sustancias son antimicrobianas, la forma en que funcionan, actúa o duran no es universal. Cualquier cosa que sea

'antimicrobiana' tiene un efecto sobre los microorganismos, pero el término antimicrobiano no es una medida del rendimiento (20).

La diferencia de un antimicrobiano de un antibacteriano, es que el primero es eficaz contra un amplio espectro de microorganismos: esto incluye bacterias, mohos, hongos e incluso virus. En cambio, un antibacteriano, solo es eficaz contra las bacterias. Los aditivos antimicrobianos son extremadamente diversos y controlan los microorganismos de muchas formas diferentes. Cuando se utilizan en la fabricación de productos, crean superficies y materiales inhóspitos para los microorganismos, como las bacterias y los hongos (20).

2.2.2 Antibacterianos naturales

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, se ha desplegado un gran interés de parte de los investigadores por estudiar sustancias naturales que posean algunas propiedades farmacológicas con efecto microbiano (21). Se debe destacar que los fármacos a base de derivados de productos naturales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, de

forma tal que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados (22)

En el área odontológica, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos derivados de plantas con el objeto de ayudar en el control de la placa bacteriana, y por consiguiente, en la disminución de la incidencia de caries dental y enfermedad periodontal (21).

2.2.2.1 La hoja del Geranio (*Pelargonium hortorum*)

Geranio es el nombre común de la especie *Geranium*, muchas veces confundida con los pelargonios, nombre común de la especie *Pelargonium*. Sin embargo, ambas especies pertenecen a la familia de las geraniáceas. En el caso de los geranios “verdaderos”, sus especies aceptadas suman más de 400, entre las que destacan el geranio de hierro (de hojas grandes, olor desagradable y flores rojas) y el geranio de rosa (de hojas pequeñas y vellosas, olor muy grato y flores rosadas). El geranio de hierro debe su calificativo a su resistencia durante el invierno, por lo que es catalogada como una planta perenne (23).

El vocablo latín *Geranium* deriva del griego “gueranos”, cuyo significado es “grulla” y se le atribuye a la forma de su fruto, muy parecido al pico de esta ave. Por su parte la palabra latina *Pelargonium* deriva del griego “pelargos” que significa “cigüeña”, y también se le llama así por la forma de su fruto, como el pico de una cigüeña. Esta es la diferencia más destacada de los dos tipos de especie (23).

2.2.2.2 Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

Sub reino: Tracheobionta

División: Rosidae

Clase: Rosopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Geraniales

Familia: Geraniaceae

Género: *Pelargonium*

Especie: *P. hortorum*. (23)

2.2.2.3 Extracto del aceite esencial de Geranio (*Pelargonium hortorum*)

El aceite esencial de geranio tiene una potente acción antiinflamatoria, corta las hemorragias, desinfecta y cicatriza. De ahí sus propiedades benéficas en problemas dermatológicos como golpes, úlceras, hongos, aftas de la boca e inflamación de las encías, enfermedades periodontales, del tracto respiratorio y en la prevención del cáncer de colon. Además, reduce la congestión de las mamas, tiene propiedades diuréticas, alivia el agotamiento y alivia el estrés. Es útil también en la sobreexcitación infantil por su acción normalizante sobre el sistema nervioso. Es muy utilizado en la preparación de cremas faciales. El Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics editó en el año 2002 el trabajo del profesor S. Carnesecchi y colaboradores del Laboratorio de Quimioterapia de Estrasburgo (Francia) titulado: "Geraniol: componente del aceite esencial que inhibe el crecimiento y biosíntesis de poliaminas en células humanas del cáncer del colon" (9)

La planta del geranio viene siendo usada por la sabiduría popular (etnobotánica) como remedio casero para afecciones pulmonares, hemorragias externas, irritación de encías y otras enfermedades periodontales, como analgésico, antibacteriano, cicatrizante, etc. (9)

Los aceites esenciales o esencias vegetales son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales.

El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales, pero son sustancias químicamente muy complejas, con más de cien componentes. Son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. Por lo general no son oleosos al tacto. Pueden agruparse en seis clases, dependiendo de su estructura química: alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, lactonas y óxidos (9).

2.2.3 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans es una bacteria que participa en la formación de la placa dental o biopelícula que se forma sobre el esmalte de los dientes. Es un microorganismo que pertenece a la microbiota oral en los seres humanos y representa el 39% del total de *Streptococcus* en esa área (24).

La predisposición de algunas personas a sufrir más episodios de caries que otras tiene que ver con múltiples factores, entre los que se destacan la mala higiene bucal, la presencia de microorganismos cariogénicos y el abuso de alimentos ricos en sacarosa. Estos

factores influyen en el desequilibrio de la microbiota oral, donde se exacerba la población de *S. mutans* (25).

La prevalencia de caries dental en la población es bastante frecuente. Se estima que el 88,7% de personas de 5 a 65 años de edad ha presentado al menos un episodio de caries dental en su vida, siendo la población más vulnerable los niños y los adolescentes (25).

2.2.3.1 Características de *Streptococcus mutans*

Se caracterizan por ser anaerobios facultativos, lo que quiere decir que pueden vivir en presencia o ausencia de oxígeno. Requieren del 5 -10% de CO² para crecer en el laboratorio, por lo que se denominan microaerófilos (26).

Según la hemólisis que producen en el medio de cultivo agar sangre, se clasifica como alfa o gamma hemolítico. Son microorganismos muy susceptibles a los cambios ambientales, por lo que no sobreviven mucho tiempo fuera del organismo. A nivel de laboratorio son muy exigentes desde el punto de vista nutricional (26).

La formación de la biopelícula dental y su sistema de quórum sensing son fundamentales en la vida del *Streptococcus mutans*. La superficie dental es un hábitat natural indispensable para *Streptococcus mutans*

y el tropismo por la biopelícula dental se refleja por su adaptación a sintetizar glucanos, fijar compuestos y a adaptar su aciduricidad. (27)

Streptococcus mutans produce ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico cuando metaboliza carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa. Estos ácidos circulan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, generando calcio y fosfato, los cuales, a su vez, difunden fuera del esmalte. Este proceso se conoce como desmineralización. (27)

Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus*, básicamente las especies *mutans* (con sus serotipos c, e y f), *sanguis*, *sobrinus* y *crictetus*, han sido asociados a la caries, tanto en animales de experimentación como en humanos. Se conoce que los causantes principales de las caries son los *Streptococcus* del grupo *mutans*, asociados con otras bacterias que pueden modificar el desarrollo de las lesiones. El *Streptococcus mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas humanas, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción. Su nombre lo recibe de su

tendencia a cambiar de forma, y se puede encontrar como coco o de forma más alargada, como bacilo. (28)

2.2.3.2 Taxonomía

Streptococcus mutans pertenece al Dominio Bacteria, Phylum Firmicutes, Clase Bacilli, Orden Lactobacillales, Familia Streptococaceae, Género *Streptococcus*, Especie *mutans* (29).

La ausencia del carbohidrato C en su pared celular hace que no pueda ser clasificado en los grupos de Lancefield. Es por ello que se incluyó dentro del grupo denominado *Streptococcus viridans* (29).

Sin embargo, existe otra clasificación basada en el análisis de secuencia del gen 16SrRNA. En este sentido se clasificó como Grupo del “*S. mutans*”, el cual no incluye a una sola especie, sino que alberga a otros Streptococos antigénicamente similares como: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. macacae*, *S. rattus*, *S. downeii* y *S. ferus*. Muchas de estas especies son propias de algunos animales y rara vez se encuentra en el hombre. Sólo *S. mutans* y *S. sobrinus* son microbiota habitual de la cavidad oral del humano (29).

2.2.3.3 Morfología

Streptococcus mutans son células esféricas, por lo que se le denominan cocos. Se encuentran dispuestos en cadenas. No forman esporas y no son móviles. Cuando son teñidos con la técnica de coloración de Gram se tornan de color morado, es decir son Gram positivos (30).

No poseen capsula, pero tienen una pared bacteriana típica de Gram positivos. Contiene un peptidoglicano grueso de 80 nm de espesor, en el que se encuentra anclado el ácido teicoico, mientras que el ácido lipoteicoico está fijado a la membrana celular. No poseen carbohidrato C en su pared celular (30).

Usualmente no producen ni hemólisis, ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. *Streptococcus mutans* se ha subclasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. El hábitat natural de *Streptococcus mutans* es la boca humana. En cavidad oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas. Puede aislarse

frecuentemente de heces en humanos y ratas. Aunque *Streptococcus mutans* no se distribuye ampliamente en animales salvajes, se ha aislado en monos, murciélagos, ratas salvajes habitantes de campos de cultivo de caña de azúcar y de monos Rhesus. Igualmente, se ha aislado en ratas y hámsteres de experimentación. (28, 30)

Los polisacáridos de la pared celular juegan un papel importante en la colonización de sus nichos ecológicos. Las diferencias en las afinidades para la unión de los antígenos de polisacáridos a los tejidos humanos pueden ser la causa de esta distribución tan variada. Por otro lado, se cree que el progenitor de *Streptococcus mutans* haya sido el serotipo c y que las cepas f y e pueden haberse originado por mutaciones del determinante del serotipo c. *Streptococcus mutans* generalmente es conocido como patógeno dental e igualmente se considera que causa bacteriemia y endocarditis infecciosa. Previamente se ha clasificado en tres serotipos c, e y f debido a la diversa composición química de los polisacáridos específicos de los serotipos, los cuales están compuestos por un esqueleto de ramnosa cadenas laterales de glucosa. Recientemente se designó una cepa de *Streptococcus mutans* con serotipo no c/e/f como serotipo k el cual se caracteriza por una drástica reducción en la cantidad de cadenas laterales de glucosa. Un rasgo biológico común del serotipo k es su

bajo nivel de cariogenicidad debido a las alteraciones de varios de los mayores antígenos proteicos de superficie. (30)

3.2.2.4 Factores de virulencia

Los factores de virulencia son aquellos mecanismos con los que cuenta el microorganismo para causar enfermedad. *S. mutans* cuenta con:

- Producción de glucosiltransferasas.
- Capacidad de adherencia y formación de biopelícula.
- Producción de alta cantidad de ácidos orgánicos (acidogenicidad).
- Capacidad para sobrevivir a pH bajo (aciduricidad).

Además, la patogénesis de *S. mutans* se da por lo siguiente:

- **Producción de glucosiltransferasas.**

Las glucosiltransferasas B, C y D son enzimas que tienen la responsabilidad de degradar al carbohidrato sacarosa en dextranos y levanos, que son los poliglucanos más importantes.

Estos actúan en la agregación de microorganismos en la superficie dental, creando microcolonias que favorecen la formación de biopelícula (31).

- **Capacidad de adherencia y formación de biopelícula**

S. mutans tiene la capacidad de adherirse a la película dental, la cual es una capa orgánica mineralizada fisiológica y muy delgada de la superficie de los dientes, compuesta por proteínas y glicoproteínas (31).

Una vez unida a la película dental estas bacterias tienen la propiedad de adherirse a otras bacterias, a través de la formación de polímeros de glucanos extracelulares, actuando como un pegamento que mantiene unida y fuerte a toda la placa. Es así como se va formando la biopelícula o placa dental patológica (31, 32).

- **Producción de ácidos y capacidad para sobrevivir a pH bajo**

monosacáridos y disacáridos presentes en la dieta diaria, tales como glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y maltosa, llevando a

cabo la glucólisis bacteriana, que se traduce en la producción de ácidos, entre ellos láctico, propiónico, acético y fórmico (31, 33).

Pero además de ello, *S. mutans* puede sintetizar polisacáridos intracelulares que se metabolizan para producir ácidos en ausencia de hidratos de carbono exógenos. *S. mutans*, una vez instalada en la placa dental, metaboliza los fermentables (31).

Esto quiere decir que, *S. mutans* puede disminuir el pH a 4,2 en el interior de la placa dental, incluso entre las comidas, pudiendo sobrevivir a este pH de manera continua. Todos estos ácidos reaccionan con la hidroxiapatita del esmalte, originando la desmineralización del diente. Esto representa el principal mecanismo cariogénico de esta bacteria (34).

2.3 Definición de términos

- **Pelargonium hortorum (Geranio):** Dada la importancia del geranio (*Pelargonium hortorum*) en nuestra región, por ser una planta que crece abundantemente todo el año y su cultivo no necesita mayores cuidados, y presentar propiedades terapéuticas y farmacológicas excepcionales, se realizó su estudio fitoquímico para comprobar y

determinar sus principios activos, los mismos que tienen efectos terapéuticos sobre la salud. (35)

- ***Streptococcus mutans***: *Streptococcus mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoníaco. Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. *Streptococcus mutans* se ha subclasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. (30)
- **Extracto**: Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
- **Actividad antibacteriana de un Extracto**: Cualidad que consiste en eliminar o inhibir el crecimiento de las bacterias

patógenas que se desarrollan en un medio dado, al actuar sobre ellas indirecta (obstaculizando el desarrollo bacteriano) o directamente (ocasionando la muerte de la célula bacteriana).

- **Concentración mínima Inhibitoria (CMI):** Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.
- **Concentración mínima Bactericida (CMB):** Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.
- **Principio Activo:** Sustancia química responsable de actividad farmacológica y del uso terapéutico de una droga.
- **Antibacteriano:** Fármaco capaz de inhibir el crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se considera de diseño experimental, debido a que se valoró el efecto varias variables, donde se manipularon las condiciones de la investigación (36).

Prospectivo: porque los datos fueron registrados conforme a la ocurrencia de los hechos (37).

Longitudinal: Porque las variables de estudio fueron observadas a lo largo de un tiempo determinado (37).

In vitro: Porque la técnica para realizar el experimento se hizo en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

3.2 POBLACIÓN O UNIVERSO

3.2.1 Población cualitativa

Estuvo Conformado por las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio).

3.2.2 Población cuantitativa

Conformado por *Streptococcus mutans* que fue aislado en laboratorio para obtener Unidades Formadoras de Colonias (UFC).

3.2.3 Criterios de selección

a) Criterio de inclusión

- Hojas sanas de *Pelargonium hortorum* (Geranio)
- *Streptococcus mutans*.

b) Criterio de exclusión

- Hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) que no están en su etapa de inflorescencia.

3.3 TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Se estructuró un formato para recoger datos de los procedimientos “in vitro” de la actividad antibacteriana del extracto seco de *Pelargonium hortorum* (Geranio) frente a *Streptococcus mutans* para lo cual se realizaron 7 tratamientos en Kirby Bauer con sus respectivas repeticiones; para la CMI, 7 tratamientos; y para la CMB 3 tratamientos.

Así mismo, se elaboró otro formato para recoger la sensibilidad del *Streptococcus mutans* frente al extracto seco *Pelargonium hortorum* (Geranio).

3.4 PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

a) Trabajo experimental:

Para evaluar la actividad biológica del extracto de las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) se llevaron a cabo 3 procesos: la activación de la cepa bacteriana, la preparación del inóculo y las pruebas del efecto antibacteriano (Difusión en disco, Concentración Mínima Inhibitoria CMI y la Concentración Mínima Bactericida CMB).

La técnica para la prueba de sensibilidad se realizó siguiendo los parámetros de las normas técnicas del ministerio de salud nacional.

b) Material vegetal *Pelargonium hortorum* (Geranio)

- **Recolección**

Se recolectaron hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) en el mes de octubre de 2016, durante su época de floración, entre los meses de octubre a mayo, del Departamento de Tacna. Las hojas que se encontraban en buen estado, no deterioradas, la muestra recolectada se envolvió con papel kraff y se embolsó en cajas de cartón con su respectivo rótulo y se transportó hasta su procesamiento posterior.

- **Desecación**

Una vez transportadas las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) al laboratorio, éstas se limpiaron de impurezas, se secaron para su conservación y mantenimiento de los componentes del vegetal fresco y se evitó la

proliferación de microorganismos, perfectamente a temperatura ambiente en un área fresca y seca resguardada de la luz para no alterar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la especie en estudio.

- **Molienda**

Se trituró mecánicamente en molino de bolas a 500rpm durante dos horas, obteniéndose el material triturado, se guardó para su conservación en frascos de boca ancha de color ámbar debidamente rotulado.

c) Preparación del extracto desecado

- **Obtención del extracto desecado**

Para la obtención de los principios activos se empleó la técnica de desecación y molienda. En un envase estéril de vidrio color ámbar se colocó en su interior 20gr del desecado de hojas *Pelargonium hortorum* (Geranio) secas previamente triturada. Posteriormente se procedió a la evaporación a sequedad en estufa a 37°C de temperatura, obteniéndose, de esta manera los principios activos y se comprobó la esterilidad mediante la siembra en agar Müller-Hinton.

- **Diluciones del extracto desecado**

Se realizó por método de dilución; usando 1g de extracto desecado disuelto en 1mL de agua bidestilada. Con la solución obtenida del extracto desecado se prepararon 7 diluciones de ensayo cuyas concentraciones corresponden:

N°	1	2	3	4	5	6	7
V (µl)	15	17,5	20	22,5	25	27,5	30
C	15	17,5	20	22,5	25	27,5	30
(mg/mL)	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml	mg/ml

d) Obtención y preparación de las cepas de estudio.

- **Obtención de las cepas en estudio**

El *Streptococcus mutans* fue obtenido fue aislada a partir de una muestra bucal.

- **Aislamiento de Streptococcus mutans**

La clasificación de las cepas *S. mutans* se realizó con base en tests bioquímicos y fisiológicos propuestos por Facklam en 1974, (Schleifer, K.H. 1998). Este grupo incluye

las especies ***S. mutans***, ***S. sobrinus*** y ***S. cricetus***, ***S. rattus***, ***S. macacae***, ***S. downei***, ***S. ferus***. (Schleifer, K.H. 1998). La diferenciación de los estreptococos del grupo mutans se realiza por identificación en la fermentación de carbohidratos, ya que las características macroscópicas en cultivo no permiten hacer diferenciación de las especies presentes (38).

Cepa	Esculina	Inulina	Manitol	Rafinosa	Sorbitol
<i>S. sanguis</i>	-	+	-	-	-
Biotipo 3					
<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	+
<i>S. sobrinus</i>	-	+	+	-	-

- **Activación de cepas bacterianas (García, 2000)**

Con un asa bacteriológica se tomó una asada bacteriana que se extrajo la muestra y se activa en un tubo con caldo Müeller Hinton por un espacio de 24 horas a 37°C luego se siembro en un agar Müeller Hinton 24 horas a 37°C para su posterior resembrado, de aquí en adelante las cepas bacterianas se encontraban en actividad metabólica (cultivos jóvenes).

- **Preparación de la cepa bacteriana a estandarizar.**

Luego de tener una cepa bacteriana joven con sus principios metabólicos activos se resembró dichas cepas en caldo Müller Hinton por un espacio de 3 a 4 horas a 37°C para ser comparados con el tubo 0,5 de la escala de Mac Farland que contiene aproximadamente $1,5 \times 10^8$ ufc.

e) Grado de sensibilidad (NCCLS - 1985)

Se determina el grado sensibilidad bacteriana por difusión del disco (Kirby-Bauer), el inóculo bacteriano se depositó 100µL sobre la superficie del agar a cada placa correspondientemente, mediante la técnica de diseminación hasta que el inóculo quedó distribuido de modo homogéneo. Se dejó secar durante 3 a 5 minutos a temperatura ambiente.

Usando una pinza estéril se procedió a colocar los discos de papel filtro embebido de las diferentes concentraciones, en la superficie de las placas de Müller Hinton con bacterias de la muestra respectivamente; haciendo una ligera presión para permitir un contacto homogéneo.

Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas después de la cual se realizó la lectura midiendo los halos de inhibición sobre el crecimiento del microorganismo alrededor del disco. Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas por Duraffourd y Lapraz (1983).

- Resistente (-) si el diámetro es inferior o igual a 9mm.
- Intermedia para un diámetro entre 9 a 11mm.
- Sensible (+) para un diámetro superior a 11mm.

Con el fin de saber entre cuales de estas cantidades pudiese estar el MIC; incubándolo a 37°C por un espacio de 24 horas. Se anotó la presencia y el tamaño del halo, zona de inhibición.

f) Concentración mínima inhibitoria (NCCLS-1985)

- **Preparación de la solución madre**

Se preparó una solución madre a partir del extracto seco de las hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) de la siguiente manera:

1000mg 100 mL de caldo Müller Hinton

X 5.25mL

X = 52.5 mg/mL

Preparación del MIC (Concentración Mínima Inhibitoria). Con bacterias de Streptococcus mutans.

A partir de la solución madre (X = 5.25 mg/μL), se obtuvo una concentración final de 17.5 mg/mL

Trat.	Vol. Solución Madre	Caldo Müller Hilton	Volumen de Bacterias	Total de Vol.	Conc. mg/mL	Conc. Final mg/mL
T1	4,5	2655	300	3000	45	15
T2	5,25	2647,5	300	3000	52,5	17,5
T3	6	2640	300	3000	60	20
T4	6,75	2632,5	300	3000	67,5	22,5
T5	7,5	2625	300	3000	75	25
T6	8,25	2617,5	300	3000	82,5	27,5
T7	9	2610	300	3000	90	30

g) Concentración mínima bactericida (1985)

Una vez obtenido la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) por el método de dilución en medio líquido se procedió a la obtención de la Concentración Mínima Bactericida (CMB), luego de extraer en los tubos en los cuales no se observó crecimiento

visible de la bacteria (Técnica de la turbidimetría) (inhibición de crecimiento); esta suspensión fue inoculada en placas Petri debidamente rotuladas con la concentración correspondiente, añadiéndose luego agar Müeller Hin a 45°C. Se tomó como controles: positivo el agar Müeller Hinton con inóculo sin extracto, y control negativo, agar Müeller Hinton sin inóculo y sin extracto. Las placas se dejaron incubar durante 24 horas a 35°C.

La lectura se realizó en placas donde el extracto desecado fue capaz de eliminar completamente el desarrollo bacteriano o que eliminó al 99,9% de bacterias, comparándolo con el control positivo (Koneman, 2004).

3.5 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS

El presente trabajo de investigación se basó en un estudio experimental, todos los datos fueron procesados de la siguiente manera:

- Programa Word, como procesar de texto.
- Programa Excel, para la elaboración de base de datos, diseño de tablas y gráficas.
- Programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 23.0 para Windows.
- Para el análisis estadístico se utilizó la prueba estadística Análisis de Varianza ANOVA con un nivel de significación de 0,0.

CAPÍTULO IV

DE LOS RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

TABLA 01

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 15 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto <i>Pelargonium hortorum</i>		Placa 1			Promedio mm
Volumen (μ l)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	
15	15,0	12,0	14,5	10,0	12,17

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla N° 1, se presentan los halos de inhibición obtenida en la primera placa determinado por la concentración de 15 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), en la cual se observa que el efecto antibacteriano producido en el halo 1 y halo 3 es menor que el efecto producido en el halo 2, siendo el promedio de 12,17 mm, permitiendo concluir que existe una sensibilidad baja al extracto *Pelargonium hortorum* (Geranio) según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 02

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 17,5 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto <i>Pelargonium hortorum</i>		Placa 2			Promedio mm
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	
17,5	17,5	14,5	14,5	14,0	14,33

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 2, se presentan los halos de inhibición obtenido en la segunda placa determinado por la concentración de 17,5 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), en la cual se observa que el efecto antibacteriano producido en el halo 1 y halo 2 es ligeramente mayor que el efecto producido en el halo 3, siendo el promedio de 14,33 mm, permitiendo concluir que existe una sensibilidad media al extracto *Pelargonium hortorum* (Geranio) según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 03

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 20 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto		Placa 3			Promedio
<i>Pelargonium hortorum</i>		Halo 1	Halo 2	Halo 3	
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	mm
20	20,0	15,0	17,5	15,0	15,83

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 3, se presentan los halos de inhibición obtenido en la tercera placa determinado por la concentración de 20 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), observándose que el efecto antibacteriano producido en el halo 1 y halo 3 es ligeramente menor que el efecto producido en el halo 2, siendo el promedio de 15,83 mm, permitiendo concluir que existe una sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto *Pelargonium hortorum* según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 04

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 22,5 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto		Placa 4			Promedio
<i>Pelargonium hortorum</i>		Halo 1	Halo 2	Halo 3	
Volumen (µl)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	mm
22,5	22,5	14,0	13,3	15,0	14,10

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 4, se presentan los halos de inhibición obtenido en la cuarta placa determinado por la concentración de 22,5 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), observándose que la actividad antibacteriana producido en el halo 3 es mayor que el producido en el halo 2 y halo 1, siendo el promedio de 14,10 mm, permitiendo concluir que existe una sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto *Pelargonium hortorum* según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 05

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 26 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto <i>Pelargonium hortorum</i>		Placa 5			Promedio mm
Volumen (μ l)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	
26,0	26,0	15,3	15,1	15,6	15,33

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 5, se presentan los halos de inhibición obtenido en la quinta placa determinado por la concentración de 26 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), en la cual se obtuvo que la actividad antibacteriana producido en el halo 3 es mayor que el producido en el halo 1 y halo 2, siendo el promedio de 15,33 mm, concluyendo que existe una sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto *Pelargonium hortorum* según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 06

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 27,5 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto		Placa 6			Promedio
<i>Pelargonium hortorum</i>		Halo 1	Halo 2	Halo 3	
Volumen	[]	Halo 1	Halo 2	Halo 3	mm
(µl)	(mg/ml)	mm	mm	mm	
27,5	27,5	15,9	15,6	15,8	15,77

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 6, se presentan los halos de inhibición obtenido en la sexta placa determinado por la concentración de 27,5 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), obteniéndose que la actividad antibacteriana producido en el halo 1 es mayor que el producido en el halo 3 y halo 2, siendo el promedio de 15,77 mm, por lo cual se concluye que existe sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto *Pelargonium hortorum* según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 07

Prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a una concentración de 30 mg/ml por el método de difusión en disco

Extracto <i>Pelargonium hortorum</i>		Placa 7			Promedio
Volumen (μ l)	[] (mg/ml)	Halo 1 mm	Halo 2 mm	Halo 3 mm	mm
30,0	30,0	16,0	16,1	16,3	16,13

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 7, se presentan los halos de inhibición obtenido en la séptima placa determinado por la concentración de 30 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), observándose que la actividad antibacteriana producido en el halo 3 es mayor que el producido en el halo 2 y halo 1, siendo el promedio de 16,13 mm, concluyendo que existe sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto *Pelargonium hortorum* según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos.

TABLA 08

Tratamientos de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones por el método de difusión en disco

Tratamientos	Extracto		Placas			Promedio mm
	<i>Pelargonium hortorum</i>		Halo 1	Halo 2	Halo 3	
	Volumen (μ l)	[] (mg/ml)	mm	mm	mm	
T1	15,0	15,0	12,0	14,5	10,0	12,17
T2	17,5	17,5	14,5	14,5	14,0	14,33
T3	20,0	20,0	15,0	17,5	15,0	15,83
T4	22,5	22,5	14,0	13,3	15,0	14,10
T5	26,0	26,0	15,3	15,1	15,6	15,33
T6	27,5	27,5	15,9	15,6	15,8	15,77
T7	30,0	30,0	16,0	16,1	16,3	16,13

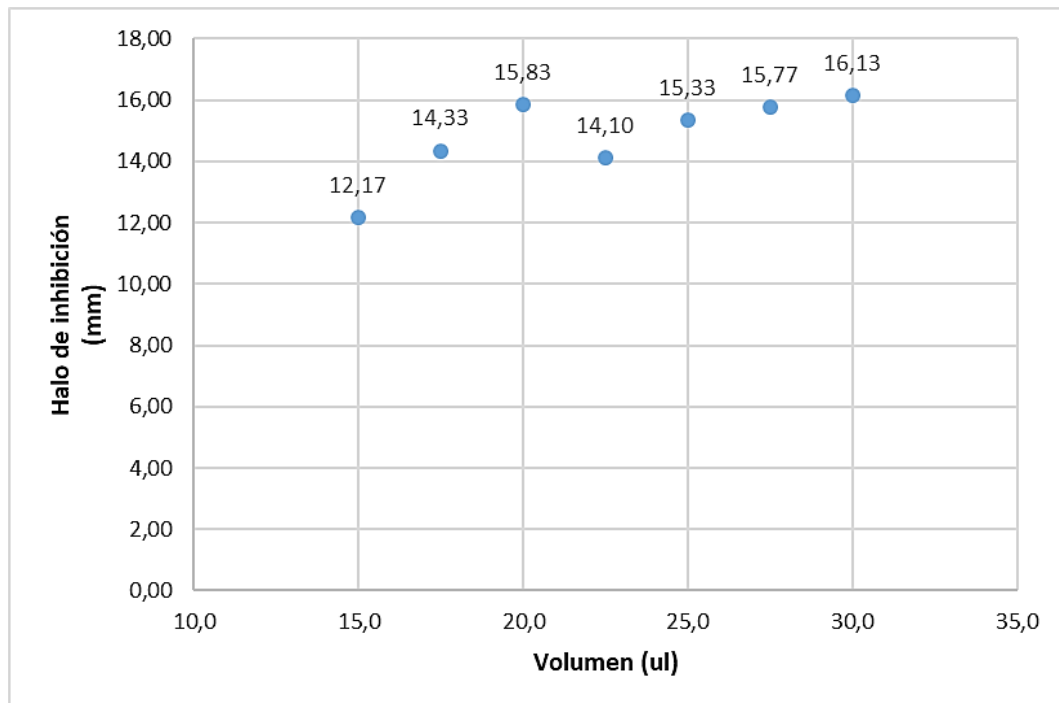
Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 8, se muestra el efecto de diferentes concentraciones del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) sobre el *Streptococcus mutans*.

La sensibilidad para el Streptococcus mutans (14,33 mm) se evidencia a partir del tratamiento 2 (T2) (17,5 mg/ml), esta sensibilidad es creciente en condiciones in vitro hasta el tratamiento 7 (T7) donde se obtuvo el mayor halo de inhibición (16,3 mg/ml).

GRÁFICO 01

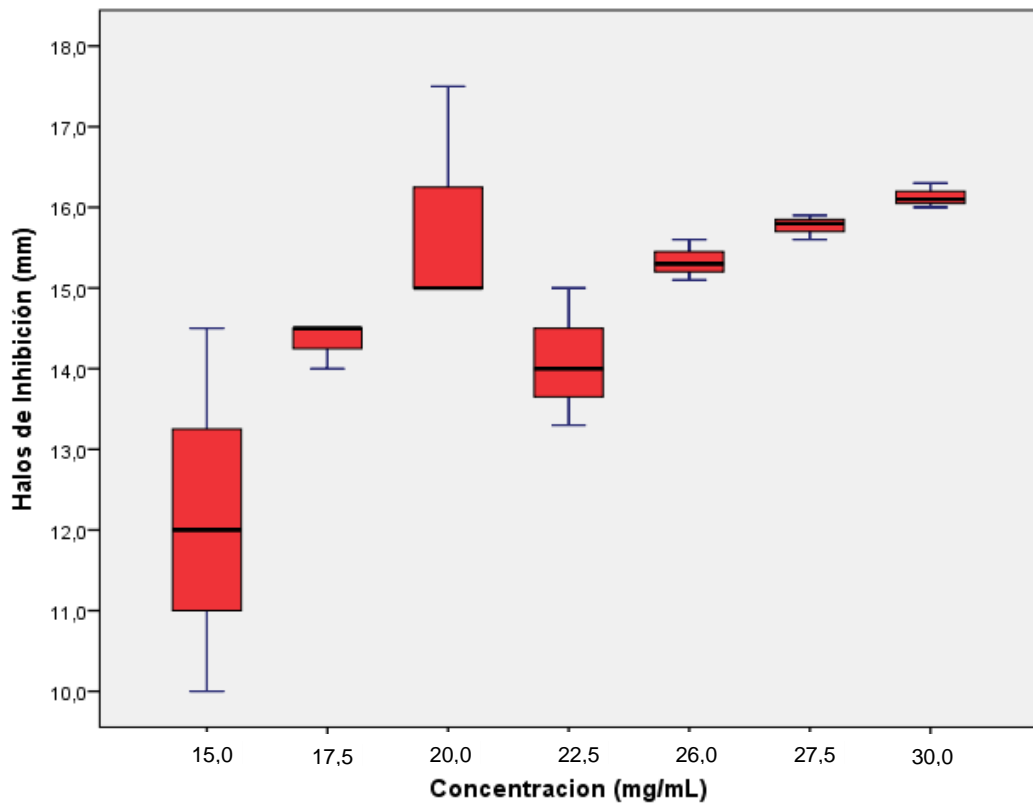
Representación gráfica de los halos de inhibición por efecto del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones



Fuente: elaboración propia

GRÁFICO 02

Promedios de halos de inhibición en la prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones



Fuente: elaboración propia

TABLA 09

Concentración mínima inhibitoria (MIC) del **extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio)** a diferentes concentraciones

Nº Tubo	[] Extracto (mg/ml)	Turbidez
T1	15,0	+
T2	17,5	+
T3	20,0	+
T4	22,5	+
T5	25,0	-
T6	27,5	-
T7	30,0	-
T+	Control Positivo	+
T-	Control Negativo	-

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 9, se muestra las diferentes concentraciones del extracto de ***Pelargonium hortorum* (Geranio)**, observándose que la concentración mínima inhibitoria (MIC) es de 25,0 (T5), ya que se obtiene inhibición de

crecimiento de *Streptococcus mutans*. Y, a partir de esta concentración hasta el Tratamiento 7 (T7) existe inhibición de crecimiento bacteriano (CIM), es decir no presentaron turbidez (-).

TABLA 10

Determinación de la Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio)

N° Tubo	[] (mg/ml)	UFC / Placa
T5	26,0	3
T6	27,5	2
T7	30,0	1

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 10, se muestran sólo las concentraciones **del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio)**, donde no se evidenció turbidez a partir de la CMI para determinar la concentración mínima bactericida (CMB); observándose que en la concentración de 30,0 mg/ml hay una inhibición del 99% del crecimiento de *Streptococcus mutans*, mientras que en las concentraciones 27,5 mg/ml y 26,0 mg/ml aún existen crecimiento de 2 y 3 UFC respectivamente.

TABLA 11

Determinación del grado de sensibilidad del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones por el método de difusión en disco

Extracto <i>Pelargonium hortorum</i>		Grado de sensibilidad		
Vol. (μ)	[] (mg/ml)	Sensibilidad limite < 9 mm (+)	Sensibilidad media 9-14 mm (++)	sensible > 14 mm (+++)
15,0	15,0		12,17	
17,5	17,5			14,33
20,0	20,0			15,83
22,5	22,5			14,10
26,0	26,0			15,33
27,5	27,5			15,77
30,0	30,0			16,13

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 11 se observa el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los halos de inhibición según la escala de Duraffourd y Lapraz observando que a la concentración de 15 mg/ml de extracto de ***Pelargonium hortorum*** se obtiene un halo de inhibición promedio de 12,17 mm y corresponde a las escala de sensibilidad media (++) , mientras que

con las concentraciones de 17,5 mg/ml, 20 mg/ml y 22,5 mg/ml, 26,0 mg/ml, 27,5 mg/ml y 30 mg/ml se obtienen halos de inhibición mayores a 14, los cuales corresponden a la escala de “sensible” (+++).

PRUEBA DE HIPÓTESIS

a) Hipótesis

H₀: No existe actividad antibacteriana del ***Pelargonium hortorum*** (Geranio), frente a ***Streptococcus mutans***.

H₁: Existe actividad antibacteriana del ***Pelargonium hortorum*** (Geranio), frente a ***Streptococcus mutans***.

b) Prueba Estadística: Análisis de Varianza (ANOVA)

c) Resultado:

TABLA 12

Análisis de Varianza para comparación de promedios de halos de inhibición de la prueba de Actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio)

Halos de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	F	Sig.
Entre grupos	35,118	6	5,853	5,064	0,006
Dentro de los Grupos	16,180	14	1,156		
Total	51,298	20			

Fuente: elaboración propia

d) Conclusión:

En la tabla Nro. 12, se puede apreciar que se aplicó la prueba estadística de Análisis de varianza, por tratarse de variables cuantitativas, encontrándose que existe diferencia significativa entre los halos de inhibición por efecto de la actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones con

un nivel de significancia del 95% y un margen de error menor a 0,05 (0,006).

Por tanto, se acepta la Hipótesis alterna (H_1) y se concluye que existe actividad antibacteriana del *Pelargonium hortorum* (Geranio), frente al *Streptococcus mutans*.

4.2 DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación son relevantes, dado que a diferentes concentraciones del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio), se demuestra el efecto en variados halos de inhibición frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* por el método de difusión en agar, similar a lo realizado por García S., en su estudio sobre efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (13).

En la tabla 1, se analiza la primera placa (Tratamiento 1) a una concentración de 15 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum*, donde el efecto antibacteriano promedio fue de 12,17 mm, siendo esta una sensibilidad “intermedia” según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos; a una concentración de 17,5 mg/ml (Tabla N° 2), produjo un efecto antibacteriano promedio de 14,33 mm de halo de inhibición, lo cual, confirma que el *Streptococcus mutans* ya se muestra muy “sensible” según la escala de Duraffourd y Lapraz para antibióticos (>14 mm, +++). Con 20 mg/ml del extracto (Tabla N° 3), se obtuvo un efecto antibacteriano promedio de 15,83 mm de halo de inhibición, confirmando que el *Streptococcus mutans* es muy “sensible”.

Un estudio similar de Guerrero J, et al., sobre actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis*, in vitro, concluyó que el extracto acuoso de ***Pelargonium peltatum*** tiene actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus sanguis* (10).

En contraste a nuestro experimento, Lazo J., en Lima, utilizó el extracto de *Croton lechleri* y de *Pelargonium robertianum* L. en el tratamiento de la gingivitis asociada al embarazo, quién encontró a *Pelargonium Robertianum* L., como la más efectiva en los pacientes tratados, atribuyó que posiblemente se debió al efecto del geraniol, aceite esencial que actúa como un antimicrobiano con mayor actividad sobre gérmenes gram (+) siendo el principal *Streptococcus mutans*, microorganismos relacionados mayormente con la gingivitis asociada al embarazo (16).

Analizando nuestros resultados in vitro y el realizado in vivo de Lazo J., nos permite predecir que el geranio en sus diferentes especies tienen propiedades medicinales que serían una alternativa para las

aplicaciones en el manejo de tratamiento bucodental, principalmente la gingivitis.

Así también, en el Tratamiento 4 (Tabla N° 4), la concentración fue de 22,5 mg/ml del extracto de *Pelargonium hortorum*, produciendo una actividad antibacteriana promedio de 14,10 mm de halo de inhibición, indicando que el *Streptococcus mutans* fue muy “sensible” (>14 mm, +++), igualmente, a una concentración de 26 mg/ml del extracto (Tabla N° 5), produjo un efecto de halo de inhibición promedio de 15,33 mm; a 27,5 mg/ml del extracto, el efecto fue de 15,77 mm de halo de inhibición (Tabla N° 6) y en el último Tratamiento (Tabla N° 7) con 30 mg/ml, produjo el mayor diámetro promedio de halo de inhibición (16,13 mm), por tanto, el *Streptococcus mutans* fue muy “sensible”.

Haciendo un resumen de los 7 Tratamientos del extracto de *Pelargonium hortorum* (Tabla N° 8), se destaca que el efecto sobre el *Streptococcus mutans*, se evidenció a partir del Tratamiento 2 (17,5 mg/ml), cuyo grado de sensibilidad es identificado como muy “sensible” del *S. mutans*, dado que su halo de inhibición promedio fue 14,33 mm, luego se observó una gradiente de sensibilidad creciente hasta el tratamiento 7 (30,0 mg/ml), siendo este último donde se obtuvo el mayor

halo de inhibición (16,3 mg/ml). Por tanto, se puede concluir, que en el experimento, a medida que se aumentó la concentración del extracto de *Pelargonium hortorum*, el efecto antibacteriano fue mayor.

Un estudio de Ríos N, sobre “Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, ***Enterococcus faecalis*** y *Staphylococcus aureus*, evidenció que el mayor porcentaje de inhibición se obtuvo a una concentración de 900 mg/ml del extracto, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, el cual fue de 89.08%, respecto a la inhibición producida por el control positivo (14).

En coherencia con el segundo objetivo específico (Tabla N° 9), se evidenció que la concentración mínima inhibitoria (MIC) fue de 26,0 mg/ml (T5) del extracto de *Pelargonium hortorum*, donde se obtuvo inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans*, es decir, hubo ausencia de turbidez (-), lo que explica, que 26,0 mg/ml fue la concentración mínima que tuvo la capacidad de determinar de forma precisa la inhibición del crecimiento de ***Streptococcus mutans***.

En coherencia con el tercer objetivo específico (Tabla N° 10), se evidenció que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) determinado en el experimento, fue de 30,0 mg/ml de *Pelargonium hortorum*, obteniéndose una inhibición del 99% del crecimiento de *Streptococcus mutans*, lo que explica, que 30 mg/ml fue la mínima cantidad del extracto capaz de destruir el 99% de un inóculo en condiciones estandarizadas de ***Streptococcus mutans***.

Por otro lado, analizando el grado sensibilidad (Tabla N° 11), se puede concluir que la única concentración que produjo una sensibilidad “intermedia” fue el Tratamiento 1 (15 mg/ml), cuyo efecto de halo de inhibición promedio fue 12,17 mm (9-14 mm, ++), después destacamos del experimento, que a partir de la concentración de 17,5 mg/ml, hasta los 30 mg/ml de extracto de *Pelargonium hortorum*, todos, obtuvieron halos de inhibición mayores a 14 mm, los cuales correspondieron a la escala de muy “sensible” (+++).

De forma similar en Ecuador, Baculima D., en su estudio “Determinación in vitro del efecto antibacteriano y antimicótico de *Pelargonium zonale* en patología bucofaríngea, encontró que el extracto alcohólico de las hojas de esta planta produjo un efecto antibacteriano frente a ***S. aureus***,

comparado con los antibióticos utilizados como control, evidenciando una diferencia estadística significativa en cada uno de los ensayos realizados. Así mismo, en comparación con la DL50 obtenida; resultaron tóxicas, sin embargo no presentaron un efecto antibacteriano significativo (mayor o semejante) a los antibióticos empleados como control (11).

Así también, Guerrero J, et al, encontró que la más alta actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* se obtuvo en la concentración de 400 mg/mL y la más baja en la de 25 mg/mL del extracto acuoso, sobre estas especies de *Streptococcus* (10).

Por último, al comprobar la hipótesis planteada en la investigación (Tabla N° 12), con la prueba estadística de Análisis de varianza, se evidenció que existe diferencia estadística significativa entre los halos de inhibición por efecto de la actividad antibacteriana del extracto de *Pelargonium hortorum* (Geranio) a diferentes concentraciones ($0.006 < 0,05$). Por tanto, se rechaza la H_0 y se concluye que el *Pelargonium hortorum* (Geranio) posee efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*.

Lo anterior, es similar a lo encontrado por García S. en su estudio in vitro, quien concluyó, mediante el análisis de varianza, existió diferencia altamente significativa entre las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* frente a estas bacterias (13).

Sin embargo, nuestro resultado difiere de Baculima D. que determinó in vitro el efecto antibacteriano y antimicótico de *Pelargonium zonale* en patología bucofaríngea, que mediante el ensayo del antibiograma del extracto seco de esta planta no presentó un efecto antibacteriano considerable frente a *Streptococcus pyogenes* (11).

CONCLUSIONES

- El grado de sensibilidad que presentó ***Streptococcus mutans*** frente al extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio), se obtuvo desde la concentración de 17,5 mg/ml, que produjo un efecto de 14,33 mm de halo de inhibición, es decir, se identifica que esta bacteria es “***muy sensible***” según la escala de Duraffourd y Lapraz (≥ 14 mm). Por tanto, queda demostrado el actividad antibacteriano in vitro.
- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) fue de 25,0 mg/ml, la cual, tuvo la capacidad de determinar de forma precisa la inhibición del crecimiento de ***Streptococcus mutans***.
- La Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) fue de 30,0 mg/ml, siendo la mínima cantidad del extracto capaz de destruir el 99% de un inóculo en condiciones estandarizadas de ***Streptococcus mutans***.

RECOMENDACIONES

- Habiendo encontrado actividad antibacteriana del extracto seco de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) frente a ***Streptococcus mutans***, in vitro, se sugiere utilizarla como colutorio bucal in vivo, antiséptico en la pasta dental o algún tipo de goma de mascar para la prevención de la caries dental y otras infecciones orales en la población general, dado a la abundancia y accesibilidad económica de dicha planta natural, previa evaluación toxicológico.
- Experimentar con otros tipos de métodos de extracción de agentes naturales del ***Pelargonium hortorum*** (Geranio), para las pruebas de comparación, para de este modo determinar cuan efectivas son las diferentes extracciones.
- Realizar pruebas in vitro de la concentración mínima de toxicidad evaluando la efectividad que pueden proporcionar los componentes activos de ***Pelargonium hortorum*** (Geranio) como también poder determinar sus dosis terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Negroni M. Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica. 2da ed. Editorial: Médica Panamericana. Buenos Aires.; 2009.
2. OMS. Salud Bucodental. [En internet] [Acceso el 2 noviembre 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
3. Torres C. Políticas de salud bucal para el Perú. Desarrollo de capacidades para el Cirujano Dentista en el mercado de salud post moderno. [En internet] [Acceso el 10 octubre 2018]. Disponible en: <http://torresnona21.blogspot.com/2015/02/politicas-de-salud-bucal-para-el-peru.html>
4. Barrientos I. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. ESTUDIO in vitro. Lima 2017.
5. Liébana-Ureña J. Microbiología Oral. 2da. ed: Mc Graw-Hill– Interamericana Madrid; 2002.
6. Cohen S, Hargreaves K. Vías de la pulpa. 9na ed ed: Elsevier España 2008.
7. Estrella C. Ciencia Endodóntica. Brasil: Artes Medicas; 2005.
8. Ingle J, Bakland L. Endodoncia. 5ta ed. México DF: Mc Graw-Hill – Interamericana; 2004.

9. Karolina V. et al. Crema dental a base de las propiedades medicinales y terapéuticas del aceite esencial del geranio (*Pelargonium hortorum*). Universidad Alas Peruanas. CienciayDesarrollo.2008.v9.09.
10. Guerrero J, Ortiz Z, Peralta L, Pérez F. Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum* (L.) L'Hér. sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a clorhexidina. Cuba. 2013.
11. Baculima D, Farfán A. Determinación in vitro del efecto antibacteriano y antimicótico de *Pelargonium zonale* en patología bucofaríngea. [Tesis de grado para título de Bioquímico Farmacéutico]. Universidad de Cuenca. Ecuador 2010.
12. García S. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Trujillo- Perú 2015.
13. Ríos N, Dávila R. Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, IMET- ESSALUD-2013. Iquitos – Perú 2014.
14. Lazo J, Pareja M. Extracto de *Croton lechleri* y de *Pelargonium robertianum* L. en el tratamiento de la gingivitis asociada al embarazo. Lima Perú. 2007

15. Ramos C. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum* (coca) sobre *Porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro, [Tesis de grado para título de Cirujano Dentista]. Universidad Nacional Mayo de San Marcos. Lima 2012.
16. Anastasia Cruz-Carrillo, Natalia Rodríguez N., Carlos Eduardo Rodríguez. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 13 (2): 117-124.
17. Rodríguez C. Eficacia antimicrobiana de solucies irrigadotas de canais radiculares. Dissertacao apresentada ao Programa de Maestrado en Medicina Tropical de Universidad Federal de Goais. 2000; 27
18. Bavestrello P. Introducción a la Fitoterapia. Universidad Católica de Chile.
19. Kartesz JK. PLANTS profile for *Pelargonium hortorum* (zonal geranium) [en línea] [Consulta: 18 de noviembre 2018] USDA. Disponible en: <<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PEHO2>>
20. Linossier A., Valenzuela C., Soler E., y Contreras E. Colonización de la cavidad oral por *Streptococcus* grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo. Rev Chil Infect 2011; 28 (3): 230-237

21. Mayta T., Frank R.; Sacsquispe S. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) Revista Estomatológica Herediana, vol. 20, núm. 1, enero-marzo, 2010, pp. 19-24.
22. Tanzer J, Livingston J, Thompson A. The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans. J Dent Educ. 2001;65:1028-1037.
23. Oviedo E, et al. *Streptococcus mutans* y caries dental. Rev. CES Odont. 2013; 26(1) 44-56.
24. Quiñones J, Duque J, Gato I, Fuentes. Asociación del *Streptococcus mutans* y lactobacilos con la caries dental en niños. Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas "Juan Guiterras Gener". Cuba. 2007.
25. Ryan KJ, Ray C. Sherris. Microbiología Médica, 6ª edición McGraw-Hill, New York, U.S.A; 2010. p 688-693.
26. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. Rev. CES Odont. 2013; 26(1) 44-56.
27. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2014; 33(4):499-515.

28. Chávez de Paz L., Gram – positive organisms in endodontic infections, Endodontic Topics. 2004; 9: 79-96.
29. Graciano M, Correa Y, Martínez C, Burgos A, Ceballos J, Sánchez L. Streptococcus mutans y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. Rev Nac de Odontol. 2012; 8(14):32-45.
30. Negroni. Microbiología Odontológica. Editorial Médica Panamericana, 1999.
31. Flores-Huamán K, Laime-Soto S. Crema dental a base de las propiedades medicinales y terapéuticas del aceite esencial del geranio (Pelargonium hortorum). CienciayDesarrollo.2008.v9.09.
32. Manterola C, Otzen T. Estudios Observacionales. Los Diseños Utilizados con Mayor Frecuencia en Investigación Clínica. International Journal of Morphology. 2014;32(2):634-45.
33. Sampieri-Hernández R, editor. Metodología de la Investigación. Metodología de la Investigación. México. Editorial Mc Graw Hill 2010.
34. Kalenin S., Budimir A. The role of the microbiology laboratory in healthcare associated infection prevention. Int J Infect Control, 5 (2009), pp. 1-6.

ANEXO

ANEXO 1: MATRIZ DE DATOS

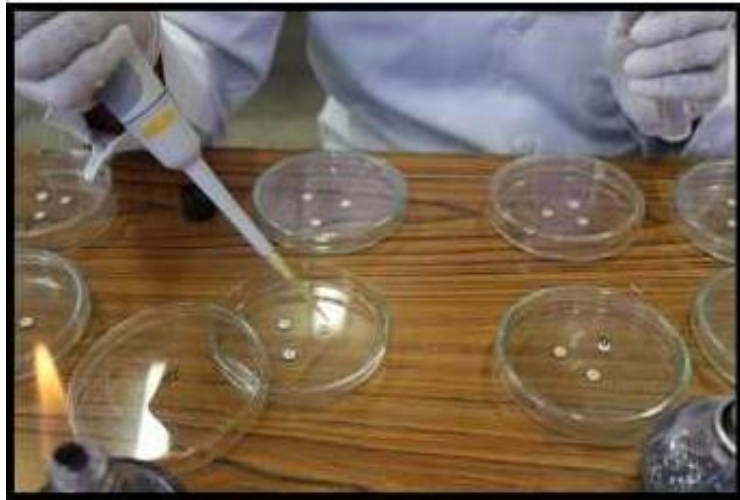
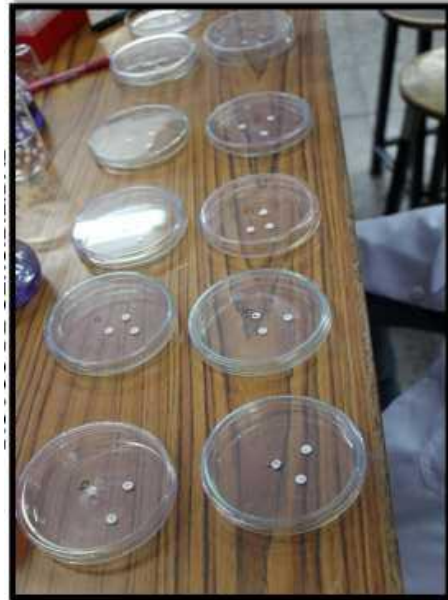
N° tratamientos	Volumen solución Madre	[] Inicial (mg/ml)	Valor Constante	[] Final (mg/ml)	Tratamientos	Extracto		Placas			Promedio
						<i>Pelargonium hortorum</i>		Halo 1	Halo 2	Halo 3	
						Volumen	[]				
						(μ l)	(mg/ml)	mm	mm	mm	mm
T1	530	53.0	3	17.6	T1	15	15	12	14.5	10	12.17
T2	540	51.1	3	18.0	T2	17.5	17.5	14.5	14.5	14	14.33
T3	550	55.0	3	18.3	T3	20	20	15	17.5	15	15.83
T4	560	56.0	3	18.6	T4	22.5	22.5	14	13.3	15	14.1
T5	570	57.0	3	19.0	T5	26	26	15.3	15.1	15.6	15.33
T6	580	58.0	3	19.3	T6	27.5	27.5	15.9	15.6	15.8	15.77
T7	590	59.0	3	19.6	T7	30	30	16	16.1	16.3	16.13

ANEXO 2: EVIDENCIA DE EXTRACCIÓN DE *Pelargonium hortorum*



ANEXO 3: PREPARACIÓN DE CONCENTRACIONES DE *Pelargonium hortorum*







ANEXO 4: LECTURA DE HALOS DE INHIBICIÓN DE *Streptococcus mutans*



