

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TRUJILLO**  
**BENEDICTO XVI**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**PROGRAMA DE ESTUDIOS DE ODONTOLOGÍA**



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
HIDROETANÓLICO DE *ULVA FASCIATA* SOBRE CEPAS DE  
*STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO – 2019**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE CIRUJANO DENTISTA**

**AUTOR**

**Br. Judith Jenifer, Alayo Ticlio**

**ASESOR**

**Mg. Nelson, Bacón Salazar**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

**Prevención de enfermedades y promoción de la salud bucal**

**TRUJILLO-PERÚ**

**2023**

## **Autoridades**

Gran Canciller. Dr. Luis Orlando Miranda Díaz

### **Rector**

Mg. Jorge Isaac Manrique Catalán

### **Gerente General**

C.P.C.Alejandro Carlos Garcia Flores

### **Gerente de Administración y Finanzas**

Dr. Francisco Alejandro Espinoza Polo

### **Vicerrector de Investigación**

Dra. Mariana Geraldine Silva Balarezo

### **Vicerrectora Académica**

Dra. Anita Campos Márquez

### **Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud**

Dra. Teresa Sofía Reátegui Marín

### **Secretaría General**

## Conformidad del asesor

Yo, **Bacón Salazar Nelson** con **DNI N° 08278293**, asesor de la Tesis de Pregrado titulada: **“Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo - 2019”**, presentado por el Bachiller en Estomatología **Alayo Ticlio Judith Jenifer**, con **DNI N° 70154250**, informo lo siguiente:

En cumplimiento de las normas establecidas en el Reglamento de la Escuela de Pregrado de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI, en mi calidad de asesor, me permito conceptuar que la tesis reúne los requisitos técnicos, metodológicos y científicos de investigación exigidos por la escuela de pregrado.

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación está en condiciones para su presentación y defensa ante un jurado.

Trujillo, 16 de Febrero del 2023



---

**Bacón Salazar Nelson**

**DNI: 08278293**

## **Dedicatoria**

A Dios por estar a mi lado guiando mis pasos en todo momento para cumplir con el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis padres por estar siempre presentes brindándome su apoyo y su amor incondicional, por hacer de mí una persona de bien y valiosa para la sociedad, por formarme con valores, por no permitir que me rinda, por darme la fortaleza necesaria para superar las dificultades durante mi formación universitaria.

A mi familia en general por creer en mí y brindarme su apoyo en todo momento, por sus palabras de aliento, que lograron reconfortarme, gracias por formar parte de mi vida.

JUDITH

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios por su infinito amor, por estar presente en cada momento de mi vida, por ayudarme a vencer todos los obstáculos y lograr cumplir mis metas.

Agradezco a mi asesor por haberme orientado con mucha paciencia y esmero en la realización del informe de tesis.

A mi padre Alayo Alonso Veronico por haberme brindando su valioso tiempo ayudándome durante la recolección de la alga usada en la ejecución de mi proyecto.

JUDITH

## Declaratoria de autenticidad

### Declaratoria de autenticidad

Yo, Alayo Ticlio Judith Jenifer con DNI N° 70154250, Bachiller en Estomatología de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI, doy fe que he seguido rigurosamente los procedimientos académicos y administrativos emanados por la Facultad de Ciencias de la Salud, para la elaboración y sustentación del trabajo de investigación titulado: “Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo - 2019”, el cual consta de un total de 91 páginas.

Dejo constancia de la originalidad y autenticidad de la mencionada investigación y declaro bajo juramento en razón a los requerimientos éticos, que el contenido de dicho documento, corresponde a mi autoría respecto a redacción, organización, metodología y diagramación. Asimismo, garantizo que los fundamentos teóricos están respaldados por el referencial bibliográfico, asumiendo un mínimo porcentaje de omisión involuntaria respecto al tratamiento de cita de autores, lo cual es de mi entera responsabilidad.

Se declara también que el porcentaje de similitud o coincidencia es de 11%, estándar permitido por el Reglamento de grados y títulos de la Universidad Católica de Trujillo.

La autora



Alayo Ticlio Judith Jenifer

DNI N°: 70154250

# Hoja de autenticidad

## Informe de tesis

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>11</b> %	<b>7</b> %	<b>3</b> %	<b>12</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>Submitted to Universidad Cientifica del Sur</b> Trabajo del estudiante	<b>7</b> %
<b>2</b>	<b>repositorio.uladech.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>3</b>	<b>repositorio.upagu.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 2%

Excluir bibliografía

Activo

## Índice

### PORTADA

Páginas preliminares.....	i
Autoridades.....	ii
Conformidad del asesor .....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento .....	v
Declaratoria de autenticidad .....	vi
Hoja de autenticidad .....	vii
Índice .....	viii
Índice de tablas.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT .....	xii
Capítulo I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema .....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Formulación de objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo general .....	4
1.3.2. Objetivos específicos .....	4
1.4. Justificación de la investigación .....	5
Capítulo II: MARCO TEÓRICO .....	6
2.1 Antecedentes de la investigación.....	6
2.2 Bases teórico científicos .....	10
2.3 Definición de términos básicos .....	16
2.4 Formulación de hipótesis .....	17
2.4.1 Hipótesis general .....	17
2.4.2 Hipótesis específicas .....	17
2.5 Operacionalización de variables .....	18
Capítulo III: METODOLOGÍA .....	19
3.1 Tipo de investigación.....	19
3.2 Método de Investigación .....	19
3.3 Diseño de investigación .....	19



3.4	Población, muestra y muestreo .....	20
3.5	Técnicas e instrumentos de recojo de datos .....	22
3.6	Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	22
3.7	Ética investigativa .....	26
<b>Capítulo IV: RESULTADOS .....</b>		<b>28</b>
4.1	Presentación y análisis de resultados.....	28
4.2.	Prueba de hipótesis.....	29
4.3.	Discusión de resultados .....	38
<b>Capítulo V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS .....</b>		<b>41</b>
5.1	Conclusiones .....	41
5.2	Sugerencias .....	42
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>		<b>43</b>
<b>ANEXOS .....</b>		<b>52</b>
Anexo 1: Instrumentos de medición .....		52
Anexo 2: Ficha técnica del instrumento .....		55
Anexo 3: Constancia de calibración del instrumento.....		56
Anexo 4: Base de datos.....		57
Anexo 5: Matriz de consistencia .....		58
Anexo 6: Otros.....		60

## Índice de tablas

<b>Tabla 1:</b> Estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> , sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	28
<b>Tabla 2:</b> Valores de Shapiro-Wilk de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> .....	30
<b>Tabla 3:</b> Valor de la significancia de ANOVA de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> .....	31
<b>Tabla 4:</b> Valor de las comparaciones múltiples del test de Duncan de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> .....	33

## RESUMEN

Este estudio comparó el efecto antibacteriano de tres concentraciones de extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, y la muestra por 10 repeticiones de cada extracto incluyendo un control positivo (Gluconato de clorhexidina al 0.12%) y un control negativo (etanol al 70%). Para ello, se recolectó y se identificó taxonómicamente el alga *Ulva fasciata* de la cual se elaboraron los extractos hidroetanólicos a concentraciones del 25%, 50% y 75%. Así mismo, el cultivo liofilizado de cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se reactivaron sembrándolos en Caldo Brain Heart Infusion (BHI), e incubándolos a 37°C por 24 – 48 horas por microaerofilia, después se cogió una colonia procediendo a diluirlo nuevamente en caldo BHI y de esta se tomaron 100 µl colocándolas en placas Petri con Agar Müeller Hinton para su enfrentamiento. Para la recolección de datos del efecto antibacteriano, se aplicó el método de Kirby Bauer. El extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% obtuvo un halo de inhibición promedio de 11.90 mm, al 50% un promedio de 15.41 mm y al 75% un promedio de 20.50 mm. Se aplicó la prueba de ANOVA, encontrando ( $p = 0.000$ ) que existe diferencia estadística significativa entre las tres concentraciones. En conclusión, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% presentó un mayor efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que las otras dos concentraciones.

Palabras clave: Antibacteriano, extracto, *Streptococcus mutans*, *Ulva fasciata*.

## ABSTRACT

This study compared the antibacterial effect of three concentrations of hydroethanolic extract of *Ulva fasciata* on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The population consisted of strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175, and the sample consisted of 10 replicates of each extract including a positive control (0.12% chlorhexidine gluconate) and a negative control (70% ethanol). For this purpose, the *Ulva fasciata* algae from which the hydroethanolic extracts were prepared at concentrations of 25%, 50% and 75% were collected and taxonomically identified. Likewise, the lyophilized culture of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains were reactivated by seeding them in Brain Heart Infusion Broth (BHI), and incubating them at 37°C for 24 - 48 hours for microaerophilia, then a colony was taken and diluted again in BHI broth and 100 µl were taken and placed in Petri dishes with Müeller Hinton Agar for their confrontation. For data collection of the antibacterial effect, the Kirby Bauer method was applied. The hydroethanolic extract of *Ulva fasciata* at 25% obtained an average inhibition halo of 11.90 mm, at 50% an average of 15.41 mm and at 75% an average of 20.50 mm. The ANOVA test was applied, finding ( $p = 0.000$ ) that there is a significant statistical difference between the three concentrations. In conclusion, the 75% hydroethanolic extract of *Ulva fasciata* had a greater antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains than the other two concentrations.

Key words: Antibacterial, extract, *Streptococcus mutans*, *Ulva fasciata*.

## Capítulo I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Planteamiento del problema

Una de las enfermedades más frecuentes que a través de la historia se ha establecido es la caries dental y en la actualidad se ha convertido en un problema de salud pública.<sup>1</sup> La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como el reblandecimiento del tejido duro del diente que avanza hasta dar paso a una cavidad, perjudicando la salud de las personas y su vida diaria.<sup>2</sup>

La causa de la caries dental es múltiple, se puede originar por el desequilibrio en las comunidades bacterianas del biofilm formada de manera natural en la cavidad bucal, favoreciendo el desarrollo de bacterias (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*), productoras de ácidos (ácido láctico) resultantes de la fermentación de hidratos de carbono contenidos en las secreciones bucales o en la dieta, disolviendo el esmalte protector de los dientes y como consecuencia su desarrollo.<sup>3,4</sup> Dicho de otra manera, para que la caries se produzca es necesario que exista la interacción de factores como: el huésped susceptible (los dientes y la saliva), el metabolismo de los microorganismos que componen la placa dental productores de ácidos y el sustrato (dieta cariogénica) que deberán estar presente durante un período de tiempo necesario para su actuación.<sup>5</sup>

Según el informe de la OMS, la caries dental prevalece en un 60 a 90% en niños de etapa escolar y casi en un 100% en adultos de todo el mundo.<sup>6</sup> De entre todos los países de América, el Perú tiene la mayor tendencia de caries que va incrementado conforme se avanza en edad, pudiendo llegar a perderse algunas piezas dentales o su totalidad al llegar a la etapa adulta.<sup>7</sup> Su frecuencia puede darse en gran parte a la higiene bucal deficiente o nula, malos hábitos de alimentación y la falta de atención odontológica que en su mayoría están relacionados al nivel socioeconómico, dando como resultado el deterioro de los dientes de miles de personas.<sup>8,9</sup>

En el último reporte oficial del Ministerio de Salud del Perú (MINSA), mostraron resultados alarmantes sobre la prevalencia de caries dental con un promedio de 90% a nivel nacional en población escolar, presentando el área urbana un 90,6% y la rural 88,7%.<sup>9,10</sup> La población de la región la Libertad no está exenta de presentar caries dental, Aldave S. en su estudio llevado a cabo en la Institución Educativa Radiantes Capullitos del distrito de Trujillo que buscaba medir la prevalencia de esta, obtuvo

como resultado un 84 % en niños entre las edades de 3 y 5 años, siendo más prevalente en niños de 5 años con un 52.5%.<sup>11</sup> Basilio O, et al. en su estudio realizado en el Asentamientos Humanos del distrito de La Esperanza, provincia de Trujillo en niños de 2 a 5 años (240 niños), encontró una prevaecía de caries de 100% categorizándolo en caries baja con un 25.4%, media con 52.5% y alta con 22.1%.<sup>12</sup>

Al ver la prevalencia de esta enfermedad, es necesario actuar para poder controlarla o prevenirla; hoy en día, para su tratamiento se emplean diferentes alternativas considerando el uso de una gran gama de sustancias químicas que pueden dañar no solo la microflora patógena sino también la microflora saprófita lo que a la larga genera un desequilibrio en el ambiente de la cavidad bucal produciéndose otras enfermedades.<sup>13</sup> Por otro lado mucho de los productos que se usan tiene un costo económico muy elevado, lo que limita su uso para las personas de condición media y baja.<sup>14</sup> Es en estos casos en los que se puede hacer uso de alternativas naturales que suelen ser accesibles para todos sin distinción socioeconómica y a su vez presentan menos efecto secundarios que los medicamentos convencionales; pueden ser usadas internamente como píldoras, jarabes e infusiones, o externamente como cataplasmas, yesos y linimentos en el mantenimiento de la salud bucal.<sup>15</sup>

En estos tiempos, los productos naturales se han convertido en una buena opción en el área odontológica debido a que poseen diversas propiedades atribuidas por sus metabolitos presentes, especialmente su efecto antibacteriano; como consecuencia de ello se ha incrementado la demanda en la selección de nuevas drogas terapéuticas de origen natural como las plantas y organismos del mar, siendo las algas una de las principales fuentes productoras de compuestos bioactivos, asignándole probables usos tanto antibacterianos, como antivirales, antitumorales, anticancerígenos, antiinflamatorios, cardiotónicos y posibles anticoagulantes con la finalidad de poder combatir enfermedades y microorganismos patógenos, entre ellos los que produce la caries (*Streptococcus mutans*).<sup>16</sup>

Se han realizado investigaciones en distintas partes del mundo haciendo referencia a extractos algales demostrando que estos presentan actividad antimicrobiana, dentro de ellas se encuentra la *Ulva fasciata*, una macroalga que

demuestra su efecto inhibitorio frente al crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas.<sup>16,17</sup>

Perú es un país que cuenta con una riqueza marina muy extensa, en especial, varias especies de algas marinas, como la *Ulva fasciata* cuya distribución está presente todo el año, lo que facilitó su recolección y al contar con la infraestructura, personal, facilidad de acceso y obtención de esta alga (Departamento de La Libertad, litoral de Huanchaco) para la ejecución de este trabajo de investigación, fue factible realizarlo y comprobar su efecto antibacteriano.

Por todo lo mencionado anteriormente, se formuló el siguiente problema:

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Tiene efecto antibacteriano el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* en diferentes concentraciones, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

### **1.2.2. Problemas específicos**

**PE1:** ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% o el de 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

**PE2:** ¿Quién tiene mayor efecto antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% o el de 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

**PE3:** ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% o el de 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

**PE4:** ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

**PE5:** ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

**PE6:** ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

### **1.3. Formulación de objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar los niveles de efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* de diferentes concentraciones, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

**OE1:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**OE2:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**OE3:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% y 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**OE4:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**OE5:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% y Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**OE6:** Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% y Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



#### **1.4. Justificación de la investigación**

Este estudio se justificó por su presente teórico al brindar datos estadístico del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ya que no hay estudios a nivel nacional que evidencien su actividad antimicrobiana y otras propiedades medicinales de la *Ulva fasciata* al ser escasas las investigaciones con productos marinos, sirviendo de ayuda a los odontólogos generales como especialista y comunidad en general en futuras investigaciones. Su elaboración reafirma la existencia de una metodología confiable y validada al lograr concretar con éxito los objetivos planteados tras el empleo de técnicas de procesamiento, instrumentos para el recojo de datos y su análisis, para cuando se quiera abordar este tipo de investigación.

Los resultados obtenidos son de gran importancia, al demostrar su potencial antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* (causante de la caries dental), servirá para que más adelante se realicen más estudios para encontrar su principio activo y a partir de ello se pueda elaborar productos como colutorios, pastas dentales u otros que ayuden al control y prevención de la caries, beneficiando a la población y ayudando a disminuir su prevalencia. Finalmente, el estudio fue viable de realizar debido a que fue posible la obtención del alga *Ulva fasciata* y las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, además que se contó con todas las facilidades para poder elaborar los extractos y enfrentarlos a las bacterias para su posterior resultado.

## Capítulo II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Khouloud B. et al.<sup>18</sup> (Egipto, 2022), en su estudio: Caracterización química y actividades biológicas del *ulván* extraído de *Ulva fasciata* (*Chlorophyta*); entre sus objetivos, fue demostrar su actividad antimicrobiana. Para evaluar la actividad antimicrobiana del *ulván* extraído contra 11 patógenos bacterianos (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC entre otros) se utilizó el método de difusión en agar, el patógeno probado precultivado se mezcló en medios de agar, se vertió en tres placas de Petri estériles y se dejó solidificar. Aproximadamente 100 µL de extracto de *ulván* se transfirieron a cada pocillo de 0,7 cm y se sometieron a incubación a 4 °C durante 2 h, y luego se incubaron a 37 °C durante 24–48 h. Los resultados de este estudio demuestran que el *ulván* extraído presentó una actividad antimicrobiana significativa contra patógenos humanos y de peces, así como contra bacterias antiincrustantes con concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de 8 µg/mL. Concluyendo que, el uso del *ulván* marino de *Ulva fasciata* tiene muchas actividades biológicas potenciales que podrían aplicarse en el campo biomédico, siendo uno de ellos el tratamiento antibacteriano.

Agbaje-Daniels, et al.<sup>19</sup> (Nigeria, 2020), en su estudio: Actividades antibacterianas de algas verdes seleccionadas de la costa de África occidental; tuvo por objetivo investigar su actividad antibacteriana, para ello se elaboraron extractos por maceración de 6 tipos de algas incluida la *Ulva fasciata*, usando diclorometano / metanol (DCM / MeOH), cloroformo / metanol (CHL / MeOH) 90% (v / v), etanol y éter dietílico como solventes; y las enfrentaron contra algunas bacterias patógenos incluyendo bacterias Gram-positivas como *S. aureus* ATCC 25922 (Sa I,II,III) entre otros y bacterias Gram-negativas como *E. coli* ATCC 25923 (Ec IV) entre otros, mediante un método de difusión de disco. El resultado mostró que todas las algas seleccionadas tenían actividad antibacteriana contra al menos uno de los organismos de prueba; el extracto dietílico de *U. fasciata* (DEUF) mostró actividades inhibitorias contra cepas de *S. aureus* con zonas de inhibición de 9.33mm, frente a *Proteus mirabilis* de 13.67 mm, mientras que se observaron zonas de inhibición de 9.33 mm, 11.17 mm y 12 mm frente a Sa I, Sa II y Sa III. Concluyendo que, los extractos de

macroalgas verdes de la costa de África Occidental poseen compuestos antibacterianos candidatos para la elaboración de fármacos.

Mofeed J, et al.<sup>20</sup> (Egipto, 2019), en su estudio: Evaluación de la composición bioquímica y bioactividad de dos especies de *Ulva* (*Ulva lactuca* y *Ulva fasciata*); uno de sus objetivos fue comparar su actividad antibacteriana de los extractos de *Ulva lactuca* y *Ulva fasciata*; para ello, se elaboraron extractos usando como solvente 1 metanol: 1 hexano a concentraciones de 12.5, 25, 50, 100 µg/ml y las enfrentaron contra bacterias patógenas: *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. El resultado mostró que los extractos de ambas especies de *Ulva* inhibieron el crecimiento bacteriano pero a diferentes concentraciones, especialmente contra *Staphylococcus aureus*, donde la *Ulva fasciata* tuvo una inhibición del 70% y la *Ulva lactuca* del 100% a la misma concentración. En conclusión, ambas algas presentan valiosos compuestos bioactivos que pueden aplicarse en campos medicinales y farmacéuticos como antibacterianos.

Archana G, et al.<sup>21</sup> (India, 2019), en su trabajo de investigación: Estudio antibacteriano de las algas *Ulva fasciata*; tuvo por objetivo medir su efecto antibacteriano. Para ello, se realizaron extractos de metanol y etanol de algas *Ulva fasciata*, se realizó la prueba de difusión de discos contra cepas de bacterias Gram positivos y Gram negativos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*). Como resultado se obtuvo que el extracto etanólico de *Ulva fasciata* presentó un mayor halo de inhibición, el porcentaje de actividad antibacteriana observado fue la más alta, siendo más efectivas en las cepas bacterianas gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) que en las gram positivas. En conclusión, la *Ulva fasciata* presenta actividad antibacteriana y es importante realizar más estudios para descubrir su potencial uso en el diseño de drogas en el campo de Farmacogenómica.

Langeswaran K, et al.<sup>22</sup> (India, 2019), En su estudio: Eficacia antioxidante, antimicrobiana y anticancerígena de la macro alga marina *Ulva fasciata* Delile; uno de sus objetivos fue evaluar su actividad antibacteriana. Para ello se realizaron extractos algales utilizando el metanol como solvente, para evaluar su potencial antimicrobiano se usó el método de difusión de disco enfrentándolo contra el cultivo bacteriano gram + (*Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*) y gram –

(*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*) y se dejaron durante 18 a 37°C para la incubación. Como resultado se obtuvo que, el extracto metanólico de *Ulva fasciata* en los niveles de dosis de 50, 100 y 150 µg controlaron el crecimiento de todos los organismos bacterianos gram +, gram –, evaluándose que este extracto tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de los organismos bacterianos. En conclusión, el extracto metanólico de *Ulva fasciata* es un destacado contendiente antimicrobiano.

Girão Y, et al.<sup>23</sup> (Brasil, 2019), en su estudio: Pruebas bioguiadas para la detección de actividad antimicrobiana y antibiofilm en sustancias extraídas de algas marinas en la costa de Ceará (Brasil); entre sus objetivos estuvo investigar la bioactividad del extractos de *Ulva fasciata* frente a bacterias del género *Enterococcus* con perfil de multiresistencia a antimicrobianos y su acción inhibitoria sobre la formación de biofilm y actividad antibacteriana. Para ello, Fueron probados los extractos acetónico, metanólico y acuoso de la *Ulva fasciata* (alga verde) a concentraciones de 100 µg/mL, 300 µg/mL, 500 µg/mL y 1000 µg/mL frente a 44 estirpes bacterianas del género *Enterococcus* utilizando el método de microdilución en caldo BHI (Brain Heart Infusion) en microplacas de 96 pozos, en seguida las microplacas fueron incubadas a 35 °C por 24 horas. Dando como resultado que los extractos de *Ulva fasciata* en la concentración de 100 µg/mL (acetónico, metanólico y acuoso) fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano de las estirpes evaluadas. Concluyendo que la *Ulva fasciata* presenta un potencial como fuente de nuevas sustancias antimicrobianas.

Obando S.<sup>24</sup> (Arequipa, 2021), en su tesis: Eficacia del efecto bactericida y conservante del alga (*Ulva* spp) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aplicado en agua utilizada en fundo privado de la provincia de Camaná. Arequipa, 2020; entre sus objetivos estuvo determinar la eficacia del efecto bactericida del alga *Ulva* spp. Para ello, se prepararon extractos bioactivos del alga al 1%, 0.5%, y 0.25% frente a *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. a través del método de difusión de discos, se incubó dentro de los 15min posteriores a los discos a 35°C en un rango de tiempo de 18h. Dando como resultado la presencia de efecto bactericida del extracto bioactivo del alga *Ulva* spp. en sus tres concentraciones sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. evidenciando halos de 16.44mm y 15.32mm respectivamente. Concluyendo que el alga *Ulva* spp. si presentó efecto antibacteriano siendo factible

para continuar investigando y ampliar su efecto a otros campos de organismos patógeno como otras bacterias, virus y hongos.

Obando S.<sup>25</sup> (Arequipa, 2019), en su tesis: Efecto Bactericida y Conservante del Extracto de Alga (*Ulva Spp.*) Aplicado en Carne de Vacuno; entre sus objetivos estuvo determinación su efecto antibacteriano en carne de vacuno. Para ello, se elaboraron extractos bioactivos formulados en placas Petri (40ml de extracto para inmersión en 100g de carne) a concentraciones de 0.2%, 0.15%, y 0.1% en donde se sumergieron cortes de lomo veteadado de carne de vacuno por 1min y almacenados a 4°C para luego determinar el recuento de microorganismos (*Escherichia Coli* y *Salmonella spp.*) a días distintos (1, 5 y 10 días). Los resultados obtenidos mostraron que el efecto bactericida del extracto bioactivo de *Ulva spp.* fue óptimo en sus tres concentraciones dado que los resultados de recuento al primer día, al quinto día y al décimo día fueron de ausencia, diferente al recuento de *E.coli* en carne sin extracto donde al día quinto se observó un valor de 3ufc *E.coli/g* y al día 10 el valor fue de 10ufc de *E.coli/g*. Concluyendo que el efecto bactericida de las algas se sitúa como una alternativa de solución en la industria alimentaria gracias a sus agentes bioactivos óptimos para resolver problemas en la industria.

Cavero M, et al.<sup>26</sup> (Lima, 2018), en su tesis: Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de las algas marinas sobre cepas de *streptococcus mutans* ATCC 35668; entre sus objetivos estuvo evaluar in vitro el efecto antibacteriano de cuatro extractos metanoicos de *Macrocystis pyrifera*, *Lessonia trabeculata*, *Lessonia nigrescens* y *Chondracanthus chamissoi*. Para ello se realizaron 6 pruebas por cada extracto enfrentándolas a *Streptococcus mutans* utilizando el Método de difusión en pozo de Kirby-Bauer así como la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) las mismas que fueron evaluadas mediante el método de microdilución. Como resultados se obtuvo que el mayor efecto antibacteriano lo presentaron los extractos metanólicos de *Lessonia trabeculata* y *Macrocystis pyrifera* sobre cepas de *Streptococcus mutans*, con halos de inhibición de 18.1 mm + 0.75 mm y 12.25 mm + 0.69 mm respectivamente. Concluyendo que los extractos agales si presentan efecto antibacteriano ante cepas bacterianas aunque con diferencias significativas entre ellos.

## 2.2 Bases teórico científicos

### Actividad cariogénica de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

#### Caries dental

Definida como una enfermedad crónica y dinámica llevada a cabo en los dientes junto a depósitos microbianos y los fluidos de la formación de la placa, dando lugar a la desmineralización de las estructuras del diente, se puede generar por causas ambientales, sociales, económicas, culturales y biológicas; el estilo de vida llevada por cada uno de los individuos delimita su formación y su desarrollo.<sup>27</sup>

La OMS define a la caries como una enfermedad infecciosa que se caracteriza por la destrucción por desmineralización de los tejidos calcificados del diente, está estimulada por los ácidos de los microorganismos que conforman la placa, iniciada por una lesión muy pequeña, puede empezar por una mancha blanca (desmineralización) en el diente, el cual se puede hallar escondido en zonas interdentes o en las fisuras lo que en ocasiones hace más difícil su rápido diagnóstico, al debilitarse el esmalte gracias a ácidos diluidos puede formarse una cavidad que se va extendiendo hasta llegar a la dentina del diente causando su destrucción progresivamente hasta poder llegar a la pulpa.<sup>28</sup>

Si la caries dental no es tratada a tiempo, su cavidad se volverá cada vez más grande, acercándose a la pulpa causando dolor e inflamación, pudiendo llegar a la necrosis o pérdida de vitalidad; pero también puede ser cíclico su proceso, porque se puede alternar entre periodos de desmineralización y los periodos de remineralización, pudiendo ser posible su prevención y reparación.<sup>29</sup>

#### *Streptococcus mutans*

Su hábitat natural es la cavidad oral humana, más específicamente la placa dental, una biopelícula de múltiples especies formada en superficies duras del diente. Se ha aceptado en gran medida que el potencial cariogénico del *Streptococcus mutans* reside en tres atributos principales:

- La capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa que ayudan en la colonización permanente de superficies duras y en el desarrollo de la matriz polimérica extracelular in situ.

- La capacidad de transportar y metabolizar una amplia gama de carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad)
- La capacidad de prosperar en condiciones de estrés ambiental, particularmente pH bajo (acidez).<sup>30</sup>

El *Streptococcus mutans* es una de las bacterias que se encuentra permanentemente en la boca una vez erupcionado los dientes, ya que esta bacteria para desarrollarse requiere de un tejido duro.<sup>3,4</sup> Según muchos estudios, informan que la principal fuente para la adquisición y la transmisión del *Streptococcus mutans* en los niños es por la saliva de sus madres, ya que se encontraron tanto en las bacterias de los niños como en las bacterias de las madres patrones idénticos de ADN cromosomal.<sup>3</sup>

Como patógeno, el *Streptococcus mutans* también está implicado en la endocarditis bacteriana subaguda, una inflamación de las válvulas cardíacas que pone en peligro la vida, mientras que un subconjunto de cepas se ha relacionado con otras patologías extraorales, como micro hemorragias cerebrales, nefropatía por IgA y aterosclerosis.<sup>30</sup>

### **Actividad cariogénica del *Streptococcus mutans***

Si bien el *Streptococcus mutans* no actúa solo en el desarrollo de caries dental, varios estudios han demostrado de manera convincente que este puede alterar el medio ambiente local formando un medio rico en exopolisacáridos (EPS) y de pH bajo, creando así un nicho favorable para que prosperen otras especies acidógenas y acidúricas.<sup>30</sup>

Al haber dentro de la cavidad oral un desequilibrio en su ecosistema, puede producir caries dental haciendo que su flora bacteriana normal se transforme en patógena, siendo los *Streptococcus mutans* los principales microorganismos asociados con mayor frecuencia a esta.<sup>3</sup>

En el complejo microbioma oral, el *Streptococcus mutans* no siempre es la especie más numerosa; muchos organismos son igualmente acidógenos y acidúricos, sin embargo, el *Streptococcus mutans* es un importante productor de matriz y puede modular rápidamente la formación de biopelículas cariogénicas cuando están presentes la sacarosa y el almidón en la dieta, la sacarosa sirve como sustrato,

mientras que los hidrolizados de almidón actúan como aceptores de la síntesis de EPS (glucanos y fructanos) por las glucosil y fructosiltransferasas de *Streptococcus mutans*.<sup>31</sup>

Los azúcares son fermentados por *Streptococcus mutans* y otros organismos acidógenos incrustados en la matriz, lo que facilita la formación de microambientes altamente ácidos. Los nichos de pH bajo inducen la síntesis de EPS, mientras que los organismos cariogénicos como *Streptococcus mutans* prosperan, a medida que el estrés ácido ambiental aumenta aún más, la diversidad microbiana se reduce a favor de una microbiota acidogénica y altamente tolerante a los ácidos, en consecuencia, la acidez local asegura la acumulación continua de biopelículas y la disolución ácida del esmalte dental adyacente, lo que conduce a la aparición de caries dental.<sup>31</sup>

### **Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata***

#### **Macroalga**

También conocidas como algas marinas, se diferencian de otras plantas, en que carecen de raíces, brotes frondosos, flores y tejidos vasculares. Según las diferencias en la pigmentación, las macroalgas incluyen tres filos diferentes: la *Chlorophyta* o algas verdes, *Phaeophyta* o algas pardas y la *Rhodophyta*, o algas rojas.<sup>32</sup>

En los últimos años, las macroalgas han adquirido una importancia significativa como una nueva fuente prometedora de nuevos compuestos bioactivos teniendo una amplia gama de actividades biológicas, incluidos los compuestos antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes y antimicrobianos que pueden usarse para el desarrollo de fármacos.<sup>32</sup>

En el Perú, se han reportado especies de macroalgas con capacidad antibacteriana como la *Rhodophyta* en su especie *Polysiphonia paniculata* y la *Chlorophyta* en su especie *Enteromorpha intestinalis*.<sup>33</sup>

#### ***Ulva fasciata***

La *Ulva fasciata*, una alga verde (División: *Chlorophyta*; Clase: *Ulvophyceae*; Orden: *Ulvales*), perteneciente a la familia *Ulvaceae*, comúnmente conocida como “lechuga de mar”.<sup>34</sup> En Perú se puede encontrar en todo el litoral peruano, esto implica que se ubica en el departamento de La Libertad, provincia de Trujillo, en



playas como Huanchaco y Salaverry. La especie se propaga en mayor cantidad a fines del verano y principios del otoño (septiembre), además, al tolerar salinidades bajas también se pueden encontrar en estuarios y en zonas donde hay aportes nitrogenados, por la que se le denomina una especie gregaria.<sup>35,36</sup>

Son aplanadas, altamente ramificadas desde su base, de espesor uniforme y con ramificaciones de longitudes similares. El movimiento del agua puede variar la forma de sus talos. Estas macroalgas alcanzan aproximadamente 15 cm de altura cuando se adhieren al sustrato, rocas u otros objetos sólidos. En lugares más tranquilos se han hallado talos de hasta 1 m de altura y 30 cm a 50 cm de ancho. Se extiende desde la parte más baja de la zona medial hasta los metros superiores de la marea submarina, crece en las rocas en las zonas intermareal hasta 4 m o 5 m de profundidad, muy poco hasta 9 m.<sup>37</sup>

### **Compuestos bioactivos de la *Ulva fasciata***

Al aislar compuestos químicos de las algas marinas, han descubierto la capacidad que estas tienen para producir metabolitos secundarios, diferentes a los encontrados en las plantas terrestres. La producción de los compuestos de las algas puede variar ya sea por la especie, la madurez, el hábitat, y por la influencia ejercida por los factores ambientales y geográficos sobre ellos.<sup>32</sup>

Hay estudios que demuestran el hallazgo de fitoquímicos encontrados en la *Ulva fasciata* encargados de su actividad antimicrobiana como:

#### **Terpenoides:**

Constituyen la clase más grande de productos naturales derivados de unidades de isopreno (C5) unidas de la cabeza a la cola o de la cola a la cabeza, entre otras posibilidades. Se clasifican como hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triterpenos (C30), tetraterpenos (C40) y politerpenos (>C40). La mayoría de los terpenoides son capaces de inhibir dos procesos cruciales que son esenciales para la supervivencia microbiana, esto incluye la absorción de oxígeno y la fosforilación oxidativa. Por lo tanto, su interacción con los terpenos conduce a la alteración de la respiración celular que más tarde causa el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa en el microbio.<sup>38</sup>

**Taninos:**

Metabolitos secundarios derivados de plantas que pueden ser esteres de ácido gálico o sus derivados unidos a una amplia variedad de poli oles, catequina o núcleos triterpenoides y de complejidad elevada (12-16 hidroxilos en 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 Da. Entre sus efectos benéficos, se encuentra el de la prevención y tratamiento de cáncer su efecto anti-cancerígeno involucra la inhibición/activación de diversos factores de transcripción y replicación, el aumento en proteínas de reparación del ADN, la síntesis de proteínas y biomoléculas proapoptóticas e inhibición del crecimiento tumoral.<sup>39</sup>

**Glucósidos cardíacos:**

Son metabolitos secundarios que están unidos a mono- u oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos, es decir que son metabolitos glicosilados, Estas moléculas están compuestas generalmente por una molécula (región aglicona) cuya estructura es esteroidea; actúa inhibiendo la actividad de la enzima ATPasaNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>dependiente, enzima necesaria para el transporte del sodio a través de las membranas celulares en las membranas celulares, que son especialmente abundantes en las células cardíacas, por lo que la ingesta de plantas con estos compuestos secundarios tiene efectos directos en el corazón; de allí su nombre.<sup>40</sup>

**Esteroides:**

Los esteroides (stereos=sólidos) son compuestos orgánicos derivados de los alcoholes, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en el reino animal y vegetal. Su esqueleto base presenta 17 átomos de carbono en un sistema de anillos tetracíclicos conocido como perhidrociclopentanofenantreno (gonano, esterano). La acción terapéutica de algunas hormonas esteroideas ha sido asociada a su interacción con receptores intracelulares, los cuales actúan como factores de transcripción en la regulación de la expresión genética.<sup>41</sup>

**Alcaloides:**

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico que tienen generalmente una estructura compleja con varios heterociclos. Los alcaloides

tienen masas moleculares que varían entre 100 y 900 (conifina  $C_8H_{17}N=127$ , vincristina  $C_{46}H_{56}N_4O_{10}=824$ ); sus efectos inhibitorios del crecimiento de microorganismos están dados por su capacidad de intercalarse con el ADN, detener la síntesis de proteínas, inducir la apoptosis e inhibir enzimas del metabolismo de carohidratos.<sup>42</sup>

### **Flavonoides:**

Se conoce a un gran número de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, la mayoría con estructura de fenil-benzo- $\gamma$ -pirona (o fenil- $\gamma$ -cromona), productos del metabolismo secundario vegetal, La estructura química básica de los flavonoides consiste en un esqueleto carbonado C6-C3-C6, donde los componentes C6 son anillos aromáticos unidos por tres átomos de carbono que pueden formar o no un tercer anillo pirano o pirona (anillos A-C).<sup>43</sup> En cuanto a su acción antibacteriana, estos pueden afectar el crecimiento y el metabolismo de las bacterias, teniendo un efecto activador o inhibidor sobre el crecimiento microbiano de acuerdo con su constitución y concentración.<sup>34</sup>

### **Actividad antibacteriana del alga *Ulva fasciata***

Se ha informado que las algas marinas actúan como inhibidores de la fosforilación oxidativa y la lisis celular del factor (bacteria) gracias a la participación en conjunto de su compuestos fitoquímicos, debido a su capacidad de unirse a proteínas bacterianas como las enzimas y las de las membranas celulares, dañando la pared y la membrana de permeabilidad de la bacteria.<sup>32</sup>

### **Gluconato de clorhexidina al 0.12%**

Sustancia utilizada como control positivo dentro de este estudio. El Gluconato de clorhexidina es un colutorio muy potente que se puede presentar en varias concentraciones, es un antiséptico de amplio espectro, baja toxicidad, tiene afinidad de adhesión a piel y mucosas; además, es uno de los colutorios que tienen mayor sustentividad (se unen a los tejidos duros y blandos liberándose lentamente en un periodo de 24 horas, más activo de 8 a 12 horas y a las 24 horas sigue liberándose pero en concentraciones menores). Puede dejar un sabor desagradable en la boca

además de que su uso prolongado puede causar pigmentaciones en los dientes. Su acción antimicrobiana muchas veces depende del tipo de microorganismo, el espectro antimicrobiano de la clorhexidina incluye bacterias Gram +, Gram - y algunos hongos. Su mecanismo de acción consiste en provocar cambios en la permeabilidad de estos al causar daños en su membrana e inhibir el oxígeno por lo cual el ATP disminuye, causando la muerte celular. Cuando su concentración es baja, causa pérdida de elementos citoplasmáticos de bajo peso molecular, pero cuando su concentración es elevada, determina la coagulación del citoplasma; además, frente a las bacterias Gram - a niveles bajos es bacteriostático, y a niveles altos es bactericida.<sup>44</sup>

### 2.3 Definición de términos básicos

**Antibacteriano:** Capacidad que tienen algunas sustancias para eliminar agentes bacterianos, la inhibición de su crecimiento o su proliferación.<sup>45</sup>

**Bacterias:** Microorganismo capaces de producir enfermedades infecciosas.<sup>45</sup>

**Caries dental:** Destrucción localizada de tejidos duros.<sup>3</sup>

**Desmineralización:** Disminución o pérdida de una cantidad anormal de elementos minerales, como potasio, calcio, etcétera.<sup>27</sup>

**Fitoquímicos:** Son compuestos químicos producidas por las plantas.<sup>32</sup>

**Macroalga:** También conocidas como algas marinas, son características conspicuas y dominantes en los ecosistemas marinos.<sup>32</sup>

**Metabolitos:** Conjunto de reacciones químicas que efectúan las células de los seres vivos con el fin de sintetizar o degradar sustancias.<sup>34</sup>

**Resistencia bacteriana:** Es la capacidad del microorganismo para adaptarse rápidamente a unas nuevas condiciones medioambientales.<sup>45</sup>

***Streptococcus mutans:*** Es una de las bacterias que se encuentra permanentemente en la boca e iniciadora de la caries dental.<sup>4</sup>

## 2.4 Formulación de hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis general

El extracto hidroetanólico de la *Ulva fasciata* en diferentes concentraciones tienen diferencias significativas en sus efectos sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### 2.4.2 Hipótesis específicas

**HE1:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**HE2:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**HE3:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**HE4:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**HE5:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**HE6:** El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% es mayor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## 2.5 Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Item	Instrumento	Escala de medición
Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Es una sustancia concentrada formada por los compuestos bioactivos de la alga <i>Ulva fasciata</i> cuyo solvente es el etanol de 70°.	Sustancia que se obtuvo a partir de un protocolo de experimentación que consistió en la recolección de la <i>Ulva fasciata</i> y posteriormente la preparación de la muestra algal siendo el etanol de 70° el solvente empleado y a partir de esta se elaboraron los extractos hidroetanólicos a concentraciones de 25%, 50% y 75% para su respectiva comprobación y comparación de su actividad antibacteriana sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	-Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% -Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% -Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75%	Niveles de concentración	Obtención del extracto: -Selección y -Lavado y desinfección -Secado -Pulverización -Almacenamiento -Preparación de los extracto hidroetanólicos	-Fracos rotulados	No aplica
Actividad cariogénica de las cepas de <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175	Definida como el efecto capaz de inhibir el crecimiento y proliferación de los microorganismos.	Es el efecto antibacteriano del extractos hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> la cual se determinó mediante los halos de inhibición frente a las cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, obtenidas a partir de la incubación de las placas Petri inoculadas y enfrentadas a discos embebidas en los diferentes extractos a 37° C durante 24 horas, para su posterior lectura de los resultados.	Susceptibilidad	Halo de inhibición en mm	Clasificación de actividad cariogénica: Alto : $\geq 16$ Medio: 11- 15 Bajo: $\leq 10$	-Vernier digital  -Formato de recolección de datos	De razón

## Capítulo III: METODOLOGÍA

### 3.1 Tipo de investigación

- **Según su finalidad del estudio:** fue una investigación aplicada, porque pretendió dar respuesta a los problemas planteados, consolidando conocimientos previos para su posterior aplicación.<sup>46</sup>
- **Por su profundidad:** fue explicativa porque implicó realizar una serie de acciones para luego mediante la observación explicar porque ocurre un fenómeno determinado y en qué condiciones se manifiesta; así mismo, fue experimental porque buscó medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente, así mismo, el investigador intervino en manipulación de las variables.<sup>47</sup>
- **Según el enfoque:** fue cuantitativa, porque implica recolectar datos fundamentados en la medición, así mismo, debido a que los datos son producto de mediciones, se representan mediante números y se deben analizar con métodos estadísticos para confirmar y predecir fenómenos investigados, buscando regularidades y relaciones causales entre elementos con el fin de demostrar las teorías.<sup>47</sup>

### 3.2 Método de Investigación

- **Deductivo:** Porque permitió iniciar el estudio a partir de hipótesis planteadas surgidas de información previa y asumidas como verdaderas, para obtener conclusiones tras su comprobación; es decir, parte de lo general a lo particular.<sup>48</sup>

### 3.3 Diseño de investigación

- Según la intervención del investigador: Experimental.
- Según la planificación de la toma de datos: Prospectivo.
- Según el número de ocasiones en que se mide la variable: Transversal.
- Según el número de variables de interés: Analítico.

GEO <sub>1</sub>	X	O <sub>2</sub>
GCO <sub>1</sub>	—	O <sub>2</sub>

### **Leyenda:**

- **GEO<sub>1</sub>**: Grupo experimental de placas Petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 asignadas al azar, con observación antes de la aplicación del tratamiento con extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata* a concentraciones de 25%, 50% y 75%.
- **GCO<sub>1</sub>**: Grupo control de placas Petri inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 asignadas al azar, con observación antes de la aplicación del Gluconato de clorhexidina al 0.12% y etanol a 70°
- **X**: Tratamiento con extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata* a concentraciones de 25%, 50% y 75%.
- **—**: Ausencia de tratamiento con extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata* a concentraciones de 25%, 50% y 75%.
- **O<sub>2</sub>**: Observación del efecto antibacteriano después de aplicado el tratamiento con extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata* a concentraciones de 25%, 50% y 75%.
- **O<sub>2</sub>**: Observación del efecto antibacteriano después de aplicado el Gluconato de clorhexidina al 0.12% y etanol a 70°

### **3.4 Población, muestra y muestreo**

- La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- La unidad de análisis estuvo constituida por una placa Petri sembrada con 100 µl de suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### **Criterios de inclusión**

- Placas Petri sembradas con Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 previamente identificadas fenotípicamente por un método automatizado Microscan.

#### **Criterios de exclusión**

- Placas Petri con fracturas al momento de desempacar



- Placas Petri con daño colateral.
- Placas Petri sembradas con Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que hayan sufrido contaminación.

### **Muestra**

- Para determinar el tamaño de la muestra, por ser experimental se empleó la fórmula de comparación de medias

$$n = 2 \left( Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 * (DE)^2 / (d^2)$$

### **Dónde:**

**n:** tamaño de muestra para el grupo de estudio.

**$\alpha$ :** probabilidad de cometer error tipo I.

**$\beta$ :** probabilidad de cometer error tipo II.

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

**DE:** desviación estándar.

**d:** diferencia entre promedios para rechazar igualdad de medias.

### **Requerimientos:**

\* Confianza al 98% ( $\alpha=0.02$ ,  $Z=2.33$ ).

\* Potencia en la prueba del 80% ( $\beta=0.20$ ,  $Z=0.84$ )

\* DE: desviación estándar; d: diferencia de medias ( $DE/d=0.7$ ).

$$n = 2(2.33 + 0.84)^2(0.7)^2$$

$$n = 9.8 \text{ (Redondeo)}$$

$$n = 10.$$

Por lo tanto la muestra será de 10 repeticiones por cada grupo experimental.

### 3.5 Técnicas e instrumentos de recojo de datos

**Técnica:** Observación.

#### **Instrumento de recolección de datos**

Para recoger los resultados de las concentraciones de los extractos hidroetanólicos de *Ulva fasciata* según su porcentaje (25%, 50%, 75%), se emplearon frascos rotulados de color ámbar.

El instrumento usado para medir el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre la actividad cariogénica del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en este estudio fue un Vernier: el cual es un instrumento diseñado para medir longitudes y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO/IEC 17025, de marca CONTROL COMPANY, Numero de Modelo 3415.

Asimismo, se elaboró un formato de recolección de datos usada para el estudio en la cual se colocaron los halos de inhibición bacteriana obtenidas. (Anexo 1)

### 3.6 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

#### **Recolección e identificación taxonómica de la especie vegetal**

Se recolectaron 2.5 kg de la macroalga *Ulva fasciata* de la playa de Huanchaco, provincia de Trujillo, región La Libertad, durante el mes de junio del año 2019.

Un ejemplar completo de la especie algal se llevó al Instituto del mar del Perú (IMAPRE) para su identificación taxonómica. (Anexo 6)

#### **Preparación de la muestra algal.<sup>49</sup>**

##### **Selección:**

Las macroalgas (*Ulva fasciata*) recolectadas se transportaron al laboratorio de farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional

de Trujillo donde se seleccionaron teniendo en cuenta que no haya otra especie mezclada junto a ella.

**Lavado y desinfección:**

Se lavaron las macroalgas con agua destilada para eliminar los posibles organismos epífitos y se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%.

**Secado:**

Las macroalgas (*Ulva fasciata*) se colocaron en papel Kraft, y se llevaron a secar en estufa de circulación de aire por convección forzada a 40 °C por 48 horas.

**Pulverización:**

Las macroalgas una vez secas se pulverizaron con ayuda de un molino.

**Almacenamiento:**

El polvo de las macroalgas se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha hasta su posterior uso.

**Preparación del extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata*.<sup>49</sup>**

Se pesaron 220 g de polvo seco de la macroalga, luego se colocó en un balón de vidrio de 1 litro de capacidad añadiéndole 500 ml de etanol-agua (7:3), se mezclaron bien y se llevaron a reflujo por 4 horas. Transcurrido el tiempo, se llevó a filtrar el extracto hidroetanólico al vacío con papel de filtro Whatman N° 1. Posteriormente, el extracto hidroetanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener extracto blando. Luego esto se llevó a secar a la estufa de circulación de aire a 40 °C hasta obtener el extracto seco. Al finalizar el proceso se pesó el residuo seco de extracción (10 g), a partir de este, se prepararon las concentraciones de 25% (250 mg/mL), 50% (500 mg/mL), 75% (750 mg/mL) disueltas en etanol-agua (7:3) respectivamente. Finalmente, los extractos etanólicos de *Ulva fasciata* se guardaron en frascos de vidrio

de color ámbar rotulados según porcentajes y en refrigeración (4°C) hasta su posterior utilización.

**Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.**

**Obtención de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue obtenida del laboratorios Gen Lab del Perú S.A.C. ubicada en el distrito de Lince del departamento de Lima, a través de un servicio de encomiendas a la ciudad de Trujillo, directamente al investigador. Posteriormente fue llevada al laboratorio de microbiología de la Escuela de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo para su posterior uso.

**Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

La reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizó a partir de un cultivo liofilizado. Para lo cual se sembró el cultivo liofilizado en un balón de 50 mL conteniendo 25 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI), luego se incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia y con el método de la vela.

Para verificar pureza se sembró por estría en Agar TSA e incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración gram. A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó en refrigeración hasta su posterior empleo.

## Evaluación del efecto antibacteriano

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.<sup>50</sup>

- **Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C durante 24 horas.

Luego, a partir de 1 colonia de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland equivalente a  $1.5 \times 10^8$  ufc/mL.

- **Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes a la estandarización del inóculo, se tomó una alícuota de 100 µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.<sup>50</sup>

- **Preparación de los discos con el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata***

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 3 estériles, a los cuales se colocó 50 µl de cada una de las concentraciones de 25%, 50% y 75% del extracto hidroetanólico. Luego, con una pinza estéril, se colocaron los discos sobre las placas de Müeller Hinton inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.<sup>50</sup>

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo Etanol al 70%, y de cada uno de estos se colocaron 50 µl a discos de papel filtro Whatman N° 3 respectivamente.

- **Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 24 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

- **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación (24 horas) se examinaron cada placa, se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco para lo cual se utilizó un vernier digital, abarcando el diámetro del halo.<sup>50</sup> Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo.

### **Análisis de la información**

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS v. 22, y Microsoft Excel, considerando el procedimiento que a continuación se indica:

- Para determinar la diferencia del efecto antibacteriano de las distintas concentraciones de *Ulva fasciata*, sobre cepas *Streptococcus mutans* primero se empleó el supuesto de Normalidad de la distribución de valores, donde se concluyó que en general los grupos presentan una distribución normal (Shapiro-Wilk).
- Se aplicó el análisis de varianza ANOVA (datos normales) con su respectivo nivel de significancia 0.05 para comparar las varianzas entre las medias de los diferentes grupos.
- Para las comparaciones múltiples se utilizó el test de Duncan, para dar respuestas según cada objetivo.

### **3.7 Ética investigativa**

Este estudio se basó en el Código de Ética de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, no presentó problema alguno ya que no existe la participación de personas u animales, solo el uso de microorganismos y soluciones adquiridas por el investigador.<sup>51</sup>

- Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad: El estudio tuvo como prioridad el cuidado integral del hábitat del alga *Ulva fasciata* recolectada en el litoral trujillense, así mismo se evitó causar el mínimo daño

al medio ambiente disminuyendo los efectos adversos durante la ejecución del presente proyecto con el manejo óptimo y oportuno de los desechos bajo protocolos estandarizados.

- Protección de la persona: El investigador principal y su equipo de trabajo respetaron las normas de bioseguridad durante la ejecución del proyecto.
- Beneficencia y no maleficencia: Se consideró obtener beneficio positivo sin pasar por alto la vida y el bienestar de todos los participantes de este estudio al disminuir los posibles efectos adversos para no causar daño.
- Integridad científica: El investigador y equipo de trabajo evaluaron los beneficios, riesgos y daños sin encontrar contratiempos que impidan la ejecución del proyecto. De igual forma, los datos y fuentes empleados fueron válidos para el desarrollo del método científico.<sup>51</sup>

Además, también se basó en las consideraciones de bioseguridad con la manipulación y eliminación de desechos de los materiales de laboratorio dirigidos por un profesional microbiólogo como: al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121° C Y 1 Bar de presión para su inactivación en autoclave con la finalidad de desechar el material biológico contaminado (método físico de eliminación de microorganismos antes de ser eliminados como residuos biocontaminados) aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.<sup>52</sup>

## Capítulo IV: RESULTADOS

### 4.1 Presentación y análisis de resultados

#### Estadísticos descriptivos

**Tabla 1:** Estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

<i>Grupos</i>	<i>N</i>	<i>Diámetro (mm)</i>	
		<i>Media de inhibición antibacteriana</i>	<i>Desviación típica</i>
<i>Extracto hidroetanólico al 25%</i>	10	11.90	0.81
<i>Extracto hidroetanólico al 50%</i>	10	15.41	0.74
<i>Extracto hidroetanólico al 75%</i>	10	20.50	1.70
<i>Etanol de 70°</i>	10	8.24	0.43
<i>Gluconato de Clorhexidina al 0.12%</i>	10	15.96	0.55

*Fuente:* Datos propios obtenidos de medición.

#### Interpretación:

La tabla 1 que se refiere a los estadísticos descriptivos es el resultado del enfrentamiento llevado a cabo entre los extractos hidroetanolicos de *Ulva fasciata* al 25%, 50%, 75%, Gluconato de clorhexidina al 0.12% (control positivo) y el etanol de 70° (control negativo) frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 inoculadas en placas Petri, en ellas se colocaron discos de papel estéril embebidas de las sustancias ya mencionadas e incubadas con la técnica de microanaerobiosis a 37°C durante 24 horas para su posterior medición, realizado con un Vernier digital transcurrido el tiempo sugerido; para ello, las placas Petri fueron puestas bocabajo observándose una traslucidez alrededor de los discos de papel, indicativo de inhibición antibacteriana el cual se procedió a medir de un extremo al otro incluyendo



el diámetro del disco (6 mm) obteniendo una medida final por cada ensayo según cada grupo de experimentación y vaciado a una base de datos para su análisis estadístico. Esta tabla nos muestra el valor N que indica el número de ensayos (10 por cada grupo), en ella se puede observar al etanol de 70° (control negativo) quien obtuvo el menor resultado entre todos los grupos evaluados en cuanto a la inhibición de sus halos, presentando una media de inhibición antibacteriana de 8.24 mm con una desviación típica de 0.43, queriendo indicar que su mayor valor fue de 8.67 mm; el extracto hidroetanólico al 25% presentó una media de inhibición antibacteriana de 11.90 mm con una desviación típica de 0.81 mm, queriendo indicar que su mayor valor fue de 12.71 mm en cuanto a sus halos de inhibición, así mismo fue el que menos inhibición antibacteriana presentó respecto a las otras dos concentraciones de extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*; el extracto hidroetanólico al 50% presentó una media de inhibición antibacteriana de 15.41 mm con una desviación típica de 0.74 mm, queriendo indicar que su mayor valor fue de 16.15 mm en cuanto a sus halos de inhibición; así mismo, fue el que presentó una similitud al resultado del Gluconato de clorhexidina al 0.12% (control positivo), quien obtuvo una media de inhibición antibacteriana de 15.96 mm con una desviación típica de 0.55 mm indicando que su mayor valor fue de 16.51mm en cuanto a sus halos de inhibición; finalmente, el extracto hidroetanólico al 75% obtuvo el mayor resultado entre todos los grupos evaluados, presentó una media de inhibición antibacteriana de 20.50 mm con una desviación típica de 1.70 mm, queriendo indicar que su mayor valor fue de 22.20 mm en cuanto a sus halos de inhibición.

#### **4.2. Prueba de hipótesis**

Para determinar la diferencia del efecto antibacteriano de las distintas concentraciones de *Ulva fasciata*, sobre cepas *Streptococcus mutans*, se realizó la prueba de normalidad. Para la prueba de normalidad de la distribución de valores se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, usada para contrastar la normalidad de una muestra menor a 50 datos por grupo. Permitiendo constatar si los resultados de las muestras presentan una distribución normal, necesaria para el procedimiento estadístico, para los análisis de datos obtenidos, así como también para la contrastación de hipótesis.

Este método consiste en ordenar las muestras de menor a mayor resultado, logrando así obtener el valor muestral.<sup>53</sup>

### PRUEBA DE NORMALIDAD

**Tabla 2:** Valores de Shapiro-Wilk de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*.

Repeticiones	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)				
	Extracto hidroetanólico al 25%	Extracto hidroetanólico al 50%	Extracto hidroetanólico al 75%	Etanol 70°	Gluconato de clorhexidina al 0.12%
1	11.7	14.9	18.9	8.1	15.1
2	12.4	15.1	19.5	9.1	16.2
3	12.3	16	21.3	8	16.6
4	10.6	15.4	20.3	8.2	15.5
5	12.1	14.7	21.7	8.9	15.2
6	12.7	15.4	21	7.7	16.3
7	11.9	16	19.2	8.1	16.4
8	10.9	14.2	21.4	8	15.8
9	11.2	16.8	17.9	8	15.9
10	13.2	15.6	23.8	8.3	16.6
<b>Promedio</b>	11.90	15.41	20.50	8.24	15.96
<b>p</b>	0.955	0.985	0.880	0.042	0.344
<b>Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	Normalidad	Normalidad	Normalidad	No Normalidad	Normalidad

#### Interpretación:

Al tener menos de 50 datos por cada grupo, se usó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos. De la tabla 2, se puede observar que existe la prevalencia de los grupos de datos con una significancia mayor a 0.05 ( $p > 0.05$ ), es decir que los datos presentan una distribución normal provenientes del extracto hidroetanólico al 25%, 50%, 75% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12%, siendo los datos del etanol de 70° los únicos que no presentaron normalidad al tener una significancia menor a 0.05. Con lo cual se pudo concluir, que en general los grupos presentaron una distribución normal, para la aplicación de pruebas paramétricas.

### Formulación de hipótesis

H<sub>0</sub>: Los datos provienen de una distribución normal

H<sub>a</sub>: Los datos no provienen de una distribución normal

Nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

Aplicación de estadística: Shapiro-Wilk

### Regla de decisión:

$p(\text{sig}^*) > 0.05$ : Se acepta la hipótesis nula H<sub>0</sub>

$p(\text{sig}^*) < 0.05$ : Se rechaza la hipótesis nula H<sub>0</sub>, es decir se acepta la hipótesis alterna H<sub>a</sub>.

Mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Butler Christopher, Statistics in Linguistics, pag.214), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) = p > 0.05$  (Tabla 2). Se acepta la hipótesis nula H<sub>0</sub> y se rechaza la hipótesis alterna H<sub>a</sub>. Es decir, los datos provienen de una distribución normal.

**Tabla 3:** Valor de la significancia de ANOVA de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*.

Grupos	N	Diámetro (mm)		Sig. (p)*
		Media de inhibición antibacteriana	Desviación típica	
Extracto hidroetanólico al 25%	10	11.90	0.81	
Extracto hidroetanólico al 50%	10	15.41	0.74	
Extracto hidroetanólico al 75%	10	20.50	1.70	0.000
Etanol de 70°	10	8.24	0.43	
Gluconato de clorhexidina al 0.12%	10	15.96	0.55	

**Fuente:** Datos propios obtenidos de medición.

p\*: prueba ANOVA, nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

**Interpretación:**

De la tabla 3, aplicada la prueba paramétrica ANOVA, se obtuvo ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadística entre los tratamientos. Es decir, si existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos evaluados.

**Formulación de hipótesis general**

$H_0$ : El extracto hidroetanólico de la *Ulva fasciata* en diferentes concentraciones no tienen diferencias significativas en sus efectos sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

$H_a$ : El extracto hidroetanólico de la *Ulva fasciata* en diferentes concentraciones tienen diferencias significativas en sus efectos sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** ANOVA

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > 0.05$ : Se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p(\text{sig}^*) < 0.05$ : Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ .

Mediante la prueba paramétrica ANOVA (Castor Guisande, Tratamiento de datos, pag.376), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) = 0.000 < 0.05$ . (Tabla 3). Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ . Indicando que, el extracto hidroetanólico de la *Ulva fasciata* en diferentes concentraciones tienen diferencias significativas en sus efectos sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Para las comparaciones múltiples se utilizó el test de Duncan, para dar respuestas según cada objetivo.

**Tabla 4:** Valor de las comparaciones múltiples del test de Duncan de las diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*.

**TEST DUNCAN**

<i>Grupos</i>	<i>N</i>	<i>Subconjunto para alfa =0.05 - (Test Duncan)</i>			
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>Etanol 70°</i>	10	8.24			
<i>Extracto hidroetanólico al 25%</i>	10		11.90		
<i>Extracto hidroetanólico al 50%</i>	10			15.41	
<i>Gluconato de clorhexidina 0.12%</i>	10			15.96	
<i>Extracto hidroetanólico al 75%</i>	10				20.50
<b>Sig.</b>		1.00	1.00	0.207	1.00

*Fuente:* Datos propios obtenidos de medición.  
Nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

**Interpretación:**

En la tabla 4, se observa que respecto al diámetro (mm), el etanol de 70° presentó el menor efecto antibacteriano con una media de inhibición antibacteriana de 8.24 mm, el extracto hidroetanólico al 25% una media de inhibición antibacteriana de 11.94 mm, el extracto hidroetanólico al 50% una media de inhibición antibacteriana de 15.41 mm, el Gluconato de clorhexidina al 0.12% una media de inhibición antibacteriana de 15.96 mm y el extracto hidroetanólico al 75% una media de inhibición antibacteriana de 20.50 mm, presentando el mayor efecto antibacteriano. En conclusión, los extracto hidroetanólicos al 25%, al 75% y etanol 70° si presentaron diferencia estadísticamente significativa; así mismo, los extractos hidroetanólicos al 50% y Clorhexidina 0.12% no presentaron diferencia estadísticamente significativa.

## **Formulación de hipótesis específicas**

### **HE1**

H<sub>0</sub>: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% no es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

H<sub>a</sub>: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$p(\text{sig}^*) \text{ vs } y_2 - y_3 = p(\text{sig}^*) \text{ vs } 11.90 - 15.41 = 1.00 < 3.51$

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula H<sub>0</sub>

$p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula H<sub>0</sub>, es decir se acepta la hipótesis alterna H<sub>a</sub>.

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula H<sub>0</sub>, es decir se acepta la hipótesis alterna H<sub>a</sub>; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; evidenciándose diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

### **HE2**

H<sub>0</sub>: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% no es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

H<sub>a</sub>: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$$p(\text{sig}^*) \text{ vs } y_2 - y_5 = p(\text{sig}^*) \text{ vs } 11.90 - 20.50 = 1.00 < 8.60$$

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ .

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ ; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; evidenciándose diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

### HE3

$H_0$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% no es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

$H_a$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$$p(\text{sig}^*) \text{ vs } y_3 - y_5 = p(\text{sig}^*) \text{ vs } 15.41 - 20.50 = 1.00 < 5.09$$

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ .

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p$  (sig\*)  $< y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ ; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; evidenciándose diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

#### **HE4**

$H_0$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% no es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

$H_a$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$p$  (sig\*) vs  $y_2 - y_4 = p$  (sig\*) vs  $11.90 - 15.96 = 1.00 < 4.06$

**Regla de decisión:**

$p$  (sig\*)  $> y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p$  (sig\*)  $< y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ .

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p$  (sig\*)  $< y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ ; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; evidenciándose diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.



## HE5

$H_0$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% no es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

$H_a$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$$p(\text{sig}^*) \text{ vs } y_3 - y_4 = p(\text{sig}^*) \text{ vs } 15.41 - 15.96 = 0.207 < 0.55$$

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula  $H_0$

$p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ .

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , es decir se acepta la hipótesis alterna  $H_a$ ; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; así mismo, según la prueba de Duncan, ambos grupos no presentan diferencia estadísticamente significativa al estar ubicados en la misma columna de la tabla tras haber ordenado los datos, así como el casi obtener el mismo resultado en su media de inhibición antibacteriana.

## HE6

$H_0$ : El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% no es mayor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

H<sub>a</sub>: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% es mayor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Nivel de significancia:**  $\alpha = 0.05$

**Aplicación de estadística:** Tests Duncan

$p(\text{sig}^*) \text{ vs } y_5 - y_4 = p(\text{sig}^*) \text{ vs } 20.50 - 15.96 = 1.00 < 4.54$

**Regla de decisión:**

$p(\text{sig}^*) > y_i - y_j$ : Se acepta la hipótesis nula H<sub>0</sub>

$p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ : Se rechaza la hipótesis nula H<sub>0</sub>, es decir se acepta la hipótesis alterna H<sub>a</sub>.

Mediante la prueba de Duncan (Patricia Yscapa, Pruebas o comparaciones de rangos múltiples, pag 20), se obtuvo un  $p(\text{sig}^*) < y_i - y_j$ . (Tabla 4). Se rechaza la hipótesis nula H<sub>0</sub>, es decir se acepta la hipótesis alterna H<sub>a</sub>; indicando que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% es mayor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; evidenciándose diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

### 4.3. Discusión de resultados

En la actualidad, hay numerosos estudios dirigidos a buscar nuevos compuestos con actividad antimicrobiana, tomadas de la naturaleza tras observar sus mecanismos de acción frente a diversos microorganismos, dentro de esos estudios se encuentran las algas marinas, que se han traducido como fuentes para obtener moléculas bioactivas.<sup>57</sup>

En este estudio experimental se comparó el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* a tres concentraciones (25%, 50% y 75%) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; demostrando en sus resultados la susceptibilidad de los *Streptococcus mutans* a la actividad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos de *Ulva fasciata* (mientras la concentración del extracto aumenta, mayores son sus halos de inhibición). De igual manera, el efecto

antibacteriano de las tres concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* fueron significativamente mayores que el etanol al 70%; así mismo, no hubo diferencia significativa en el efecto antibacteriano entre el extracto al 50% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12%. Dando a entender que la *Ulva fasciata* presentan algunos componentes como la lectina, el cual actuaría sobre determinados azúcares como ácidos murámicos, ácidos N-acetil-glucosamina, ácidos N-acetil-murámicos y ácidos muramildipéptidos que se encuentran en las membranas celulares de bacterias generando aglutinación de estas, dando a conocer su actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas.<sup>58</sup>

Al comparar el efecto antibacteriano de las tres concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*, se demostró que todas presentaron efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, observándose que la concentración al 75% tuvo una efectividad mayor. Este estudio es similar a los realizados por Mofeed J, et al.<sup>20</sup> y Langeswaran K, et al.<sup>22</sup> los cuales también demostraron el efecto antibacteriano de la *Ulva fasciata* con métodos similares a este estudio pero con otras cepas de microorganismos Gram positivos y otros solventes. Este efecto podría darse por la participación en conjunto de sus compuestos fitoquímicos como terpenoides, taninos, compuestos fenólicos y cumarinas debido a su capacidad de unirse a proteínas bacterianas como las enzimas y las de las membranas celulares, dañando la pared y la membrana de permeabilidad de la bacteria.<sup>32</sup>

Al realizar la comparación del efecto antibacteriano de las tres concentraciones del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, este estudio demostró que la concentración al 75% tiene mayor acción antibacteriana que el Gluconato de clorhexidina al 0.12%; así mismo, no hubo diferencia significativa en cuanto a la acción antibacteriana entre la concentración al 50% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12%, elegida como control positivo por su actividad antibacteriana de amplio espectro siendo activa frente a microorganismos (Gram+ y Gram-), hongos, dermatofitos y algunos virus.<sup>44</sup> Estos resultados pueden haberse dado debido a que la *Ulva fasciata* sintetiza compuestos bioactivos como alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides y saponinas, además de terpenoides, compuestos fenólicos y compuestos heterocíclicos que pueden tener potencia antibacteriana frente a microorganismos Gram positivos y

Gram negativos.<sup>34</sup> Abdel-Khaliq A, et al.<sup>17</sup> en su estudio demostró la actividad antimicrobiana de la *Ulva fasciata* contra bacterias Gram positivas y Gram negativas entre ellas el *Streptococcus mutans*, logrando la inhibición del crecimiento de dicha bacteria; su actividad puede estar atribuida a los compuestos fenólicos (componentes químicos del alga) al afectar el crecimiento y metabolismo de las bacterias, teniendo un efecto activador o inhibidor sobre el crecimiento microbiano dependiendo de su constitución y concentración.<sup>34</sup>

Continuando con lo anterior, el estudio de Archana G, et al.<sup>21</sup> obtuvo en sus resultados que la actividad antibacteriana de la *Ulva fasciata* fue menos efectiva en las cepas bacterianas Gram positivas (menores halo de inhibición) que en las Gram negativas; esto puede deberse a las variaciones en el material o metodología empleada (medios de cultivo, microorganismos empleados y la composición química de los extractos obtenidos a través de diferentes solventes) además de variaciones en la madurez del alga, su hábitat, y la influencia ejercida por factores ambientales y geográficos sobre ellas alterando su composición.<sup>32</sup>

Por otra parte, al comparar el efecto antibacteriano de las tres concentraciones de extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* y el etanol de 70° sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, se demostró que la *Ulva fasciata* tuvo mayor efecto antibacteriano en sus tres concentraciones en comparación con el etanol de 70° que actúa como solvente. Estos resultados pueden haberse dado debido a una de las características del solvente usado durante la preparar los extractos hidroetánicos de *Ulva fasciata*, que es extraer compuestos fitoquímicos como los compuestos fenólicos, responsables del efecto antibacteriano.<sup>34</sup>

Tomando como referencia la eficacia antibacteriana del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se deben realizar más estudios detallados en la identificación de compuestos bioactivos de la *Ulva fasciata* y su relación con la actividad antibacteriana para futuras aplicaciones de esta macroalga en el campo de la salud.<sup>17</sup>

## Capítulo V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

### 5.1 Conclusiones

- Se determinó que el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* si presentó efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el extracto de *Ulva fasciata* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el extracto de *Ulva fasciata* al 75% presentó mayor efecto antibacteriano.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% y 75% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el extracto de *Ulva fasciata* al 75% presentó mayor efecto antibacteriano.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 25% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el Gluconato de clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 50% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentaron similitud en el efecto antibacteriano.
- Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* al 75% y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el extracto de *Ulva fasciata* al 75% presentó mayor efecto antibacteriano.

## 5.2 Sugerencias

- Realizar más estudios con la alga *Ulva fasciata* cuya finalidad sea medir su efecto antibacteriano frente a otro tipo de microorganismos patógenos presentes en la cavidad bucal ya que en la actualidad no existen trabajos de investigación a nivel nacional que lo demuestre.
- Realizar estudios a profundidad del alga *Ulva fasciata* para determinar su composición fitoquímica que resulta de gran importancia al momento de desarrollar algún medicamento tanto para el área odontológica como para otras áreas.
- Realizar estudios de esta alga *Ulva fasciata* para evaluar su toxicidad y a partir de esta sea viable la elaboración de productos como enjuagues, dentífricos entre otros para el sector de salud.
- Se sugiere a las industrias farmacéuticas invertir más en investigación, destinadas a separar los principios activos de los extractos naturales con la finalidad de incluirlos en productos como dentífricos, colutorios entre otros producto dentales en beneficio de la sociedad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González A, González B, González E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutr. Hosp.* [Online]. 2013 [Citado 10 Noviembre 2018]; 28(4): 64-71. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28s4/08articulo08.pdf>
2. Palomer L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. *Rev Chil Pediatr.* [Online]. 2006 [Citado 19 Octubre 2018]; 77(1): 56-60. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-41062006000100009](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062006000100009)
3. Gamboa F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. *Universitas Odontológica.* [Online] 2014 [Citado 19 Octubre 2018]; 33(71): 65-73. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2312/231242326009.pdf>
4. Ojeda-Garcés J, Oviedo-García E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES odontol.* [Online]. 2013 [Citado 19 Octubre 2018]; 26(1). Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005)
5. Nuñez D, Garcí L. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas.* [Online]. 2010 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 9(2):156-166. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180414048004>
6. Cubero A, et al. Prevalencia de caries dental en escolares de educación infantil de una zona de salud con nivel socioeconómico bajo. *Rev Pediatr Aten Primaria.* [Online]. 2019 [Citado el 22 de Abril 2021]; 21 (82). Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1139-76322019000200007#B3](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322019000200007#B3)
7. Andina Agencia Peruana de Noticias. Caries dental afecta al 95% de peruanos, advierte Ministerio de Salud. [Online] 2008 [Citado 10 Noviembre 2018]. Disponible en: <https://andina.pe/agencia/noticia-caries-dental-afecta-al-95-peruanos-advierte-ministerio-salud-165574.aspx>
8. García-Vega L. Relación entre consumo de alimentos cariogénicos e higiene bucal con caries dental en escolares. *Kiru.* [Online]. 2012 [Citado 19 Octubre 2018]; 9(1): 34-38. Disponible en: [https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/1867/kiru\\_9%281%292012\\_garcia.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/1867/kiru_9%281%292012_garcia.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

9. Espinoza-Solano M, León-Manco R. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. *Rev. Estomatol. Herediana*. [Online]. 2015 [Citado 19 Octubre 2018]; 25(3): 187-193. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n3/a03v25n3.pdf>
10. Martins S, Álvarez E, Abanto J, Cabrera A, López R, Masoli C, et al. Epidemiología de la caries dental en América latina. *Revista de Odontopediatría Latinoamericana* [Online]. 2014 [Citado 19 Octubre 2018]; 4(2). Disponible en: <https://revistaodontopediatria.org/index.php/alop/issue/view/8/19>
11. Aldave S. Prevalencia de la caries dental en niños de 3 – 5 años de edad en la I. E. “Radiantes capullitos” distrito de Trujillo región La Libertad durante el año 2018. [Tesis para optar el título de cirujano dentista]. Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. [Online] 2018 [Citado 10 Noviembre 2018]. Disponible en: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/6021/PREVALENCIA\\_CARIES\\_DENTAL\\_ALDAVE\\_VASQUEZ\\_SANTOS\\_MARCIAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/6021/PREVALENCIA_CARIES_DENTAL_ALDAVE_VASQUEZ_SANTOS_MARCIAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
12. Basilio O, Gómez J, Satillán K. Experiencia de caries y sus factores de riesgo en niños de 2 a 5 años. *Revista Científico Estudiantil de las Ciencias Médicas de Cuba*. [Online] 2011 [Citado 10 Noviembre 2018]; 1(1). Disponible en: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/246/AO/4-experiencia%20de%20caries.html>
13. Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain C. Side effects of drugs on the oral cavity. *Elsevier*. [Online]. 2015 [Citado 19 Octubre 2018]; 144(3): 126-31. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-medicina-clinica-english-edition--462-articulo-side-effects-drugs-on-oral-S2387020615000467>
14. Medina-Solís C, Maupomé G, Pelcastre-Villafuerte B, Avila-Burgos L, Vallejos-Sánchez A, Casanova-Rosado A. Desigualdades socioeconómicas en salud bucal: caries dental en niños de seis a 12 años de edad. *Rev. invest. clín.* [Online]. 2006 [Citado el 22 de Abril 2021]; 58 (4): 296-304. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-83762006000400005](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762006000400005)
15. Jamile B, Somayyeh A, Nasrin R, Hosein A. Herbs in dentistry. *Elsevier*. [Online]. 2011 [Citado el 04 de Febrero 2023]; 61 (6): 287-96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020653920331713?via%3DiHub>



16. Ríos N, Medina G, Jiménez J, Yáñez C, García M, Di Bernardo M, et al. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas. *Rev. Perú. Biol.* [Online]. 2009 [Citado 19 Octubre 2018]; 16(1): 97-100. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v16n1/a12v16n1.pdf>
17. Abdel-Khaliq A, Hassan H, Rateb M, Hammouda O. Antimicrobial Activity of Three Ulva Species Collected from Some Egyptian Mediterranean Seashores. *International Journal of Engineering Research and General Science* [Online]. 2014 [Citado el 20 de Junio 2019]; 2(1). Disponible en: <http://www.ijergs.org/files/documents/ANTI-80.pdf>
18. Khoulood B, Mona I, Hala A, Nermeen E, Mostafa E. Chemical characterization and biological activities of ulvan extracted from *Ulva fasciata* (Chlorophyta). *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali.* [Online]. 2022 [Citado el 29 de Noviembre 2022]; 33 (1):829-41. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12210-022-01103-7#Sec28>
19. Agbaje-Daniels F, Adeleye A, Nwankwo D, Adeniyi B, Seku F, Beukes D. Antibacterial Activities of Selected Green Seaweeds from West African Coast. *EC Pharmacology and Toxicology* [Online]. 2020 [Citado el 23 de Abril 2020]; 8(4):84-92. Disponible en: <https://www.echronicon.com/ecpt/pdf/ECPT-07-00389.pdf>
20. Mofeed F, Naser A, Ali M. Evaluation of Biochemical composition and bioactivities of two *Ulva* species (*Ulva lactuca* and *Ulva fasciata*); a comparative study. *Bioscience Research* [Online]. 2019 [Citado el 23 de Abril 2020]; 16(4): 3801-3811. Disponible en: [https://www.isisn.org/BR16\(4\)2019/3801-3811-16\(4\)2019BR19-348.pdf](https://www.isisn.org/BR16(4)2019/3801-3811-16(4)2019BR19-348.pdf)
21. Archana G, Sumathy J. Antibacterial study of the seaweed *Ulva fasciata*. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* [Online]. 2019 [Citado el 23 de Abril 2020]; 13(1): 58-63. Disponible en: [http://abap.co.in/sites/default/files/Paper-7\\_28.pdf](http://abap.co.in/sites/default/files/Paper-7_28.pdf)
22. Langeswaran K, Santhosh S, Gavaskar S. Antioxidant, anti-microbial and anti-cancer effectiveness of marine macro alga *Ulva fasciata* Delile. *Biomedical Research* [Online]. 2019 [Citado el 26 de Abril 2020]; 30(4): 617-627. Disponible en: <https://www.alliedacademies.org/articles/antioxidant-antimicrobial-and-anticancer-effectiveness-of-marine-macroalga-ulva-fasciata-delile.pdf>
23. Girão Y, Torres M, Oliveira J, Teles F, Viana O, Pruebas bioguiadas para la detección de actividad antimicrobiana y antibiofilm en sustancias extraídas de algas

- marinas en la costa de Ceará (Brasil). *Higiene y Sanidad Ambiental*. [Online]. 2019 [Citado el 29 de Noviembre 2022]; 19(4):1791-797. Disponible en: [https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/bc5de4f205ddece\\_Hig.Sanid\\_.Ambient.19.%284%29.1791-1797.%282019%29.pdf](https://saludpublica.ugr.es/sites/dpto/spublica/public/inline-files/bc5de4f205ddece_Hig.Sanid_.Ambient.19.%284%29.1791-1797.%282019%29.pdf)
24. Obando S. Eficacia del efecto bactericida y conservante del alga (*Ulva spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella spp*. aplicado en agua utilizada en fundo privado de la provincia de Camaná. Arequipa, 2020 [Online]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2021 [Citado el 04 de Febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12920/10601/K4.2172.MG.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
25. Obando S. Efecto bactericida y conservante del extracto de alga (*Ulva Spp.*) aplicado en carne de vacuno. [Online]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2019 [Citado el 04 de Febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/8961?show=full>
26. Cavero-Tasayco M, Angeles-Bonelli G. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de las algas marinas sobre cepas de *Streptococcus mutans* [Online]. Lima: Univ Peru Cienc Apl UPC; 2018 [Citado el 04 de Febrero 2023]. Disponible en: [https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/624450/Cavero\\_TM.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/624450/Cavero_TM.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
27. Ramon R, Castañeda M, Corona M, Estrada G, Quinzán A. Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5 a 11 años. *Medisan*. [Online] 2016 [Citado 10 Noviembre 2018]; 20(5). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192016000500003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192016000500003)
28. Paneque T, Castillo H, Piquera Y, Infante M, Ramirez M. Relación entre factores de riesgos y caries dental. *Multimed. Revista Médica. Granma*. [Online] 2015 [Citado 10 Noviembre 2018]; 19(4). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2015/mul154h.pdf>
29. Catalá M, Cortés O. La caries dental: una enfermedad que se puede prevenir. *An Pediatr Contin*. [Online] 2014 [Citado 10 Noviembre 2018]; 12(3):147-51. Disponible en: [http://appswl.elsevier.es/watermark/ctl\\_servlet?\\_f=10&pident\\_articulo=90332727](http://appswl.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90332727)

- &pident\_usuario=0&pcontactid=&pident\_revista=51&ty=96&accion=L&origen=a  
pcontinuada&web=www.apcontinuada.com&lan=es&fichero=51v12n03a9033272  
7pdf001.pdf&anuncioPdf=ERROR\_publi\_pdf
30. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* [Online]. 2019 [Citado el 20 de Setiembre 2019]; 7(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615571/>
  31. Klein M, Hwang G, Santos P, Campanella O, Koo H. Matriz extracelular derivada de *Streptococcus mutans* en biopelículas orales cariogénicas. *Front Cell Infect Microbiol* [Online]. 2015 [Citado el 20 de Setiembre 2019]; 5(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4327733/>
  32. El Amrani S, El Khalloufi F, Oudra B, Vasconcelos V. Seaweed Bioactive Compounds against Pathogens and Microalgae: Potential Uses on Pharmacology and Harmful Algae Bloom Control. *Mar. Drugs* [Online]. 2018 [Citado el 27 de Abril 2020]; 16(2): 40-51. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-3397/16/2/55>
  33. Magallanes C, Córdova C, Orozco R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. *Rev. peru. Biol.* [Online]. 2003 [Citado 19 Octubre 2018]; 10(2): 125-132. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v10n2/v10n2a03.pdf>
  34. Chandrasekaran M, Venkatesalu V, Adaikala G, Krishnamoorthy S. Antibacterial activity of *Ulva fasciata* against Multidrug Resistant Bacterial Strains. *International Letters of Natural Sciences* [Online]. 2014 [Citado el 27 de Abril 2020]; 14(1): 40-51. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/265005461\\_Antibacterial\\_Activity\\_of\\_Ulva\\_fasciata\\_against\\_Multidrug\\_Resistant\\_Bacterial\\_Strains](https://www.researchgate.net/publication/265005461_Antibacterial_Activity_of_Ulva_fasciata_against_Multidrug_Resistant_Bacterial_Strains)
  35. Rodríguez E, Fernández M, Alvítez E, Pollack L, Luján L, Geldres C, et al. Algas marinas del litoral de la región La Libertad, Perú. *Scientia Agropecuaria* [Online]. 2018 [Citado 10 Noviembre 2018]; 9(1). Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172018000100008](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172018000100008)
  36. Aguilar-Rosas R, Aguilar-Rosas L, Pedroche F. *Ulva fasciata* Delile (Ulvaceae, Chlorophycota): a species newly introduced into Pacific Mexico. *Botanica Marina*

- [Online] 2005. [Citado el 04 de Junio del 2019]; 48(1): 46–51. Disponible en: <file:///C:/Users/User/Downloads/Ulvafasciata.pdf>
37. Cano M. Bases biológicas de ulva fasciata delile, (chlorophyta) para su posible explotación, al oeste de la habana, cuba. [Tesis para al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas]. Cuba: Universidad de la Habana; [Online] 2008 [Citado 10 Junio 2019]. Disponible en: <https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/3404/Tesis%20Doctorado%20Mercedes%20Cano%2008.pdf;jsessionid=0E6107EF6BD98D900D51EE6A98461E59?sequence=1>
  38. Amirah N, et al. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules*. [Online]. 2019 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 24(14). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6680751/>
  39. Olivas-Aguirre F. et al. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutr Hosp*. [Online]. 2015 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 31(1): 55-66. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v31n1/05revision05.pdf>
  40. Casamitjana N. Glucósidos cardiotónicos. Acción y usos. Elsevier. [Online]. 2002 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 16(4): 90-94. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-glucosidos-cardiotonicos-accion-usos-13028926>
  41. Garcia J, Ramos R, Gomez J, Vasquez J, Cano A. Biotransformación de esteroides con diferentes microorganismos. *Rev. mex. cienc. farm.* [Online]. 2015 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 46(1). Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952015000100017](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000100017)
  42. Sandoval E, Zuñiga E. Efecto antibacteriano in vitro de los alcaloides totales extraídos de hojas de *Prosopis pallida* (Humb. & Bompl. ex Willd) Kunt “algarrobo” frente a *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli*. [Online]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2016. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1497/Sandoval%20Zavaleta%20Edwing%20Jeanpierre%20II.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

43. Yuan G, Yingying G, Yi H, Lai S, Sol Y, Cao S. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific reports*. [Online]. 2021 [Citado el 06 de Febrero 2023]; 11(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8131645/>
44. López D. Comparación de la eficacia entre enjuagues bucales de Gluconato de clorhexidina al 0,12% y de manzanilla con bicarbonato de sodio, en pacientes con gingivitis inducida por placa bacteriana [Tesis]. Perú: Universidad de las Américas. Facultad de ciencias de la salud; 2015. Disponible en: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11173/ACHIOTE\\_ANTIBACTERIANO\\_COLLANTES\\_VARGAS\\_MERLY.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11173/ACHIOTE_ANTIBACTERIANO_COLLANTES_VARGAS_MERLY.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
45. Giménez S. Resistencias bacterianas. Un problema creciente. Elsevier. 2002 [Citado el 07 de Febrero 2023]; 16(9): 76-81. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-resistencias-bacterianas-un-problema-creciente-13038265>
46. Frascati Manual 2015. Guía para la recopilación y presentación de información sobre la investigación y el desarrollo experimental. España: MIC; [Online] 2018. [Citado el 29 de Enero 2023]. Disponible en: <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264310681-es.pdf?expires=1675976289&id=id&accname=guest&checksum=5AD7A3205C7702B463918A0C72A0133A>
47. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; [Online] 2014. [Citado el 29 de Enero 2023]. Disponible en: <https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
48. Abreu J. El Método de la Investigación. *International Journal of Good Conscience*. [Online]. 2014 [Citado el 07 de Febrero 2023]; 9(3). Disponible en: [http://www.spentamexico.org/v9-n3/A17.9\(3\)195-204.pdf](http://www.spentamexico.org/v9-n3/A17.9(3)195-204.pdf)
49. Valle-Zapata H, Ospina-Guerrero S, Galeano-Jaramillo E, Martínez- Martínez A, Márquez-Fernández M, López-Ortiz J. Obtención de una fracción antimicrobiana del extracto etanólico de la macroalga *digenia simplex*. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* [Online]. 2009 [Citado 26 Octubre 2018]; 38(2): 109-117. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/mar/v38n2/v38n2a06.pdf>

50. Cockerill F, Patel J, Alder J, Bradford P, Dudley M, Eliopoulos G, et al. Clinical Laboratory Standar Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23 [Online]. 2013 [Citado el 26 de octubre del 2018]. 33(1). Disponible en: <https://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-M100S23-susceptibility-testing-2013-no-protection.pdf>
51. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2016 [Citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
52. Fica, A, Ruíz G, Alí Y. Normas de manejo de desechos hospitalarios. Rev. Medwave [Online]. 2003 [Citado el 20 de Junio del 2019]; 3(3). Disponible en: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Enfermeria/abr2003/2808>
53. Novales A. Análisis de regresión. [Online]. Madrid: Departamento de Economía Cuantitativa Universidad Complutense; 2010. Disponible en: [https://www.academia.edu/24755800/An%C3%A1lisis\\_de\\_Regresi%C3%B3n](https://www.academia.edu/24755800/An%C3%A1lisis_de_Regresi%C3%B3n)
54. Butler C. Statistics in Linguistics. B. Blackwell. [Online]. 1985. Pg. 214 [Citado el 07 de Febrero 2023]. Disponible en: <https://bookdown.org/dietrichson/metodos-cuantitativos/test-de-normalidad.html>
55. De Castor A. Tratamiento de datos. Ediciones Díaz de Santos. [Online]. 2006. Pg 376. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=AhNx24025ZoC&pg=PA97&hl=es&source=gbs\\_toc\\_r&cad=3#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=AhNx24025ZoC&pg=PA97&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false)
56. Yscapa P. Pruebas o comparaciones de rangos múltiples. Manual de prácticas estadísticas II. [Online]. México: Instituto Tecnológico de Querétaro; 2019. Disponible en: <https://www.studocu.com/es-mx/document/instituto-tecnologico-de-queretaro/estadistica-inferencial-ii/practica-xi-duncan/17239619>
57. Garcia-Galaz L, Gutiérrez-Millán, Acedo-Félix, Burgos-Hernández, López- Torres, Valdés-Covarrubias y Burboa-Zazueta. Las algas y otros organismos marinos como fuente de moléculas bioactivas. Biotecnia. [Online] 2013 [Citado 10 Noviembre 2018]; 15(1): 25-32. Disponible en: [file:///C:/Users/User/Downloads/132-263-1-SM%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/132-263-1-SM%20(1).pdf)

58. Charzeddine L, Fariñas M. Propiedades bioactivas de algas marinas del nororiente de Venezuela. Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela. [Online]. 2001 [Citado el 20 de Junio 2019]; 40(1-2):49-54. Disponible en: <http://www.bionica.info/Biblioteca/Charzeddine2001PropiedadesBioactivasDeAlgasMarinas.pdf>

## ANEXOS

### Anexo 1: Instrumentos de medición

#### A. Variable: Extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*

Instrumento de medición (Frascos de vidrio color ámbar rotulados)





**B. Variable: Actividad cariogénica del *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

**Instrumento de medición (Vernier digital)**

**Traceable® Labtools**

(866) 433-6682 • (281) 359-8538 • sales@novatech-usa.com • www.novatech-usa.com



**Traceable® Digital Callipers**

Ideal for measuring inside diameter, outside diameter and depth

- Designed for laboratory use, measures in inches and millimeters
- Zero button instantly sets unit to zero when jaws are at any position—permits, without calculations, setting a Floating Zero™ or reference point to read "greater than or less than results with a minus sign displayed"
- No lubrication is ever required on the ultra-smooth slide bar, runs on the supplied battery for 10,000 hours
- Supplied: carrying case, battery, Traceable® Certificate

Cat. No.	3415	3416	3417	3418
Material	Stainless-steel		Carbon Fiber	
Measuring range	6"/150mm	8"/200mm	4"/100mm	6"/150mm
Resolution	0.0005 inch/0.01mm		0.01 inch/0.1mm	
Accuracy	±0.001" or ±0.03mm		±0.01" or ±0.2mm	
Depth Bar	Yes		No	
Thumb roller/Lock screw	Yes		No	
Non-metallic/non-conductive	No		Yes	
Dimensions	23 x 7.6 cm	28 x 7.6 cm	17.8 x 6.4 cm	24.1 x 7.6 cm
Weight	141.75 g	170 g	28.3 g	56.7 g

**Instrumento de medición (Formato de recolección de datos)**

**Tiempo:**

**24h**

Repeticiones	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)				
	TRATAMIENTOS				
	Extracto al 25%	Extracto al 50%	Extracto al 75%	Etanol 70°	Clorhexidina 0.12%
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

## Anexo 2: Ficha técnica del instrumento

### Calibrador Vernier Digital 150mm



#### Ficha técnica:

- Varilla de profundidad
- Mandíbula de medición interior
- Mandíbula de medición exterior
- Pantalla: pantalla LCD Color principal: Negro / Plata
- Botón cero
- Botón OFF/ON
- Botón para cambio de unidad de medición
- Rango de medición: 0-150 mm / 0-6 pulgadas
- Resolución: 0.1 mm / 0.01 pulgadas
- Repetibilidad: 0.1 mm / 0.01 pulgadas
- Velocidad máxima de medición: 1.5 m / seg o 60 pulgadas / seg
- Potencia: Una batería (no incluida), LR44 / SR44 / AG13 1.5V
- Tamaño total: 235 \* 77 \* 15 mm / 9.25 "\*" 3.03 "\*" 0.59" (aprox.)
- Tamaño de la pantalla LCD: 40\*15 mm / 1.57"\*0.59" (aprox.)

#### Características:

- Vernier digital compuesto por una regla fija donde están graduadas las escalas de medición (mm, in) que permiten tomar tres tipos de medida: Exterior, interior y profundidad.


### Anexo 3: Constancia de calibración del instrumento

#### CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN

Constancia de calibración del Instrumento Yo, DAVID ZVALETA VERDE, BIOLOGO Microbiólogo y docente de la escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro de CBP N.º 7941, dejo constancia de haber calibrado a la alumna Judith Jenifer Alayo Ticlio, en uso de su instrumento de recolección de datos para obtener las medidas de halos de inhibición del crecimiento bacteriano, en los laboratorios de la Universidad Nacional de Trujillo, de su proyecto de investigación titulada “Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019.

Se aclara que, desde la emisión del presente documento todos los resultados y el contenido obtenido en la parte microbiológica pasan a ser propiedad intelectual de la autora Judith Jenifer Alayo Ticlio, identificada con DNI: 70154250, se expide la constancia para los fines que ella crea conveniente.

Atentamente



David Zavaleta Verde  
MICROBIOLOGO  
C.B.P. 7941

#### Anexo 4: Base de datos

Diámetros de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de *Ulva Fasciata* a diferentes concentraciones, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Tiempo: 24h



Repeticiones	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)				
	TRATAMIENTOS				
	Extracto al 25%	Extracto al 50%	Extracto al 75%	Etanol 70°	Clorhexidina 0.12%
1	11.7	14.9	18.9	8.1	15.1
2	12.4	15.1	19.5	9.1	16.2
3	12.3	16	21.3	8	16.6
4	10.6	15.4	20.3	8.2	15.5
5	12.1	14.7	21.7	8.9	15.2
6	12.7	15.4	21	7.7	16.3
7	11.9	16	19.2	8.1	16.4
8	10.9	14.2	21.4	8	15.8
9	11.2	16.8	17.9	8	15.9
10	13.2	15.6	23.8	8.3	16.6

### Anexo 5: Matriz de consistencia

TÍTULO	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS	VARIABLES	DIMENSIONES	METODOLOGÍA
“Efecto antibacteriano del extracto Hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo – 2019”	<p><b>Problema general:</b> ¿Tiene efecto antibacteriano el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> en diferentes concentraciones, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p><b>Problemas específicos:</b> PE1: ¿Quién tiene mayor efecto antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% o el de 50% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175? PE2: ¿Quién tiene mayor efecto antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% o el de 75% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175? PE3: ¿Quién tiene mayor efecto antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% o el de 75% sobre cepas de</p>	<p><b>Hipótesis general:</b> El extracto Hidroetanólico de la <i>Ulva fasciata</i> en diferentes concentraciones tiene diferencias significativas en sus efectos sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>. ATCC 25175.</p> <p><b>Hipótesis específicas:</b> HE1: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. HE2: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% es menor que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. HE3: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% es menor</p>	<p><b>Objetivo general:</b> - Determinar los niveles de efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> de diferentes concentraciones, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> OE1: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% y 50% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. OE2: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% y 75% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. OE3: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% y</p>	<p><b>Variable independiente:</b> Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p><b>Variable dependiente:</b> Actividad cariogénica de las cepas de <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>-Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25%</p> <p>-Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50%</p> <p>-Extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25%</p> <p>- Suceptibilidad</p>	<p><b>Tipo:</b> - Aplicada - Experimental - Cuantitativa</p> <p><b>Método:</b> - Deductivo</p> <p><b>Diseño:</b> - Experimental - Prospectivo - Transversal - Analítico</p> <p><b>Población y muestra:</b> - <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 - 10 ensayos por cada grupo (5 grupos)</p> <p><b>Técnica:</b> - Observación</p> <p><b>Instrumentos de recolección de datos:</b> - Frascos rotulados - Vernier digital</p>

	<p><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?  PE4: ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?  PE5: ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?  PE6: ¿Quién tiene mayor efectos antibacteriano, el extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75% o el Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p>que el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  HE4: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  HE5: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% es menor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  HE6: El efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75% es mayor que el efecto antibacteriano del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>75% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  OE4: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 25% y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  OE5: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 50% y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  OE6: Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de <i>Ulva fasciata</i> al 75% y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>			<p>- Formato de recolección de datos</p> <p><b>Métodos de análisis de investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Recolección e identificación taxonómica del alga</li> <li>-Preparación de la muestra algal</li> <li>-Obtención de la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</li> <li>-Reactivación de la cepa</li> <li>- Inoculación en las placas Petri</li> <li>-Preparación de los discos de papel estériles embebidas con los tratamientos.</li> <li>-Incubación</li> <li>-lectura de los resultados</li> </ul>
--	--	---	--	--	--	--

## Anexo 6: Otros

"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

**Taxonomía de *Ulva fasciata* Delile, 1813**

**Clasificación:**

**Reino :** Plantae

**Subreino :** Viridiplantae

**Phylum (Division) :** Chlorophyta

**Subphylum (Subdivision) :** Chlorophytina

**Clase :** Ulvophyceae

**Orden :** Ulvales

**Familia :** Ulvaceae


**Género :** *Ulva*

**Especie :** *Ulva fasciata* Delile, 1813

El nombre aceptado de esta especie es *Ulva lactuca* Linnaeus, 1753

**Referencia consultada:**

Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2019). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M.D. Guiry). *Ulva fasciata* Delile, 1813. Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=145982> on 2019-06-12.

  
Ing. Roberto Uribe Alzamora  
Área de Macroalgas y Biodiversidad  
IMARPE





Gen Lab del Perú S.A.C  
Jr. Capac Yupanqui N°. 2434  
Lince - Lima - Perú  
Central Telefónica  
(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501  
Email : ventas@genlabperu.com  
Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260  
**FACTURA  
ELECTRONICA**  
**F002-000167**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 20/03/2019	Orden Compra: COTIZ 18/034525
Fecha Vcto : 20/03/2019	Gula de Remisión :
Cliente: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE	N° Pedido : 021874
Dirección: JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCI CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru	RUC : 20319956043
Tipo Movimiento : ANTICIPOS	
Lugar de destino :	

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total
H05666-A	KWK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	312.66	0.00	312.66

TRESCIENTOS SESENTA Y OCHO CON 94/100 SOLES



Representación impresa de la Factura Electrónica  
Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

Anticipo		0.00
Op. Gravada S/		312.66
IGV 18%		56.28
Importe Total S/		368.94

## CONSTANCIA


Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, Químico Farmacéutico y docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CQFP: 06952

Dejo constancia de haber colaborado con la alumna **JUDITH JENIFER ALAYO TILCLIO**, identificada con DNI 70154250 con domicilio legal en Calle Santiago Mariños 1102 Int "C", estudiante de la Facultad de Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, en la ejecución del proyecto de investigación: "**Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**".

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

Trujillo 18 de junio del 2019



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

## CONSTANCIA

Yo, David Zavaleta Verde, Biólogo Microbiólogo y docente de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 7941.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna JUDITH JENIFER ALAYO TICLIO identificada con DNI 7015425, con domicilio legal en Calle Santiago Mariños 1102 Int "C" La Esperanza; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote, en la ejecución del proyecto de investigación **"Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175"**.

Trujillo 26 de junio del 2019



David Zavaleta Verde  
MICROBIOLOGO  
C.E.P. 7941

## CONSTANCIA

Yo, **DAVID JONATAN CUBA CAMPOS** con DNI: 45488304, Ingeniero Estadístico de la Universidad Nacional de Trujillo.

Dejo constancia de haber colaborado con la alumna **ALAYO TICLIO JUDITH JENIFER**, identificada con DNI: 70154250, con domicilio legal Santiago Mariños 1102 int. C, La Esperanza- Trujillo, estudiante de la facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

Se hace constar que colaboro con el análisis estadístico de la tesis titulada EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE *Ulva fasciata* SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo- 2019.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado.

Trujillo, 27 de junio 2019.



David J. Cuba Campos  
ING. ESTADÍSTICO  
DNI 45488304

FIRMA

**Macroalga *Ulva fasciata* con la cual se realizó la ejecución del proyecto**



**Recolección de la especie *ulva fasciata* en la playa de Huanchaco**



## Preparación de la muestra algal

Lavado de las macroalgas para eliminar los posibles organismos y pesado en balanza



## Secado

Las macroalgas (*Ulva fasciata*) colocada en papel Kraft y llevado a secar en estufa de circulación de aire por convección forzada a 40 °C por 48 horas.





## Pulverización

Las macroalgas una vez secas se pulverizaron con ayuda de un molino.



## Almacenamiento

El polvo de las macroalgas se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha hasta su posterior uso.



### Preparación del extracto hidroetanólico del alga *Ulva fasciata*

Se pesaron 220 g de polvo seco de la macroalga y se colocó en un balón de vidrio de 1 litro de capacidad, añadiéndole 500 ml de etanol-agua (7:3), se mezclaron bien y se llevaron a reflujo por 4 horas.



### Preparación de las concentraciones de los extractos

El residuo seco de extracción (10 g) obtenido al finalizar el proceso, se pesó y a partir de este se prepararon las concentraciones de 25% (250 mg/mL), 50% (500 mg/mL), 75% (750 mg/mL) disueltas en etanol-agua (7:3) respectivamente. Finalmente, los extractos etanólicos de *Ulva fasciata* se guardaron en frascos de vidrio de color ámbar



**Extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*, a diferentes concentraciones**



**Control negativo (etanol 70°) y control positivo (Clorhexidina 0.12%)**



**Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata* sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175**

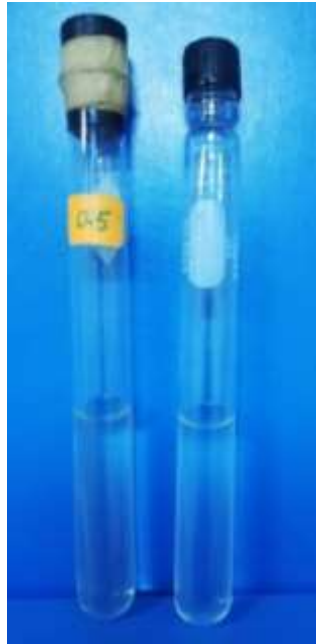
Sistema conteniendo cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



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



Tubo conteniendo *Streptococcus mutans* ATCC 25175 estandarizado a la concentración  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml



## Inoculación de las placas.



## Preparación de los discos con el extracto hidroetanólico de *Ulva fasciata*





### **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examina cada placa y se miden los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco.





Control positivo clorhexidina al 0,12% y control negativo etanol 70°





Se midieron los diámetros de halos de Inhibición de los extractos al 25% , 50% 75%



