



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococos mutans*.

Estudio in vitro

Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del título de odontólogo

AUTORA: Andrea Carmen Torres Torres

TUTORA: Dra. María Fernanda Caicedo Breedy

COTUTOR: Dr. Jaime Humberto Luna Herrera

Quito, Octubre 2017

© DERECHOS DE AUTOR

Yo, Andrea Carmen Torres Torres en calidad de autora del trabajo de investigación: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCO SOBRE CEPAS DE *Streptococos mutans*. ESTUDIO IN VITRO, autorizo a la Universidad Central del Ecuador a hacer uso de todos los contenidos que me/nos pertenecen o parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi/nuestro favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

También, autorizo a la Universidad Central del Ecuador a realizar la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:



Andrea Carmen Torres Torres

C.I. 1724581614



FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION

INFORME FINAL DE APROBACION DE TESIS

Yo, María Fernanda Caicedo Breedy, en calidad de tutor del trabajo de titulación EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCO SOBRE CEPAS DE *Streptococo mutans*. ESTUDIO IN VITRO, elaborado por la estudiante Andrea Carmen Torres Torres, estudiante de la Carrera de Odontología, Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios en el campo metodológico, en el campo epistemológico y ha superado el control anti plagio, para ser sometido a la evaluación por parte del jurado examinador que se designe, por lo que lo APRUEBO, a fin de que el trabajo investigativo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación determinado por la Universidad Central del Ecuador.

En la ciudad de Quito a los 18 días del mes de agosto del año 2017.



Firma

B.F. María Fernanda Caicedo Breedy MSc.

c.e.n° 0602384083

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNIDAD DE GRADUACIÓN, TITULACIÓN E INVESTIGACION
FECHA: 31/8/2017
FIRMA: [Firma]
NOMBRE: [Nombre]
CARGO: [Cargo]

APROBACION DE LA PRESENTACION ORAL/TRIBUNAL

El Tribunal constituido por: DRA Y DR.

Luego de receptor la presentación oral del trabajo de titulación previo a la obtención del título de Odontólogo presentado por la señorita Andrea Carmen Torres Torres

Con el título: Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de estreptococos mutans. Estudio in vitro.

Emite el siguiente veredicto: (aprobado/reprobado) _____

Fecha:

Para constancia de lo actuado firman:

	Nombre	Apellido	Calificación	Firma
Presidente	Dra. Erika	Espinoza	_____	_____
Vocal 1	Dr. Marco	Medina	_____	_____

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta la culminación de esta etapa tan importante de mi vida académica. A mis Padres, en especial a mi Madre, mi mayor ejemplo, mi pilar, que con su fortaleza, dedicación y sabiduría, se ha convertido en el completo amor de mi vida. A mis hermanos que siempre estuvieron para ayudarme, porque fueron ellos quienes me enseñaron a perseverar para alcanzar mis metas, por su amor y paciencia. En especial a mi hermano Diego que me ha apoyado incondicionalmente y siempre ha estado en todo momento.

A mis amigas Guadalupe, Diana y Julieta que siempre han sido un gran apoyo para mí.

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia, por estar siempre junto a mí, brindándome su apoyo incondicional y su cariño para enfrentar cada etapa de mi vida, sin los cuales no hubiese sido posible alcanzar mis objetivos y sueños.

Agradezco de manera muy especial la colaboración a mi tutora: Dra. María Fernanda Caicedo Breedy, por su apoyo, guía, paciencia y sus importantes aportes para la realización de este trabajo de investigación.

A la Lic. Yolanda Andrade, por su paciencia y por toda la ayuda brindada para mi trabajo en cuanto a la parte microbiológica.

A la Dra. Blanca Naranjo docente de la Facultad de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), por ayudarme en este proyecto con su guía y consejos.

A todos mis verdaderos amigos, por haber compartido conmigo inolvidables momentos en nuestro paso por la Universidad Central del Ecuador.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Página del título	i
DERECHOS DE AUTOR.....	ii
APROBACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN POR PARTE DE TUTOR...iii	
APROBACION DE LA PRESENTACION ORAL/TRIBUNAL.....iv	
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
LISTA DE ANEXOS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE GRÁFICOS.....	xii
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO I	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1 FLORA ORAL.....	3
1.1.2 Patogenicidad.....	4
1.2 Caries y su relación con el <i>Streptococcus mutans</i>	4
1.2.1 Prevalencia.....	5
1.2.2 Etiología.....	6
1.2.3 Huésped	6
1.2.4 Microorganismos	6
1.2.5 Dieta o sustrato	7
1.2.6 Tiempo.....	7
1.3 Medicina tradicional no convencional.....	8

1.3.1 Terapias con fitofármacos	8
1.4 Coco (Cocos nucifera L.).....	9
1.4.1 Definición	9
1.4.2 Taxonomía.....	9
1.4.3 Hábitat	10
1.4.4 Cultivo	10
1.4.5 Compuestos activos	10
CAPÍTULO II	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
2.1 OBJETIVOS.....	13
2.1.1 Objetivo General.....	13
2.1.2 Objetivos Específicos	13
2.2 HIPÓTESIS.....	14
2.2.1 Hipótesis de investigación, H1	14
2.2.2 Hipótesis nula, Ho	14
CAPÍTULO III	15
3.1 METODOLOGÍA.....	15
3.1.1 Tipo de investigación.....	15
3.1.2 Población de estudio y muestra	15
3.2 Criterios de inclusión y exclusión	15
3.2.1 Criterios de inclusión.....	15
3.2.2 Criterio de exclusión.....	15
3.3 Variables.....	16
3.3.1 Conceptualización de las variables.....	16
Variables independientes.....	16
Variable dependiente	16
Variable interviniente	16

3.4 Operacionalización de las variables	16
3.5 Procedimientos y técnicas	18
3.5.1 Materiales y métodos.....	18
3.5.1.1 Elaboración del aceite de coco.....	18
3.5.1.2 Ensayo microbiológico	23
CAPÍTULO IV	33
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	33
4.1 Resultados.....	33
4.2 Análisis de resultados	33
CAPÍTULO V	41
DISCUSIÓN.....	41
CAPÍTULO VI	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
CONCLUSIONES.....	43
RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXOS	49

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A: CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL SEISH - UCE	49
ANEXO B: CERTIFICADO DE DILUCIONES DE ACEITE DE COCO	50
ANEXO C: RENUNCIA A TRABAJO ESTADÍSTICO	51
ANEXO D: CERTIFICADO DE MANEJO DE DESECHOS INFECCIOSOS ..	52
ANEXO E: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LAS ESPECIFICACIONES DEL MICROORGANISMO LIOFILIZADO.....	53
ANEXO F: ACTIVACIÓN DE LA CEPA SEGÚN FABRICANTE.....	54
ANEXO G: CERTIFICADO DE REALIZACIÓN DE PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS.....	55
ANEXO H: CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etiología de la Caries dental.....	7
Figura 2. Coco maduro.....	19
Figura 3. Trozos de pulpa de coco.....	19
Figura 4. Trituración de trozos de coco	20
Figura 5. Exprimir la pasta.....	20
Figura 6. Leche de coco.....	21
Figura 7. Capa sólida.....	21
Figura 8. Separación del aceite y pulpa.....	21
Figura 9. Aceite de coco.....	22
Figura 10. Ozonificador.....	22
Figura 11. Concentraciones del aceite de coco.....	23
Figura 12. Cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™.....	24
Figura 13. Cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™.....	25
Figura 14. Activación de la cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™.....	26
Figura 15. Crecimiento de la cepa para la suspensión de estandarización.....	26
Figura 16. Solución estándar de turbidez McFarland.....	27
Figura 17. Cámara de Seguridad Biológica.....	28
Figura 18. Técnica de diseminación.....	28
Figura 19. Colocación de discos embebidos con las respectivas concentraciones de aceite de coco.....	29
Figura 20. Incubación de la cepa bacteriana con las concentraciones de aceite de coco.....	30
Figura 21. Halos de Inhibición.....	30
Figura 22. Medición de los halos de inhibición.....	31
Figura 23. Autoclave.....	31
Figura 24. Esterilización de cultivos.....	31
Figura 25. Eliminación de desechos altamente infecciosos.....	32

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de las variables	17
Tabla 2. Resultados de la medición de los halos de inhibición	33
Tabla 3. Análisis estadístico de los resultados de la medición de los halos de inhibición.....	34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Historial de medición , tendencia lineal de cada repetición y entre tratamientos.....	35
Gráfico 2. Medias de los halos por cada tratamiento.....	36
Gráfico 3. Comparación de porcentajes de inhibición entre tratamientos y el control positivo.....	37
Gráfico 4. Comparación de eficiencia entre los tratamientos y el control, positivo.....	38

TEMA: Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Estudio in vitro

AUTORA: Andrea Carmen Torres Torres

TUTORA: Dra. María Fernanda Caicedo Breedy

COTUTOR: Dr. Jaime Humberto Luna Herrera

RESUMEN

La planta de coco (*Cocos nucifera L*) llamada el árbol de la vida, se encuentra en los primeros lugares de las especies de plantas alimenticias vitales para el hombre; debido a las múltiples propiedades que posee es que se planteó la presente investigación con el objetivo fundamental de determinar el efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre las cepas ATCC25175 de *Streptococcus mutans*, considerando que este microorganismo es el principal causante de la formación de la caries, por encontrarse presente en la placa dental y es uno de los productores de ácidos que erosionan el esmalte dando inicio a lesiones cariosas. Por otro lado, a nivel mundial se está consolidando la consciencia sobre la necesidad de utilizar productos naturales en la terapéutica humana, es por ello que la Organización Mundial de la Salud, propuso como objetivo a cumplir el programa “salud para todos” considerando la importancia de establecer estrategias formales de atención primaria en salud con medicina tradicional y elementos terapéuticos naturales de reconocida utilidad lo cual se ha estado realizando en muchas partes del mundo.

El presente estudio fue in vitro, realizado en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central aplicando procedimientos que permitieron conocer el efecto antimicrobiano del aceite de coco mediante la determinación del grado de inhibición sobre cepas ATCC25175 de *Streptococcus mutans*, estableciendo una comparación con el efecto de la clorhexidina al 0,12%. Los resultados obtenidos manifiestan que el aceite de coco a diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175, por lo tanto el microorganismo es “sensible o inhibido”, sin demostrar diferencias significativas en el efecto producido por las tres concentraciones. Se evidencia que el microorganismo presenta significativamente mayor sensibilidad frente a la clorhexidina al 0,12% que al aceite de coco en sus tres concentraciones.

Términos descriptores: Aceite de coco, *Streptococcus mutans* ATCC25175, Inhibición bacteriana.

SUBJECT: “Antimicrobial effect of coconut oil on *Streptococcus mutans* strains. In vitro study”

Author: Torres Torres, Andrea Carmen

Tutor: Dra. Maria Fernanda Caicedo Breedy

Co-tutor: Dr. Jaime Humberto Luna Herrera

ABSTRACT

The coconut plant (*Cocos nucifera L*) called the tree of life, is in the first places of the species of alimentary plants vital for the human; Due to the multiple properties that it possesses is that this research was presented with the fundamental objective of determining the antimicrobial effect of coconut oil on strains ATCC25175 of *Streptococcus mutans*, considering that this microorganism is the main cause of the formation of caries; because it is present in the dental plaque and is one of the producers of acids that erode the enamel giving rise to carious lesions. On the other hand, at the global level, there is a growing awareness of the need to use natural products in human therapeutics, which is why the World Health Organization proposed to achieve the “health for all” program, considering the importance to establish formal strategies of primary health care with traditional medicine and natural therapeutic elements of recognized utility which has been carried out in many parts of the world. The present study was carried out in vitro in the microbiology laboratory of the Faculty of Dentistry of the Universidad Central applying procedures that allowed knowing the antimicrobial effect of coconut oil by determining the degree of inhibition on strains ATCC25175 of *Streptococcus mutans*, establishing a comparison with the effect of 0.12% chlorhexidine. The results show that coconut oil at different concentrations has an inhibitory effect on strains of *Streptococcus mutans* ATCC25175, therefore the microorganism is “sensitive or inhibited” according to the scale established by Cedamano and Mejia (35), without demonstrating significant differences in the effect produced by the three concentrations. It is evidenced that the microorganism presents significantly greater sensitivity to chlorhexidine at 0.12% than to coconut oil in its three concentrations.

KEYWORDS: COCONUT OIL, *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC25175, BACTERIAL INHIBITION.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 FLORA ORAL

Explica Serrano et al (1), que la microbiota oral es uno de los ecosistemas microbianos más antiguos en ser reconocido, siendo descrito por vez primera por Anton van Leewenhoek, al observarlo a través del microscopio los microorganismos en placas dentales, existiendo entre 600 y 700 taxones y estimando alrededor de 19000 filotipos. Esta amplia diversidad microbiana hace fundamental la comprensión de cómo están constituidas las comunidades que en la cavidad bucal se encuentran, su forma de interactuar y como mantienen la homeostasis en el cuerpo humano, considerando a la vez que la cavidad bucal es la puerta de entrada de posibles infecciones del sistema gastrointestinal y respiratorio.

Señala Serrano et al (1), en relación a la distribución de los microorganismos presentes en la cavidad bucal, que las especies del género *Streptococcus* se encuentran en una alta proporción de tejidos blandos, lengua y saliva. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supra e infragingival y en fisuras de la lengua. En el caso de bacterias tales como *Veionella parvula* y *Neisseria mucosa* pueden ser aisladas en todos las áreas de la cavidad oral. Por otra parte, también se han detectado colonias intracelulares en células epiteliales de la cavidad oral por complejos bacterianos constituidos por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*.

1.1.1 *Streptococcus mutans*

Según Moreno et al (2), el *Streptococcus mutans* es el agente patógeno aislado con más frecuencia de la placa bucal, por lo que es considerado el principal elemento etiológico de la caries dental, aunque son variados y diversos los factores relacionado con la virulencia de este, que le permiten aumentar la población y por tanto, acumularse en el interior de la placa dental, ocasionando la producción y tolerancia a los ácidos que causan la caries.

Explica Negroni (3), que se denomina *Streptococcus* al grupo de bacterias anaeróbicas facultativas que poseen forma ovoidea o de coco esférica, agrupados en cadenas de largo variable, debido a que este tipo de microorganismos se encuentran y permanecen adheridos por una parte de la pared celular, no se mueven, generalmente reaccionan de manera positiva a coloración de Gram, por lo que se clasifican como Gram positivos y no forman esporas. También presentan prolongaciones extracelulares de tipo fimbrias y ocasionalmente tienen capsula.

1.1.2 Patogenicidad

Explica Rocha et al (4), que el *Streptococcus mutans* es una bacteria oral que depende de la formación de la biopelícula para sobrevivir y persistir en el ecosistema natural, la placa dental. En condiciones apropiadas puede producir ácidos por fermentación de diversos hidratos de carbono que son ingeridos por la dieta habitual del individuo y así iniciar la desmineralización del esmalte dental. Las condiciones del medio ambiente encontradas por *Streptococcus mutans* en la biopelícula dental son diversas, incluyendo variaciones en el pH, de aproximadamente de 6,8 a 3,4 durante el proceso de ingestión de hidratos de carbono por parte del hospedero, ejerciendo el pH una presión ecológica significativa sobre el microorganismo, por lo que la capacidad de tolerar bajos niveles ácidos de pH es vital para la supervivencia y patogenicidad.

Señala Ojeda et al (5), que el *Streptococcus mutans* produce ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico y ácido fórmico mediante la metabolización de carbohidratos fermentables como la glucosa, sacarosa y fructosa, circulando estos ácidos a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando hidrogeniones, que disuelven en un corto lapso de tiempo el mineral del esmalte, produciendo fosfato y calcio, que a la vez, son difundidos fuera del esmalte, el cual es un proceso conocido como desmineralización.

1.2 Caries y su relación con el *Streptococcus mutans*

Olmos et al (6), manifiesta que el nivel de desarrollo científico aplicado al área de salud bucal permite determinar que la caries dental es la enfermedad más recurrente y prevalente en el mundo, afectando funciones básicas vitales, tales como la nutrición, la alimentación y causando daños en el aspecto psicosocial de los individuos, afirmando en

consecuencia, que la salud integral, así como la calidad de vida se ven comprometidas con la aparición y desarrollo de esta patología dental.

De acuerdo a Hoyos et al (7), se define la caries dental como una patología de origen multifactorial, donde se realiza la interacción entre elementos tales como la saliva y la microflora de la cavidad bucal como factores del huésped y el aporte de la dieta como factor externo, constituyendo un proceso infeccioso en el cual se acumulan cepas específicas de microorganismos sobre la superficie del esmalte dental, donde se producen compuestos proteolíticos y ácidos que favorecen la desmineralización de la superficie y corroen la matriz orgánica, de tal manera que permiten la penetración, evolucionando a través de la dentina hasta llegar a la pulpa, con el riesgo de si no se detienen este proceso a tiempo la pieza dental resulta totalmente dañada.

Asimismo explica Miguelañez et al (8), que el proceso destructivo que sigue la caries dental puede ser interrumpido mediante la eliminación mecánica del tejido dentario afectado por la infección y sustituido por material sintético idóneo que recupera y restaura la función y forma natural de la pieza dental.

1.2.1 Prevalencia

La caries dental es la enfermedad infecciosa mas La caries dental es la enfermedad infecciosa más prevalente y está clasificada como el más grande problema de salud pública en el mundo, perjudicando especialmente a niños, sin embargo se puede aparecer en individuos de todas las edades (9) (10).

Alrededor del 95 y 99 % de la población sufre ésta patología siendo la primordial causa de pérdida dentaria y nueve de cada diez personas presentan sus lesiones (11).

La Organización Mundial de la Salud calcula que entre el 60% y 90% de los escolares presentan caries dental. En Ecuador un 88,5% de niños tienen caries dental y los niños entre seis y siete años presentan un índice CPOD (promedio de piezas definitivas cariadas, perdidas y obturadas) de 0,22, incrementando a 2,95 a los doce años y a 4,64 a los quince años. De este modo se define un nivel severo según el principio fundamentado por la OPS/OMS (11) (12).

1.2.2 Etiología

Según Ortolá et al (13), etiológicamente la caries depende de factores perfectamente identificados que son: la pieza dental, la cual constituye la base del desarrollo, la dieta, la flora bacteriana y el factor tiempo. Posteriormente a la exposición de la superficie radicular al medio oral, el cemento dental, que posee una superficie rugosa y un elevado contenido de fibras de colágeno, los cuales se deterioran quedando al descubierto, entra en contacto directo con todos los contenidos que conforman la saliva, dejando al descubierto múltiples puertas de acceso para el anidamiento y reproducción abundante de bacterias. El proceso carioso iniciado se potencia si no existe una eficiente higiene oral, incrementando el daño con el paso del tiempo, favoreciendo la aparición y desarrollo de caries en la superficie radicular, presentado también desmineralización del esmalte la cual se potencia con componentes de la dieta cuando incluyen productos poco refinados como los mono y disacáridos.

1.2.3 Huésped

a) Diente

Hay algunas propiedades físicas y químicas dentales del huésped que incrementan el riesgo de producir caries dental. La forma de las piezas dentarias, la postura del arco dentario, las propiedades de la estructura del diente, son causas que incrementan el riesgo de sufrir caries dental. La permeabilidad del esmalte y la rapidez de disipación de los cristales dependen de la estructura química del mismo (14).

b) Saliva

La saliva realiza una función elemental en la defensa dental frente a los productos del metabolismo bacteriano. La verificación más clara de la importancia de la saliva se observa en los cambios producidos en los dientes debido a la menor producción de saliva ocasionada por varias condiciones como fármacos, radiación en sujetos oncológicos o diferentes alteraciones del organismo como el Síndrome de Sjögren (15).

1.2.4 Microorganismos

El *Streptococcus mutans* y en menor proporción *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii* son las bacterias vinculadas al desarrollo de la caries, asimismo el *Streptococcus sanguis*, colonizador primario del biofilm dental. Igualmente podemos hallar especies de

Lactobacillus y Actinomyces, de todos estos, el Streptococcus mutans es el agente fundamental ligado a ella (16) (17).

1.2.5 Dieta o sustrato

Uno de los agentes que favorecen la presencia de la caries dental es el consumo de muchas cantidades de azúcares. Numerosas indagaciones indican el vínculo entre caries y carbohidratos procesados, primordialmente la sacarosa. Los azúcares ingeridos a diario forman el sustrato para la microflora bucal y dan comienzo al desarrollo de la caries dental (15). La sacarosa es considerada la más cariogénica porque su metabolismo crea ácidos, asimismo es empleada por el Estreptococcus mutans para sintetizar polisacáridos extracelulares, que le ayudan a unirse a la superficie dental (18). La resistencia física, instante de ingestión y la continuidad de consumo son los elementos que señalan el riesgo cariogénico de los alimentos (14) (19).

1.2.6 Tiempo

Para dar inicio a la caries dental interactúan en el tiempo un huésped susceptible, bacterias cariogénicas y el sustrato como fuente de carbohidratos fermentables. El dominio cariogénico del azúcar no está vinculado con la cantidad sino con la continuidad del consumo (18).



Figura1. Modelo de Keyes modificado por Newbrun, 1978.

1.3 Medicina tradicional no convencional

Desde la antigüedad los productos de origen vegetal han tenido un rol predominante en la terapéutica de enfermedades, sin embargo, con el adelanto de la bioquímica y la farmacología pasó a un orden secundario debido a la fabricación de modernos fármacos en laboratorios (20).

1.3.1 Terapias con fitofármacos

Señala Escalona et al (21), que se ha incrementado notablemente el interés por la medicina tradicional, incluyendo terapias con medicación basadas en hierbas, lo que ha llevado a tomar la decisión de ocuparse de las formas tradicionales de medicina y explorar las posibilidades de utilizarlas en la atención primaria de salud. Por ello en los últimos años ha surgido un interés creciente por los fitomedicamentos, sin limitarse a los países en desarrollo y consecuente, los mercados nacionales e internacionales, sino que las autoridades sanitarias y la opinión pública han mostrado interés por la inocuidad y la calidad de estos fármacos.

Ecuador es un país sumamente diverso, aparece entre los doce países con un gran número de especies animales y vegetales del planeta, por esta razón, el interés de la investigación de diversas plantas que pueden aprovecharse como elección al tratamiento convencional (22). La Fitoterapia se explica como una ciencia que explora el empleo de sustancias de origen vegetal con fines terapéuticos, queriendo eludir, aliviar o resolver una enfermedad (20).

De acuerdo a Peedikayi et al (23), el aceite de coco es de uso común en Asia regiones del Pacífico, a diferencia del resto de los aceites este contiene ácidos grasos y saturados con ácido láurico, el cual posee propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas, el cual se convierte en monolaurina que ha sido reconocido por diversas investigaciones como antiviral y antibacteriano. Explican Rivera et al (24), que el aceite de coco se extrae de la pulpa del coco seco, también llamado copra, la cual contiene más del 60% de aceite que puede ser extraído por diferentes métodos. Además de ser ricos en ácido láurico, el aceite de copra no sufre degradación a temperaturas elevadas.

Además, el aceite de coco como producto natural con propiedades antibacterianas, indica Richani (25), que posee agentes tensioactivos aniónicos adecuados, tal como la sal de sodio del monosulfato de monoglicéridos de los ácidos grasos que lo conforman. Además, también posee propiedades antibióticas derivadas de una concentración elevada de ácido láurico, caracterizado por el incremento de las propiedades antibacteriales y antivirales del cuerpo humano. Es por ello que la aplicación del aceite de coco presenta mayor efectividad que los productos sintéticos, por la capacidad de minimizar las consecuencias, actuando como elemento inhibidor del *Streptococcus mutans*, como principal bacteria involucrada en la generación de la caries dental.

1.4 Coco (*Cocos nucifera* L.)

Según Granado et al (26) la planta de coco (*Cocos nucifera* L.) ha sido llamada el árbol de la vida, por las múltiples propiedades que posee, es por ello que se encuentra en el lugar N° 12 de la lista de especies de plantas alimenticias vitales para el hombre. Ha sido cultivada la palma de coco desde inicios de la humanidad, siendo tan amplia la localización en todo el mundo que no existe una definición exacta de su origen geográfico, aunque su mayor presencia se ubica en los climas tropicales, representando el cultivo arbóreo más importante a nivel mundial.

1.4.1 Definición

De acuerdo a Guevara et (27) la planta de coco (*Cocos nucifera* L) es una planta perteneciente a la familia Coccoaceae, que se caracteriza por poseer tallos altos únicos de hasta 20 m, reciclados y de hojas pinnadas. La inflorescencia del coco es interfoliar, con ramificaciones simples y con una bráctea peduncular semileñosa. Las flores son unisexuales que forman grupos triados en la base de las ramas floríferas, de flor pistilada central y dos estaminadas laterales. Los frutos de la planta contienen una única semilla, con la característica básica de tener un gran tamaño.

1.4.2 Taxonomía

Es una especie de palmera de la familia Arecaceae. Es monotípica, siendo su única especie *Cocos nucifera*. Este género alguna vez tuvo bastantes especies que fueron siendo independizadas de este género, unas cuantas hacia el género *Syagrus*, taxonómicamente hablando, las especies más cercanas son *Jubaeopsis caffra* de Sudáfrica y *Voanioala gerardii* de Madagascar. Crece alrededor de 30 metros o más y su fruto es el coco (28).

1.4.3 Hábitat

La planta puede encontrarse en la orilla de playas tropicales arenosas del Mar Caribe, Océano Índico y Pacífico. Cultivada se da en otros lugares de clima caliente. Normalmente pueden crecer desde el Ecuador hasta los paralelos 28° de ambos hemisferios, con algunas excepciones como las Islas Bermudas y Madeira en el paralelo 32°, o Islas Kermadec, entre los paralelos 29° y 31° (28).

1.4.4 Cultivo

Requiere para crecer y fructificar temperaturas altas, suelos ligeros y humedad ambiental alta, condiciones que se dan en las costas de la zona intertropical. Resiste suelos con salinidad aumentada, lo que le posibilita crecer donde otras plantas no pueden. Crece en zonas donde la pluviosidad es de 750 milímetros anuales. Los vientos fuertes no le perjudican y estos ayudan a la polinización y fecundación de sus flores. La planta no soporta el frío, la altitud ni los suelos compactos, y la baja humedad ambiental impide su crecimiento en algunas áreas cálidas donde supuestamente podría crecer: las costas mediterráneas meridionales, las costas del norte de Chile y el sur de Perú, etc. En cambio sí puede crecer en zonas subtropicales como Hawái, Canarias o el sur de Florida donde la humedad relativa es elevada y las temperaturas no suelen bajar de los 13 °C (28).

1.4.5 Compuestos activos

De acuerdo a la revista Botánica Online (29), la variedad de compuestos activos que posee la planta de coco depende de la parte donde se encuentre el componente, siendo la semilla la única parte de la planta que se ingiere. Por lo tanto, se puede mencionar:

- **Ácido Láurico:** Es el mayor de los ácidos grasos de cadena media que tiene efecto antimicrobiano y consiste en una cadena de doce átomos de carbono. El aceite de coco es rico en este nutriente, representa el 50% de su contenido graso.
- **Carbohidratos:** contenido en la semilla, entre los cuales se encuentran: galactosa, fructosa, manano, rafinosa, sacarosa, glucosa, pentosanas, L-ramnosa y galactomano.
- **Grasas:** Saturadas, monosaturadas y poliinsaturadas.
- **Proteínas.**

- **Fibras:** presentes en la semilla: pectina, lignina y celulosa.
- **Vitaminas:** gamma-tocoferol y alfa-tocoferol en el aceite y en la semilla encontramos niacina, riboflavina, ácido ascórbico, tiamina, inositol y riboflavina.
- **Minerales:** tales como fosforo, selenio, magnesio, sodio, yodo, calcio, hierro y zinc.
- **Oligoelementos:** Níquel, estroncio, cromo, arsénico, escandio, aluminio, boro, antimonio, cesio, rubidio, bario, cadmio, flúor, níquel, molibdeno y manganeso.
- **Polialcoholes:** como el sorbitol que se encuentra en la semilla.
- **Ácidos orgánicos:** Cítrico, málico, galacturónico, succínico, shikímico, mirístico, quínico y tridecanoido, presentes en la semilla, ácido siríngico y cumárico en la hojas y ácido ferúlico en las hojas.
- **Óxidos:** tales como óxido de manganeso, óxido de magnesio y óxido de fósforo, que se encuentran en las hojas.
- **Fenoles:** vainillina presente en las hojas.
- **Fitohormonas citoquininas:** N-isopenteniladenina, trans-zeatin, dihidrozeatin-O-glucósido, dihidrozeatin, bencilaminopurina, zeatina y meta-topolin-ribósido, todas presentes en la semilla.

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Señala Moreno et al (2), que el *Streptococcus mutans* es considerado el principal causante de la formación de la caries, debido a que este microorganismo está presente en la placa dental y puede producir y soportar los ácidos que ocasionan las caries.

Indica Ojeda et al (5), que la caries dental es consecuencia de un desbalance de microflora natural de la placa de las piezas dentales, esta alteración de las condiciones naturales de la cavidad bucal por la presencia del *estreptococo mutans*, aunado a la colonización de los tejidos dentales, interacción e implantación de otros microorganismos son los causantes de esta enfermedad que es considerada contagiosa que se origina por un proceso dinámico de desmineralización y remineralización.

Muchas son las investigaciones tanto in vitro como in vivo, orientadas a buscar solucionar o disminuir los efectos del *estreptococo mutans* en la cavidad bucal, al igual que prevenir la formación de la caries dental, entre ellas se encuentran la utilización de las plantas medicinales y los derivados o la medicina tradicional. Tal como menciona Buitrón (30), el uso de plantas para medicina farmacológica va en un significativo aumento, debido a que es una valiosa materia prima, con menor costo de procesamiento, menores efectos secundarios y de fácil accesibilidad.

Entre los estudios se encuentra el de Peedikayi et al (23), es una investigación in vivo sobre la eficacia bacteriana del aceite de coco y la clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* en 50 niños por 30 días demostrando que el enjuague a base de aceite de coco es tan eficiente como el de clorhexidina, sin embargo la limitación fue el número de muestra y el no poder asociar directamente el efecto con la bacteria *Streptococcus mutans*.

Por lo anteriormente descrito es que se fundamenta la presente investigación, además que de acuerdo a la metodología establecida por Lakade et al (31), se plantea determinar a nivel in vitro el efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, para lo cual se necesita colocar en contacto directo la bacteria con el producto natural para identificar el efecto antimicrobiano y se comparará como punto de referencia

con la clorhexidina, sustancia de potente acción antibacteriana, actúa sobre las bacterias gram negativa y gram positiva, reduciendo los patógenos bucales, al comparar el efecto del aceite de coco con este producto antimicrobiano se comprobará si es positiva la respuesta sobre el microorganismos. Por esta razón surgió la siguiente interrogante en la investigación:

¿Presenta efecto inhibitorio el aceite de coco sobre la cepa de Estreptococo mutans ATCC25175 al comparar con la clorhexidina al 0,12%?

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo General

Determinar el efecto inhibitorio del aceite de coco a diferentes concentraciones sobre las cepas de Estreptococos mutans ATCC25175 mediante estudio in vitro y en comparación con el efecto producido por la clorhexidina al 0.12%.

2.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto inhibitorio del aceite de coco sobre cepas de estreptococos mutans ATCC25175 a la concentración de 100%
- Determinar el efecto inhibitorio del aceite de coco sobre cepas de estreptococos mutans ATCC25175 a la concentración de 75%
- Determinar el efecto inhibitorio del aceite de coco sobre cepas de estreptococos mutans ATCC25175 a la concentración de 50%.
- Comparar el efecto inhibitorio del aceite de coco a las diferentes concentraciones evaluadas y con respecto a la clorhexidina al 0,12%.

2.2 HIPÓTESIS

2.2.1 Hipótesis de investigación, H1

- El aceite de coco presenta efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococcus mutans* mediante el estudio in vitro.
- El aceite de coco presenta igual o mayor efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococo mutans* que la clorhexidina al 0.12%.

2.2.2 Hipótesis nula, Ho

- El aceite de coco NO presenta efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococo mutans* mediante el estudio in vitro.
- El aceite de coco presenta MENOR efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococo mutans* que la clorhexidina al 0.12%.

CAPÍTULO III

3.1 METODOLOGÍA

3.1.1 Tipo de investigación

La presente investigación se considera de tipo experimental in vitro, debido a que se utilizó un modelo experimental de cultivo de microorganismos en un laboratorio con las condiciones requeridas para la investigación. En tal sentido, se aplicó el aceite de coco sobre un cultivo de cepas ATCC25175 de *Streptococos mutans*, con la intención de identificar el efecto inhibitorio mediante la medición de halos de inhibición, se realizó el mismo procedimiento con la clorhexidina al 0,12%, para definir si existe efecto antimicrobiano del aceite de coco y la eficacia en relación a la clorhexidina al 0,12%.

3.1.2 Población de estudio y muestra

Población: La población está conformada por un número infinito de bacterias de la cepa *Streptococos mutans* ATCC25175.

Tamaño y selección de la muestra: La muestra fue seleccionada de forma no probabilística, de acuerdo a la conveniencia de la investigación y considerando los criterios de inclusión y exclusión, es decir sin aleatorización equitativa.

3.2 Criterios de inclusión y exclusión

3.2.1 Criterios de inclusión

- Cepas de *Streptococos mutans* ATCC25175 puras sin contaminación
- Muestra de aceite de coco a las concentraciones de 100%, 75% y 50%

3.2.2 Criterio de exclusión

- Cepas de *Streptococos mutans* ATCC 25175 con contaminación durante el procedimiento experimental.
- Cajas Petri con defectos de fabricación
- Aceite de coco con presencia de agua o contaminantes que altere el efecto sobre la cepa *Streptococos mutans* ATCC 25175.

3.3 Variables

3.3.1 Conceptualización de las variables

Variables independientes

- Aceite de coco: Aceite extraído de *Cocos nucifera*.

Variable dependiente

- Inhibición de *Streptococcus mutans*: Microorganismo unicelular con movilidad propia, que fomenta el desarrollo cariogénico dental. (5)

Variable interviniente

- Clorhexidina al 0,12%: Es un agente antimicrobiano que desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas (34).
- Agua destilada: Agua (H₂O) sin impurezas ni iones (32).

3.4 Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	CLASIFICACIÓN	INDICADOR CATEGÓRICO	ESCALAS DE MEDICIÓN
ACEITE DE COCO	Aceite extraído del <i>Cocos nucifera</i> (33).	Independiente	Cuantitativa	Concentración del aceite de coco 100% 75% 50%	Nominal 1 2 3
GLUCONATO DE CLORHEXIDINA	Es un agente antimicrobiano que desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas, en este estudio será el control positivo (34).	Independiente	Cuantitativa	Concentración 0,12%	Nominal 1
INHIBICIÓN ESTREPTOCOCOS MUTANS	Tipo de microorganismo unicelular con movilidad propia, que fomenta el desarrollo cariogénico dental, que se determina a través del halo de crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> y se determina el efecto antimicrobiano (5) .	Dependiente	Cuantitativa	Diámetro de halo de inhibición Resistente o no inhibición (R) Sensible o inhibición (S)	Ordinal mm <ul style="list-style-type: none">• R < 8 mm el halo de inhibición.• S > 8 mm el halo de inhibición (35).
AGUA DESTILADA	Agua (H ₂ O) sin impurezas ni iones (32).	Interviniente	Cuantitativa	Cantidad de agua destilada usada para impregnar los discos de papel	Nominal 1

Fuente: elaborado por la investigadora

3.5 Procedimientos y técnicas

3.5.1 Materiales y métodos

3.5.1.1 Elaboración del aceite de coco.

Se realizó de manera casera y se refinó en la Facultad de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas. Los materiales y reactivos utilizados fueron:

- Coco maduro y seco
- Guantes de manejo
- Mascarilla
- Gorro
- Olla esterilizada en autoclave
- Cocina eléctrica,
- Cuchillo grande
- Licuadora
- Embudo,
- Tijera
- Colador
- Recipiente plástico
- Agua destilada tibia
- Refrigerador
- Frasco de vidrio transparente
- Frascos pequeños de vidrio ámbar
- Dimetilsulfoxido

Procedimiento

Se utilizó 2 cocos maduros y secos adquiridos en el mercado de Santa Clara (Quito-Ecuador), se lavó con abundante agua y una vez limpio se procedió a perforar los poros de germinación del fruto para retirar el agua (Figura 2).



Figura 2. Coco maduro
Fuente: Autora

Se abrió los cocos, se retiró la cascara con un cuchillo y se cortó la pulpa o copra en pequeños trozos (Figura 3)



Figura 3. Trozos de la pulpa del coco
Fuente: Autora

Luego se mezcló la pulpa con el agua del propio coco en la licuadora hasta que se formó una pasta. (Figura 4)



Figura 4. Trituración de trozos de coco (pasta)
Fuente: Autora

Exprimimos esta pasta en un recipiente plástico, separando la leche de coco (Figura 5).



Figura 5. Exprimir la pasta
Fuente: Autora

Se procedió a dejar el recipiente en un lugar oscuro durante aproximadamente 48 horas para su fermentación (Figura 6).



Figura 6. Leche de coco
Fuente: Autora

Se colocó en el refrigerador, donde el aceite de coco y la pulpa formaron una capa sólida en la parte superior; luego se retiró la mezcla sólida de aceite y pulpa (Figura 7).



Figura 7. Capa sólida
Fuente: Autora

Por último se calentó en una olla metálica de acero inoxidable a baja temperatura removiendo constantemente hasta que quedo el aceite; se filtró en un tamiz para separar el aceite de la pulpa (Figura 8).



Figura 8. Separación del aceite de la pulpa
Fuente: Autora

Su conservación fue en el refrigerador por 48 horas (Figura 9).



Figura 9. Aceite de coco

Fuente: Autora

Finalmente se realizó la ozonificación del aceite en el laboratorio para purificarlo y se preparó las diluciones con dimetilsulfóxido para obtener las concentraciones al 75% y 50% en la Facultad de Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE) (Figura 10) (Figura 11).

Para alcanzar las concentraciones de estudio se realizan las siguientes diluciones:

- La primera concentración es pura al 100%
- Para la segunda concentración de 75%, se tomaron 0,75 ml de aceite de coco y 0,25 ml de dimetilsulfóxido.
- Para la tercera concentración de 50%, se tomaron 0,50 ml de aceite de coco y 0,50 ml de dimetilsulfóxido.

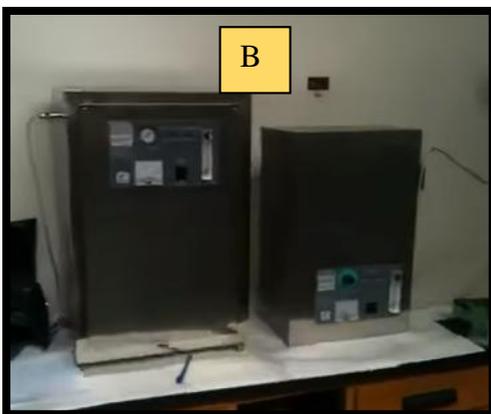


Figura 10. Ozonificador Fuente: Autora



Figura 11. Concentraciones de aceite de coco
Fuente: Autora

3.5.1.2 Ensayo microbiológico

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Los materiales y reactivos utilizados fueron:

- Incubadora
- Muestra biológica cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC25175
- Cajas Petri de 90x15mm
- 12 medios de cultivo de Agar sangre de cordero 5%
- Micropipeta desechable
- Pinza estéril
- Mechero
- Guantes estériles
- Mascarilla
- Gorro desechable
- Discos blancos de papel filtro de 6 mm estériles
- Asa bacteriológica
- Tubo de ensayo
- Hisopos estériles
- Cámara de Bioseguridad
- Autoclave
- Toallas de papel desechables

- Marcador azul
- Suero fisiológico
- Agar tripticasa soya
- Clorhexidina
- Aceite de coco al 100%, 75% y 50%.

3.5.1.2.1 Obtención de la cepa bacteria para el estudio

La cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™ (Figura 12), fue adquirida mediante la empresa importadora Medibac, en estado liofilizado y almacenada a bajas temperaturas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador.



Figura 12. Cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™
Fuente: Autora

3.5.1.2.2 Método de difusión en disco Kirby – Bauer (CLSI)

El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), denominado previamente Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS), es una organización delegada de publicar guías de laboratorio estandarizadas para su

uso internacional consensuada. El CLSI en su documento M2-A7 recomienda el protocolo descrito por Kirby – Bauer como referencia para las pruebas de sensibilidad por difusión en disco (36) .

3.5.1.2.3 Activación de la Cepa Bacteriana

La activación de la cepa fue realizada siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante y con el uso de las Normas Generales de Bioseguridad de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, el cual está basado en el informe del Manejo de los desechos infecciosos para la red de servicios de salud en el Ecuador (37).

La cepa bacteriana de estreptococo mutans viene en un estado liofilizado, un depósito de líquido hidratante y un hisopo de inoculación. (Figura 13).



Figura 13. Cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™

Fuente: Autora

Para la activación de la cepa bacteriana se abrió el empaque, donde se encontraba el dispositivo, se presionó la parte superior del dispositivo donde se encuentra el depósito del líquido hidratante para de esta manera obtener la cepa diluida, una vez realizado esto siguiendo la recomendación de Adesola et al (38) y de las Normas de de la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana del NCCLS, actualmente CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (39), abrimos el tubo y con el

hisopo de inoculación procedimos a transferir este contenido a 10 ml de Agar Soya, en condiciones estériles y se lo dejó en la incubadora a 37°C por 24 horas.

Transcurrido este tiempo se observó un crecimiento de la bacteria en el tubo de ensayo. Se procedió a tomar con un hisopo estéril un poco del cultivo y se sembró en una caja Petri con Agar Sangre para confirmar su activación, mediante técnica de diseminación, se llevó a la incubadora, por 24h y se observó la formación de colonias jóvenes de streptococcus mutans, con las que se trabajó en este estudio de investigación (Figura 14) (Figura 15).



Figura 14. Activación de la cepa de Streptococcus mutans ATCC® 25175™
Fuente: microbiologics.com



Figura 15. Crecimiento de la cepa (para la suspensión de estandarización)
Fuente: Autora

3.5.1.2.4 Preparación de la Suspensión bacteriana

Se tomó parte de la siembra de streptococcus mutans, que creció en un medio Agar Sangre, con un hisopo y se la traslado a un tubo de ensayo con suero fisiológico, donde se la comparo con una solución estándar de turbidez McFarland 0.5, que es utilizada en casos de pruebas de sensibilidad para estandarizar la concentración de la cepa bacteriana. Se comparó la turbidez de la suspensión, con la del prototipo original en un fondo blanco con líneas negras, la turbidez debe ser parecida en los dos tubos de ensayo. Con esta prueba se obtuvo una suspensión homogénea de la cepa bacteriana (figura 16).

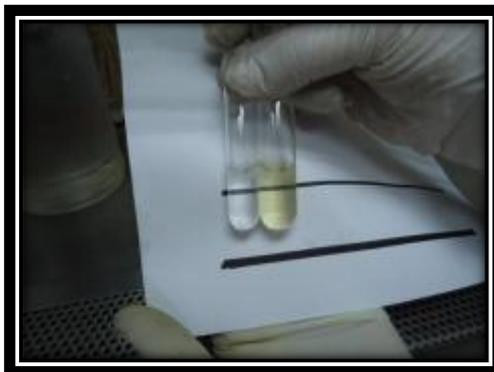


Figura 16. Solución estándar de turbidez McFarland

Fuente: Autora

3.5.1.2.5 Siembra de la suspensión bacteriana en las cajas petri

Primero se rotularon las cajas Petri con el medio de cultivo Mueller Hinton enriquecido con un 5% de sangre (agar sangre). Con un hisopo se tomó la suspensión bacteriana estandarizada y se sembró en cajas de este agar, mediante técnica de diseminación (figura 18) realizándose estriaciones en tres diferentes direcciones para poder repartir la bacteria por toda la superficie del agar. Este procedimiento se lo realizó en una cámara de seguridad biológica (flujo laminar) para evitar cualquier tipo de contaminación (figura 17).



Figura 17. Cámara de seguridad biológica
Fuente: Autora



Figura 18. Técnica de diseminación
Fuente: Autora

3.5.1.2.6 Colocación de los discos con aceite de coco

Para realizar la prueba de sensibilidad se inició embebiendo discos de papel con las diluciones de aceite de coco (50, 75 y 100%). Se colocó mediante una pipeta la cantidad 20 microlitros en cada disco. Además, se realizó el control positivo con la clorhexidina al 0,12% y el control negativo con agua destilada en cada caja Petri. Los discos de papel, embebidos en las distintas concentraciones, fueron colocados en las cajas Petri con ayuda de una pinza estéril (figura 19).

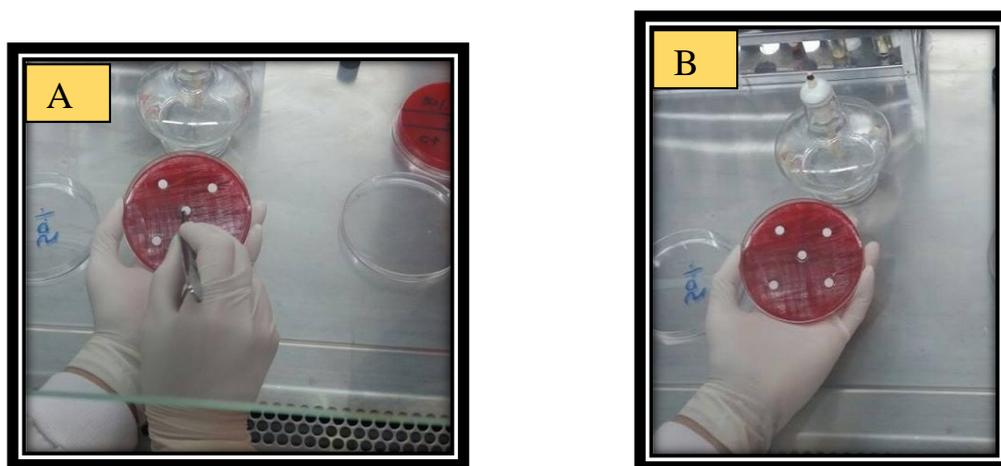


Figura 19. Colocación de discos embebidos con las respectivas concentraciones de aceite de coco
Fuente: Autora

3.5.1.2.7 Incubación de la placa

Para el estudio se consideró las condiciones de anaerobiosis, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y CO_2 al 5%; y así lograr una adecuada incubación de los microorganismos, colocando las cajas Petri en la jarra de Gaspack (figura 20). Los resultados obtenidos fueron leídos mediante las mediciones de los halos de inhibición a las 24 horas de incubación (figura 21). Para verificar la inhibición de las diferentes concentraciones 100%, 75% y 50% del aceite de coco, y la clorhexidina al 0,12% (control positivo) y agua destilada (control negativo), se midió con un pie de rey el halo que formó alrededor del disco (figura 22) y se estableció según Cedamano y Mejía (35), la inhibición de la bacteria por el producto en base a la siguiente escala:

- Resistente o no inhibido < 8 mm el halo de inhibición.
- Sensible o inhibido > 8 mm el halo de inhibición



Figura 20. Incubación de la cepa bacteriana en la jarra de Gaspack
Fuente: Autor

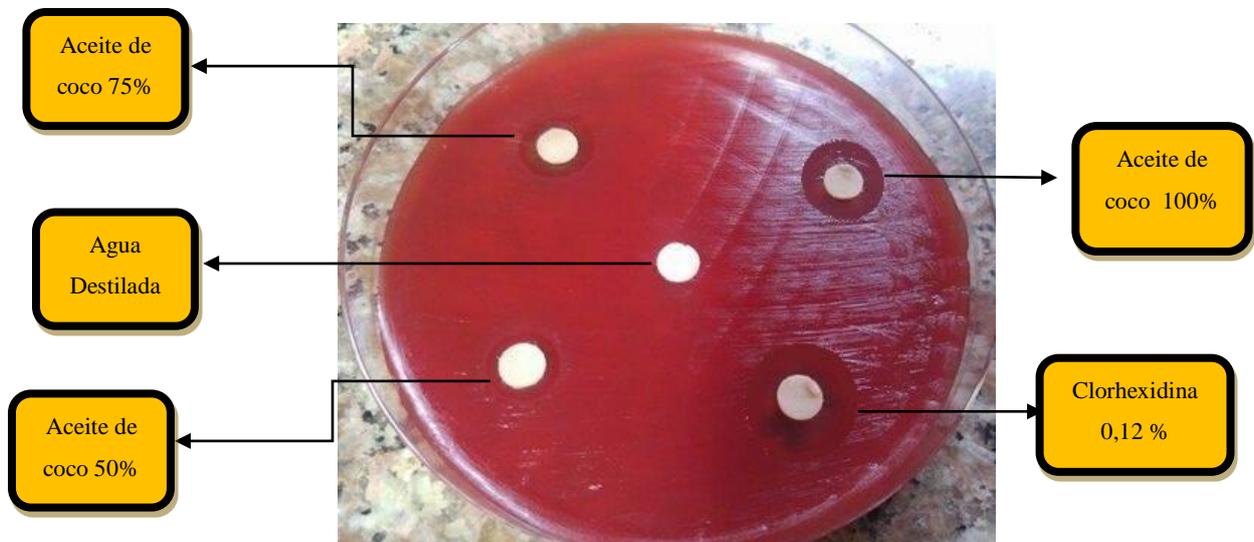


Figura 21. Halos de Inhibición
Fuente: Autor



Figura 22. Medición de los halos de inhibición con pie de rey
Fuente: Autor

3.5.1.2.8 Eliminación de Desechos

Por último posterior a la medición de los halos de inhibición se procedió a la recolección interna de desechos, con el permiso ya solicitado a la coordinadora general de clínicas Dra. Marina Dona, se colocaron las 12 cajas Petri en el autoclave (figura 23) para ser esterilizadas (figura 24), luego se colocó en fundas para desechos infecciosos señalando que es un desecho altamente contaminante, finalmente se procedió al almacenamiento temporal para su posterior disposición final (figura 25).



Figura 23. Autoclave
Fuente: Autor



Figura 24. Esterilización de cultivos
Fuente: Autor



Figura 25. Eliminación de desechos altamente infecciosos
Fuente: Autor

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la inhibición de crecimiento bacteriano que produce el aceite de coco sobre cepas de *Streptococcus mutans*, aplicando el método de difusión en disco de Kirby – Bauer. Una vez obtenidos los resultados de la medición de halos, estos fueron procesados mediante el programa de Excel 2013, para obtener la media y la desviación estándar de cada tratamiento.

4.1 Resultados

Tabla 2. Resultados de la medición de los halos de inhibición

Caja No.	Aceite de coco Halo de inhibición (mm)			Clorhexidina Halo de inhibición (mm)	Agua destilada Halo de inhibición (mm)
	100%	75%	50%		
1	12.6	10.9	11.6	13.7	6
2	12.8	12.7	11.7	13.4	6
3	12.8	11.9	10	16	6
4	13	11.8	11.4	15.8	6
5	13.4	12	11.3	15.9	6
6	12.7	12	10.9	17.9	6
7	12.8	12	11.1	14.7	6
8	12.8	11.8	10.7	16.4	6
9	13.1	12.2	11.1	16.7	6
10	13	12.2	10.8	15.2	6
11	12.9	12.2	11,4	14.1	6
12	13.1	12.8	11.5	15.5	6

Fuente: Investigación

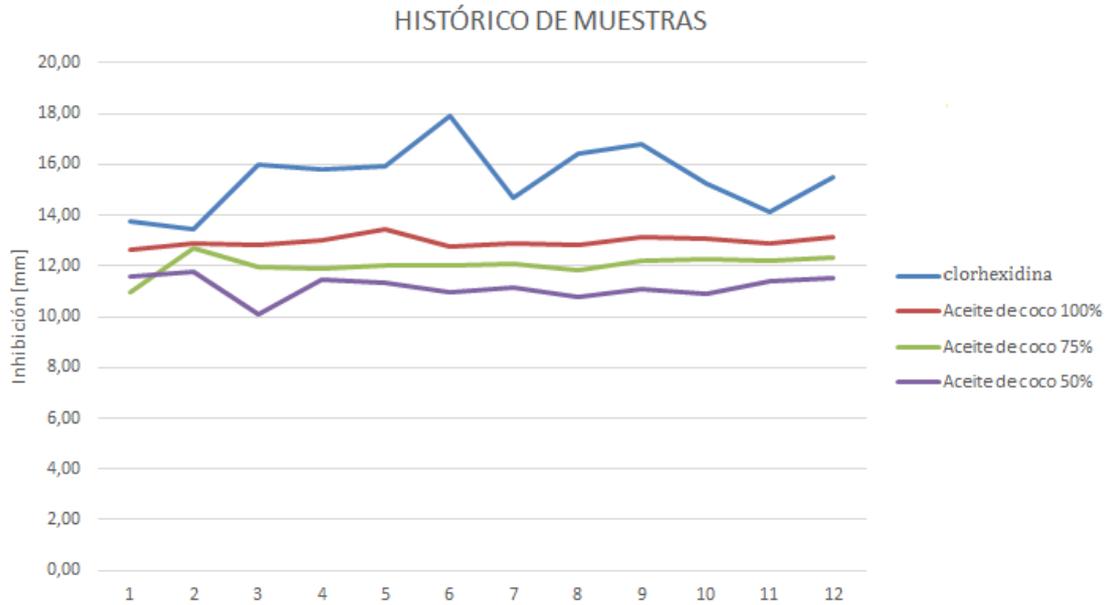
Elaboración: Autora

Tabla 3. Análisis estadístico de los resultados de la medición de los halos de inhibición

AGUA DESTILADA		CLORHEXIDINA		ACEITE DE COCO 100%		ACEITE DE COCO 75%		ACEITE DE COCO 50%		
Inhibición [mm]	Área de inhibición [mm ²]	Inhibición [mm]	Área de inhibición [mm ²]	Inhibición [mm]	Área de inhibición [mm ²]	Inhibición [mm]	Área de inhibición [mm ²]	Inhibición [mm]	Área de inhibición [mm ²]	
6	113,097	13,77	595,686	12,66	503,521	10,97	378,062	11,61	423,462	
6	113,097	13,44	567,477	12,87	520,364	12,71	507,506	11,75	433,736	
6	113,097	16,00	804,248	12,80	514,719	11,98	450,883	10,07	318,573	
6	113,097	15,81	785,260	13,00	530,929	11,89	444,134	11,44	411,152	
6	113,097	15,92	796,225	13,44	567,477	12,03	454,654	11,37	406,135	
6	113,097	17,90	1006,598	12,79	513,915	12,00	452,389	10,98	378,752	
6	113,097	14,72	680,268	12,88	521,267	12,09	459,126	11,18	392,513	
6	113,097	16,45	849,737	12,81	515,468	11,85	440,925	10,77	364,293	
6	113,097	16,79	885,637	13,12	541,000	12,22	469,011	11,10	386,977	
6	113,097	15,23	728,273	13,09	538,409	12,27	473,069	10,88	371,695	
6	113,097	14,14	627,784	12,92	524,665	12,20	467,398	11,40	408,522	
6	113,097	15,52	756,243	13,15	543,643	12,34	478,471	11,52	416,715	
MEDIA	6,00	113,10	15,47	756,95	12,96	527,95	12,05	456,30	11,17	392,71
DESVIACIÓN	-	-	1,30	126,98	0,21	17,41	0,41	30,51	0,46	31,55
INHIBICIÓN			756,95		527,95		456,30		392,71	
EFICIENCIA			1,00		0,70		0,60		0,52	
1-EFICIENCIA			-		0,30		0,40		0,48	

Fuente: Investigación. **Elaboración:** Ing. Daniel Terán

Grafico 1: Historial de medición y tendencia lineal de cada repetición y entre tratamientos.

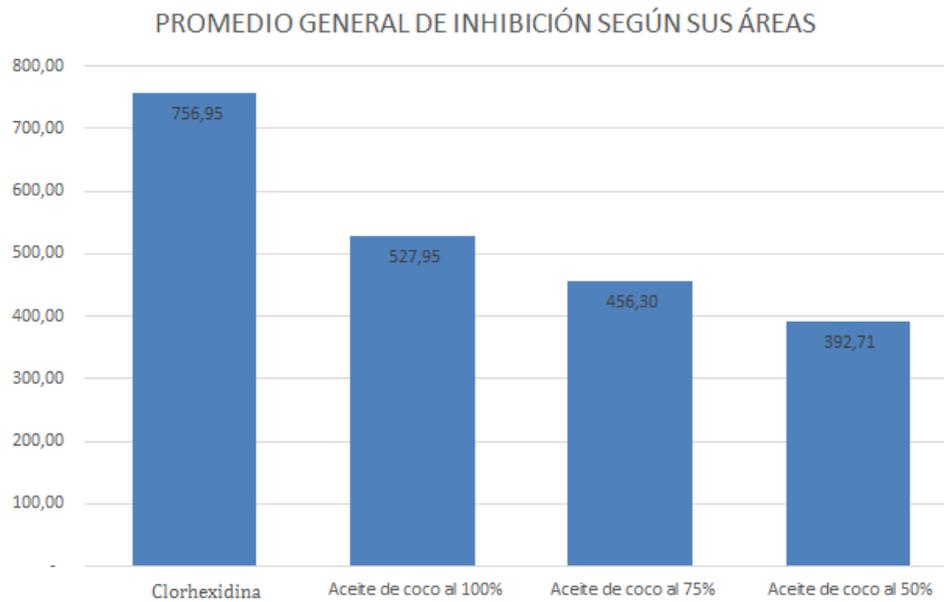


Fuente: Investigación.
Elaboración: Ing Daniel Terán

El histórico o gráfica de control, muestra uniformidad en las 12 medidas de cada concentración, permitiendo apreciar lo siguiente:

- La línea en color azul es la clorhexidina, y siempre está por encima de las demás muestras; esto significa que su efecto inhibitor es más alto que el aceite de coco en cualquiera de sus concentraciones.
- La línea en color rojo, representa las 12 muestras de aceite de coco con concentración del 100%; está por debajo de la clorhexidina y por encima de las demás concentraciones de coco; por tanto, a mayor concentración de aceite coco mayor es la inhibición; sin embargo, su punto de saturación (concentración al 100%) no puede igualar la eficiencia de la clorhexidina.
- Las líneas en verde y lila, representan concentraciones de aceite de coco al 75% y 50% respectivamente. Al estar por debajo de las muestras anteriores, se ratifica el punto anterior.

Grafico 2: Medias de los halos por cada tratamiento



Fuente: Investigación.

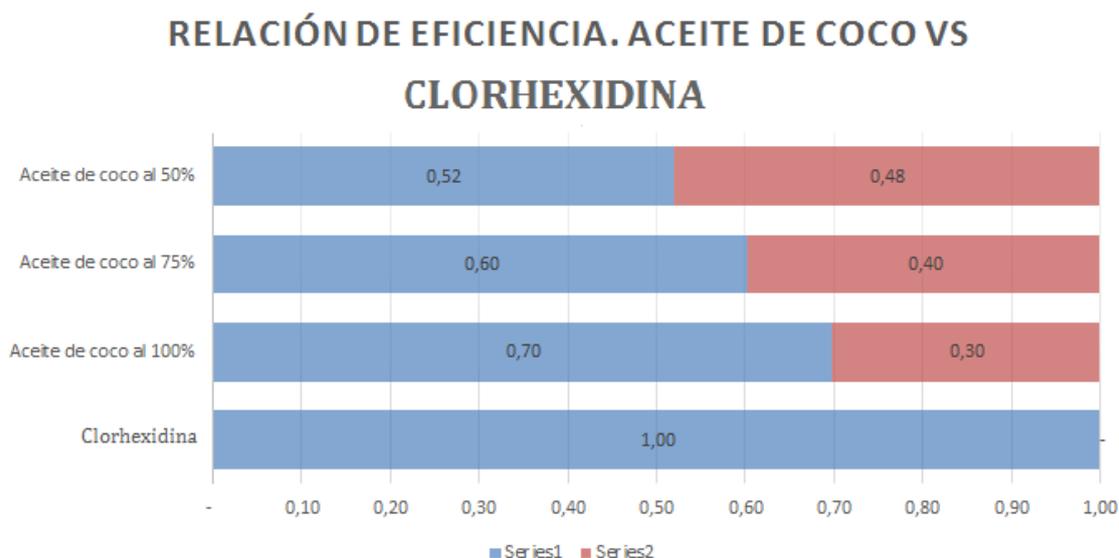
Elaboración: La autora

El gráfico de barras representa los promedios medidos en áreas de inhibición; si bien esta se mide en milímetros, debe recordarse que la forma física en la que se aprecia su efecto inhibitor es de una circunferencia, por tanto, dicho efecto debe ser medido en la totalidad de su superficie, para lo cual, aplica la fórmula: $(\pi \cdot (d/2)^2)$, donde “d” representa la distancia en milímetros medidas en laboratorio.

Los promedios conglomeran un resultado general de las 12 mediciones, agrupadas para cada concentración, y ratifican la tendencia apreciada en el Histórico de Muestras.

Se aprecia que la clorhexidina es más eficiente en área de acción que cualquier concentración de aceite de coco, y que, para los estudios en concentración de aceite de coco, a mayor concentración, mayor es su eficiencia inhibitor.

Grafico 3: Comparación de porcentajes de inhibición entre tratamientos y el control positivo.

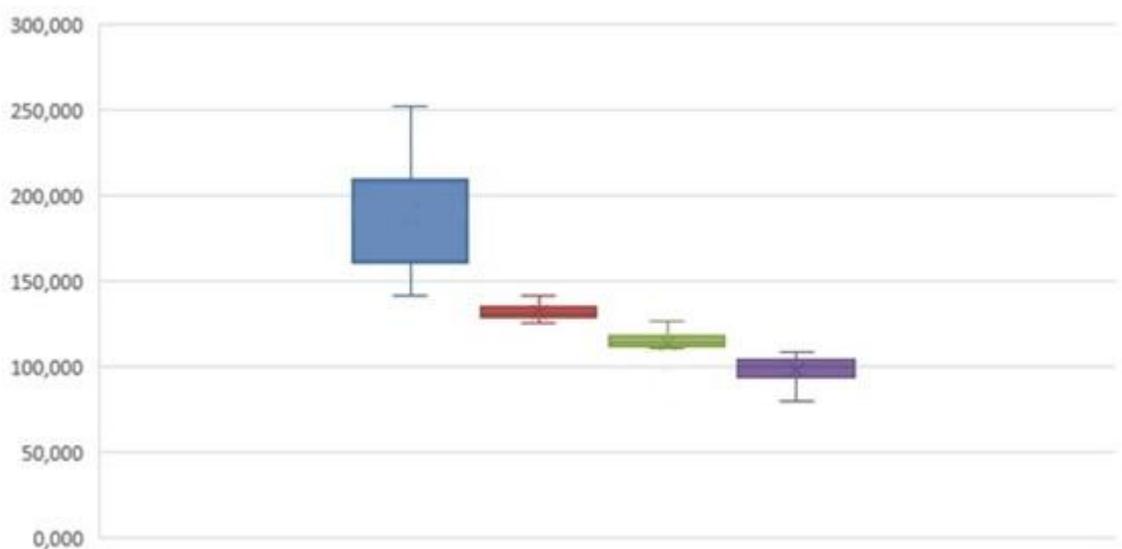


Fuente: Investigación.
Elaboración: Ing. Daniel Terán

Por medio de esta imagen, se puede comparar la eficiencia de cada concentración de aceite de coco, con respecto a la clorhexidina.

- Siendo la clorhexidina la de mayor efecto inhibitor, su eficiencia es 1, o 100%, ya que se está comparando con ella misma, sin embargo, téngase en cuenta que su efecto inhibitor cuantificado se muestra en la gráfica de promedios generales.
- El Aceite de coco al 100%, tiene una eficiencia del 70% comparado con la clorhexidina; esto significa que elimina 30% menos de bacterias en la misma área de acción.
- El Aceite de coco al 75%, elimina 40% menos bacterias que la clorhexidina, que equivale a decir que su eficiencia es del 60%
- De manera similar, el aceite de coco al 50% presenta una eficiencia del 52%.

Grafico 4: Comparación de eficiencia entre los tratamientos y el control, positivo.



Fuente: Investigación.
Elaboración: Ing. Daniel Terán

El Boxplot mostrado en la figura se utiliza para analizar la concentración y dispersión de datos.

- La clorhexidina (celestes), tiene una media más arriba que las concentraciones de coco, significando que su inhibición es más alta, sin embargo obsérvese que su caja es la más grande de todas, lo cual implica que su dispersión es mayor; es decir: los resultados medidos con clorhexidina presentan los valores más imprecisos de todo el estudio. La línea horizontal por encima de la cruz representa que los datos varían menos hacia arriba, que traducido al estudio describe que es más probable que su eficiencia de inhibición por valores debajo de la media, son los menos predecibles.
- Las concentraciones de coco al 100% (rojo) 75% (verde) y 50% (lila) tienen cajas más estrechas, significando que sus mediciones son más precisas y predecibles; además las medias están muy cercanas a las medianas, implicando que los datos tienen distribución homogénea.

Pruebas de Hipótesis

Considerando que la cantidad de muestras son 12 para cada concentración analizada incluyendo la clorhexidina; se utiliza el análisis estadístico por distribución tipo “T” para pequeñas muestras, donde aplica la ecuación:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

Para el estudio, se considera una significancia del 0.05 o 5%, y la distribución tiene una sola cola.

X.- Media de las muestras para poblaciones desconocidas

u.- Media conocida de la población (comparación)

s.- desviación de las muestras

n.- número de muestras

- Hipótesis 1: El aceite de coco presenta efecto inhibitorio sobre la cepa de Streptococcus mutans; por tanto. H1: Inhibición > 6; HO Inhibición ≤ 6 (comparado con la inhibición de agua destilada). El valor “t” bajo la fórmula mencionada es de 113.52, y el límite de rechazo para la significancia es de 1.796; por tanto la hipótesis se acepta (t>p). El aceite de coco sí presenta efecto inhibitorio.
- Hipótesis 2: El aceite coco presenta mayor efecto inhibitorio comparado con la clorhexidina; por tanto. H1: Inhibición ≥ 15.47; HO: Inhibición < 15.47. El valor t en la fórmula es igual a -40.94, y el límite de rechazo de hipótesis en la significancia es de 1.796; por tanto la hipótesis se rechaza (t<p). La clorhexidina es más eficiente que el aceite de coco.

Estadística comparativa entre las concentraciones de aceite de coco

De modo que se pueda determinar si existen diferencias significativas en la inhibición de las concentraciones de coco en estudio; con una misma significancia del 0.05, se utilizan las medias y desviaciones estándar obtenidas para cada caso. Existen 3 comparaciones, y por tanto 3 hipótesis que deben plantearse para determinar si las diferencias en su concentración son significativas; donde “x” denotará la concentración del 100%, “y” concentración al 75% y “z” concentración al 50%

- Aceite de coco al 100% VS Aceite de coco al 75%; Ho: $u_x - u_y = 0$, Ha: $u_x - u_y \neq 0$
- Aceite de coco al 75% VS Aceite de coco al 50%; Ho: $u_y - u_z = 0$, Ha: $u_y - u_z \neq 0$
- Aceite de coco al 100% VS Aceite de coco al 50%; Ho: $u_x - u_z = 0$, Ha: $u_x - u_z \neq 0$

Hipótesis:	Ho: $u_x - u_y = 0$	Ho: $u_y - u_z = 0$	Ho: $u_x - u_z = 0$
------------	---------------------	---------------------	---------------------

	Aceite de coco 100% f(ux)	Aceite de coco 75% f(uy)	Aceite de coco 75% f(uy)	Aceite de coco 50% f(uz)	Aceite de coco 100% f(ux)	Aceite de coco 50% f(uz)
Media	12.96	12.05	12.05	11.17	12.96	11.17
Desviación estándar	0.21	0.41	0.41	0.46	0.21	0.46
Total de muestras	12	12	12	12	12	12
Diferencia de medias	0.92		0.87		1.79	
Error estándar	0.13		0.18		0.15	
Prueba estadística	6.86		4.91		12.26	
Significancia	0.05		0.05		0.05	
p	1.7171		1.7171		1.7171	
Conclusión	Se acepta la hipótesis		Se acepta la hipótesis		Se acepta la hipótesis	

En virtud a los valores de p se evidencia que no existe diferencia significativa en el efecto inhibitorio de las tres concentraciones de aceite de coco investigadas.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

En el presente estudio se pudo obtener datos acerca de la actividad inhibitoria que tiene el aceite de coco sobre una de las bacterias más importantes y de mayor prevalencia denominada *Streptococos Mutans* que genera la producción de ácido y que conlleva a la desmineralización de los dientes, fomentando la destrucción de los tejidos duros dentales y provocando la enfermedad conocida como caries por lo que en los últimos años se ha buscado incentivar mediante nuevos estudios como una alternativa preventiva que nos ayude al control y disminución de este patógeno.

Por este motivo se ha demostrado que el aceite de coco a diferencia del resto de los aceites este contiene ácidos grasos y saturados con ácido láurico, el cual posee propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas. Además que la aplicación del aceite de coco presenta mayor efectividad que los productos sintéticos, por la capacidad de minimizar las consecuencias, actuando como elemento inhibidor del *Streptococos mutans*, como principal bacteria involucrada en la generación de la caries dental.

Estudios realizados por Richani (2015), Evaluó el efecto inhibitorio del aceite de coco comercial de marca FIS sobre cepas de *Streptococos mutans* cuyos halos de inhibición fueron entre 9 a 10 mm presentando así poder antibacteriano que posee. En nuestro estudio de investigación se realizó el aceite de coco casero, en el cual se ocupó un diluyente para obtener diferentes concentraciones de 50%, 75% y 100% que es el aceite puro, cuyos resultados promedio de inhibición fueron de 12,96 mm para el 100% de concentración, 12,05 mm al 75% de concentración y 11.17 mm al 50% de concentración lo que evidencia que el *Streptococos mutans* resulta ser “Sensible o inhibido” al presentar halos de inhibición mayores a 8 mm según la escala establecida por Cedamano y Mejía (35), así mismo las pruebas de hipótesis demuestran que el aceite de coco evidencia efecto inhibitorio, sin demostrar diferencias significativas en el efecto producido por las tres concentraciones, dichos resultados de la presente investigación sustentan lo referido con el estudio de Richani. En este sentido, se comprueba nuestra hipótesis de investigación, por lo tanto el aceite de coco presenta efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococos mutans* demostrado mediante el presente estudio in vitro (25).

Otros estudios realizados por Beena y Faizal (2016), Compararon la actividad antimicrobiana del aceite de coco y de la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Candida*

albicans aisladas de pacientes niños cuya zona media de inhibición para la clorhexidina al 0,12 % fue de 21.8 mm, mientras que para el aceite de coco fue de 16.8 mm, cuyos resultados concuerdan con el presente estudio ya que corrobora los efectos adquiridos (40).

Silalahi (2014), Evaluó la actividad antibacteriana del aceite de coco virgen hidrolizado en 4 cepas bacterianas que fueron *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Propionibacterium acnes*, a diferentes concentraciones y cuyos halos de inhibición fueron de: al 25%: 8.78mm, 50%: 10.18mm y 75%: 11.35mm siendo la *Pseudomonas aeruginosa* la que presentó mayor efecto inhibitorio. En la presente investigación se realiza con aceite de coco casero cuya mayor concentración que es al 100% presentó un resultado de 12,96mm frente al *Estreptococos Mutans* (41).

Estudios in vitro realizados por Rajan (2016), determinó la actividad antimicrobiana del agua de coco y aceite de coco en 50 especies de *Candida*. El aceite de coco y el agua de coco fueron purificados mediante un método de filtración siendo el aceite de coco totalmente puro es decir al 100% mientras que el agua de coco se diluyó en tres concentraciones diferentes: 100%, 50% y 25% cuyos resultados de los halos de inhibición fueron: al 100% del aceite de coco sin diluir se obtuvieron halos entre 12 - 16mm mientras que el agua de coco al 100% mostraron inhibición menos de 5mm y al 50% y al 25% de la concentración de agua de coco no hubo una zona de inhibición de las especies de *Candida*. En este estudio se ha demostrado una actividad inhibitoria por parte del aceite de coco contra las especies de *Candida*. (42).

En nuestro estudio a pesar de ser un aceite casero se realizaron diluciones para obtener distintas concentraciones, el cual se comprobó que si hubo un efecto inhibitorio frente al *Streptococo mutans* a pesar de que en el análisis estadístico nos indica que existe diferencias significativas entre la eficacia inhibitoria producida por la clorhexidina en relación al aceite de coco en las tres concentraciones analizadas, se acepta la hipótesis nula H_0 , es decir, el aceite de coco presenta MENOR efecto inhibitorio sobre la cepa ATCC25175 *Streptococo mutans* que la clorhexidina al 0.12%.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. El aceite de coco a diferentes concentraciones presenta efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 mediante estudio in vitro y en comparación con el efecto producido por la clorhexidina al 0.12%.
2. Las medias de los halos de inhibición arrojados en el presente estudio dieron como resultado para la clorhexidina 15.47 mm, aceite de coco al 100% 12.96 mm, aceite de coco al 75% 12.05 mm y aceite de coco al 50% 11.17 mm.
3. La clorhexidina presentó el esperado efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*, produciendo un halo de inhibición promedio de 15,47 mm, se observó que el microorganismo presenta significativamente mayor sensibilidad frente a la clorhexidina al 0,12% que al aceite de coco en sus tres concentraciones.
4. El *Streptococcus mutans* demostró ser sensible in vitro al aceite de coco en concentraciones al 50%, 75% y 100% observando que no existe diferencias significativas entre la inhibición producida por las tres concentraciones.

RECOMENDACIONES

- Continuar con las investigaciones, realizando ensayos, ya sea in vitro o in vivo del aceite de coco para otras bacterias patógenas de interés en Odontología.
- Realizar estudios “in vivo” que evalúen el comportamiento del aceite de coco en la cavidad oral y los posibles efectos secundarios que puedan afectar a los tejidos orales.
- Realizar estudios con un aceite de coco de marca comercial para probar su efectividad antimicrobiana
- Realizar estudios que corroboren la actividad antimicrobiana del aceite de coco obtenido de manera natural con diferentes métodos de extracción.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) de aceite de coco y la concentración mínima bactericida (CMB) frente a *Streptococcus mutans*

BIBLIOGRAFÍA

1. Serrano H, Sánchez M, Cardona N. Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. *Revista CES Odontología*. 2015; 28(2).
2. Moreno L, Moreno C, Bilbao V, Acevedo A, Felizzola O, Zerpa N, et al. Producción y evaluación in vitro de IgY contra *Streptococcus mutans*. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2011 julio-diciembre; 31(2): p. 11-123.
3. Negroni M. *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2nd ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
4. Rocha R, Lozano P, Martínez Y. *Mecanismos de Patogenicidad e Interacción : Parásito-Hospedero* Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2004.
5. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES odontol*. 2013 Junio; 26(1): p. 1-8.
6. Olmos P, Piovesan S, Musto M, Lorenzo S, Álvarez R, Massa F. Caries dental. La enfermedad oral más prevalente: Primer Estudio poblacional en jóvenes y adultos uruguayos del interior del país. *Odontoestomatología*. 2013 junio; 15(spe): p. 26-34.
7. Hoyos M, Esprella A, Saavedra C, Espinoza H. Radiología de la Caries Dental. *Revista de Actualización Clínica Investiga*. 2013 septiembre; 38(38): p. 1857-1862.
8. Miguelañez B, Pastor M, Sarría B. Estado actual de la etiología de la caries dental. Revisión bibliográfica del último año. *Foros de Patología de la URJC*. 2007;(online): p. 1-10.
9. El Desafío de Las Enfermedades Bucodentales - Una llamada a la acción global. *Atlas de Salud Bucodental*. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015. Report No.: Report No.: ISBN: 978-2-9700934-9-7.
10. Olmos P PSMMLSÁRMF. Caries dental. La enfermedad oral más prevalente Primer Estudio poblacional en jóvenes y adultos uruguayos del interior del país. , *Odontoestomatología*; 2013. Report No.: XV(Especial): p. 26-34.
11. MPS. Caries. Guías de Práctica Clínica. Informe Técnico. Ministerio de Salud Publica, Dirección Nacional de Normatización MSP; 2015. Report No.: Report No.: ISBN 978-9942-07-971-8.
12. Nuñez P GL. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*. 2010;(9(2): p. 156-166.).

13. Ortolá J, Almerich J, Forner L, Llena M. Caries radicular: actualización. *Infomed*. 2013; 1(3): p. online.
14. Duque de Estrada Riverón J PJHI. Caries Dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar.. , Facultad de Ciencias Medicas de Matanzas; 2006.
15. Gutiérrez S GDSSMJ. Caries Dental ¿Influye la genética y la epigenética en su etiología? *Univ. Odontol*; 2013. Report No.: 32(69): p. 83-92.
16. Gamboa F HBMM. Control Microbiológico sobre Streptococcus Mutans. *Universitas Scientiarium*. 2004;(9: p. 45-55).
17. Giamacan R MSCBGEFCP. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral*. 2013;(6(2): p. 71-74.).
18. Navarro I. Estudio Epidemiológico de Salud Bucodental en una Población InfantilAdolescente. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Profilaxis, Odontopediatría y Ortodoncia; 2002. Report No.: Report No.: ISBN: 978-84-693-1102-8.
19. Moye Z ZLBR. Fueling the caries proces: carbohydrate metabolism and gene regulation by Streptococcus mutans. *Journal of Oral Microbiology*. 2014;(6: p. 1-15).
20. Cañigueral S DEBA. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo?. *Lar. Am. J. Pharm*. 2003;(22(3): p. 265-277).
21. Escalona L, Tase A, Estrada A, Almaguer M. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2015 octubre-diciembre; 20(4): p. 429-439.
22. Waizel-Bucay J MI. Plantas empleadas en odontalgias I. *Revista ADM*. 2007 septiembre;(LXIV(5): p. 173-186).
23. Peedikayi F, Remy V, John S, Chandru T, Sreenivasan P, Bijapur G. Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on Streptococcus mutans: An in vivo study. *J Int Soc prevent Communit Dent*. 2016 Octubre; 6(1): p. 447-452.
24. Rivera J, Lomelí J, Román L, Vera F. Extraccion de aceite de coco a partir de la copra por medio de disolventes quimicos. *Conciencia Tecnológica*. 2001;(17): p. 1-5.

25. Richani F. Efecto del aceite de coco sobre el crecimiento del estreptococos mutants in vitro. Tesis de Grado. Bárbula: Universidad de Carabobo, Facultad de Odontología; 2015.
26. Granado D, López G. Manejo de la palma de coco (cocos nucifera L.) en México. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 2002 enero-junio; 8(1): p. 39-48.
27. Guevara L, Jaúregui D. Anatomía floral de Cocos nucifera L. (Arecaceae, Arecoideae). Acta Botánica Venezuelica. 2008; 31(1): p. 35-48.
28. Wikipedia cd. Cocos nucifera. [Online]. Available from: https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Cocos_nucifera&oldid=100078656.
29. Botanical online. Características del cocotero. Revista del Mes de Botanical. 2016;(online): p. 1-4.
30. Buitrón X. Ecuador: uso y comercio de plantas Medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación. Reino Unido: TRAFFIC Internacional ; 1999.
31. Lakade L, Shah P, Shirol D. Comparison of antimicrobial efficacy of chlorhexidine and combination mouth rinse in reducing the Mutans streptococcus count in plaque. Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry. 2014 Abril-Junio; 32(2): p. 91-6.
32. EcuRed cd. EcuRed. [Online].; 2017 [cited 2017 agosto 17. Available from: https://www.ecured.cu/Agua_destilada.
33. Malajovich M. Aceite de Copra. Biotecnologia: ensino e divulgação. 2015;(113): p. 1-4.
34. Maya J, Jamil S, Pacheco R, Valderrama S, Villegas M. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. Asociación Colombiana de Infectología. 2011; 15(2): p. 98-107.
35. Cedamanos I, Mejía E. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de Shinus molle L. “molle” sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175. Pueblo cont. 2014 julio - diciembre; 25(2): p. 39-45.
36. S C. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Manual de Procedimientos. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2005. Report No.: Report No.: ISBN 1-55581-347-X.

37. Ministerio de Salud. Manejo de los desechos infecciosos para la red de servicios de salud en el Ecuador. Quito: Ministerio de Salud de Ecuador; 2010.
38. Adesola Akinyele T, Oluranti Okoh O, Ayinde Akinpelu D, Ifeanyi Okoh A. In-Vitro Antibacterial Properties of Crude Aqueous and n-Hexane Extracts of the Husk of *Cocos nucifera*. *Molecules*. 2011 Abril; 16(3): p. 2135-2145.
39. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Normas de la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana. NCCLS; 2000.
40. Beena S, Faizal C P, Shyamala R J, Gufran AB, Soni K, Deepak J. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. *Scientifica*. 2016 Marzo 14.
41. SILALAH I , METRI PERMATA , PUTRA EDL. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HYDROLYZED VIRGIN COCONUT OIL. *ASIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND CLINICAL RESEARCH*. 2014 Febrero; 7(2).
42. Rajan PD, Sumathi G, Nasimuddin. A study on in-vitro antimicrobial activity of Coconut water and coconut oil on *Candida* Species. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016 Noviembre 26.

ANEXOS

Anexo A: Certificado de aprobación del SEISH – UCE


UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS

**EL SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
SEISH - UCE**

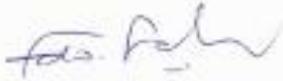
CERTIFICA:

Que conoció la evaluación realizada por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Odontología el Protocolo de Investigación presentado por el (a) señor (a), **Andrea del Carmen Torres Torres**, egresado (a) de la Facultad de Odontología, con el tema:

"Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de estreptococcus mutans. Estudio In – Vitro,"

Una vez analizados los fundamentos metodológicos, bioéticos y jurídicos del mencionado estudio, el Subcomité certifica la **VIABILIDAD ÉTICA**.

Quito, 12 de julio del 2017.


Dr. Fernando Salazar Manosalvas
PRESIDENTE




Dr. Patricia Pazán León
SECRETARIO

Gracias!!

Dirección: Ciudadela Universitaria
Junta a Consejo Universitario

Teléfono: 2904-211 / 2902-192
E-mail: comite.etica@uce.edu.ec

Anexo B: Certificado de elaboración de las diluciones de aceite de coco

Quito, 24 de julio del 2017

A QUIEN INTERESE

Yo, **BLANCA FABIOLA NARANJO PUENTE** Docente de Fitoquímica de la Carrera de Biotecnología – ESPE con CC: 0602201410

CERTIFICO QUE:

Las diluciones del extracto de "aceite de coco" que será utilizado en el trabajo de tesis de la señorita **Andrea Carmen Torres Torres** con CC: 1724581614. Serán elaboradas bajo mi responsabilidad técnica controlando los parámetros de calidad que este tipo de productos requieren.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad. La mencionada señorita puede hacer uso de este certificado como bien lo pareciere.

Atentamente



.....
Dra. Blanca Naranjo Puente

CC: 0602201410

Anexo C: Renuncia a Trabajo Estadístico

Quito, 18 de agosto del 2017

A quien corresponda:

Yo, Jorge Daniel Terán Ruales con CI 1715892913, por el presente renuncio a todos los derechos de autor y propiedad intelectual relacionado al trabajo estadístico, análisis de resultados, matriz o variables realizado en el trabajo titulado "EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCO SOBRE CEPAS DE *Streptococo mutans*. ESTUDIO IN VITRO de la señorita Andrea Carmen Torres Tomas, por lo tanto puede hacer uso del presente como a bien tuviere.

Atentamente:



Msc. Ing. Jorge Daniel Terán

Ci. 1715892913

5/18/2017
ef

Anexo D: Certificado de manejo de desechos infecciosos



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
COORDINACIÓN GENERAL DE CLÍNICAS



Oficio No. 0060 CGC-017-017
Quito, 19 de abril del 2017

Señorita:
ANDREA CARMEN TORRES TORRES
Presente.

De mis consideraciones:

En atención a su oficio, en el que solicita que se le permita eliminar los desechos infecciosos en el área destinada para este fin en las Clínicas de la Facultad, con el fin de realizar el proyecto de Investigación, requisito para su obtención del título de Odontólogo comunico a usted que el pedido está aprobado, tomando en cuenta que debe cumplir con todos los parámetros de bioseguridad para que el proceso siga sin novedades.

Comunicado que lo hago para los fines pertinentes.

Atentamente,

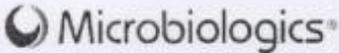
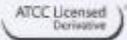


Dr. Marina Dona V.
Dra. MARINA DONA V.
COORDINADORA GENERAL DE CLÍNICAS

Patricia O.

Ciudadela Universitaria - Teléfono Directo: 2525238-PBX: 3215082-3215164 ext. 230

Anexo E: Certificado de análisis de las especificaciones del microorganismo liofilizado

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0959 Lot Number: 969-44 Reference Number: ATCC® 35668™* Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2017/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2015/11/18
Performance	
Macroscopic Features: Small, circular, white to translucent. Microscopic Features: Gram positive cocci in medium or long chains.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GP (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative  Brad Goskowitz, President AUTHORIZED SIGNATURE
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 TESTING CERT #2655.01	<small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> <p>MEDIBAC-INC S.A. Distribuidor para el Ecuador de MICROBIOLOGICS</p> </div>	

Anexo F: Activación de la cepa de acuerdo al fabricante

KWIK-STIK™ Y KWIK-STIK™ PLUS

INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un pellet liofilizado de una única cepa de microorganismo.

- 

Deje que la bolsa de KWIK-STIK™ sin abrir se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgándola por la muesca y retire la unidad KWIK-STIK™.
- 

Atranche la parte de la lengüeta de la etiqueta y péguela a la placa del cultivo primario o a la ficha de control de calidad. No desmonte el dispositivo durante la hidratación.
- 

Pelique (sólo una vez) la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco del líquido de la ampolla que se encuentra en la tapa) para liberar el líquido hidratante.
- 

Sujétela verticalmente y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido a través del eje y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del bastoncillo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el pellet.
- 

Pellicando la parte inferior de la unidad, triture el pellet en el líquido hasta que la suspensión del pellet sea homogénea.
- 

Salire a fondo **INMEDIATAMENTE** el bastoncillo con el material hidratado y transfiera al medio de agar.
- 

Inocule la placa o placas de cultivo primario pasando suavemente el bastoncillo al tiempo que la gira por un tercio de la placa.
- 

Con un lazo estéril, forme estrías longitudinales para facilitar el aislamiento de las colonias.
- 

Utilizando procedimientos de eliminación adecuados para materiales de riesgo biológico, deseché el KWIK-STIK™.
- 

Incube **INMEDIATAMENTE** la placa o placas de cultivo primario inoculado a la temperatura y en las condiciones adecuadas para los microorganismos.

Anexo G: Certificado de la realización de las pruebas microbiológicas



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**

Quito DM, 4 de agosto del 2017

Certifico que la señorita ANDREA CARMEN TORRES TORRES con cédula de identidad No. 1724581614, realizó las pruebas diagnósticas bacteriológicas en el Laboratorio Microbiológico de la Facultad de Odontología de la Universidad Central Del Ecuador en conjunto con la Licenciada Yolanda Andrade, para el estudio de su tesis con el tema "EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE DE COCO SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO IN VITRO". Dicho estudio fue realizado con las normas de calidad establecidas.

La mencionada señorita puede hacer uso de este documento como crea conveniente a sus intereses.

Atestamento,

Dr. Juan Alberto Viteri Moyá
Jefe del Laboratorio de Microbiología

Anexo H: Certificado de Traducción

SUBJECT: "Antimicrobial effect of coconut oil on *Streptococcus mutans* strains. In vitro study"

Author: Torres Torres, Andrea Cames

Tutor: B.F. María Fernanda Caicedo Bredy

Co-tutor: Dr. Jaime Humberto Luna Herrera

ABSTRACT

The coconut plant (*Cocos nucifera* L.) called the tree of life, is in the first places of the species of alimentary plants vital for the human; Due to the multiple properties that it possesses is that this research was presented with the fundamental objective of determining the antimicrobial effect of coconut oil on strains ATCC25175 of *Streptococcus mutans*, considering that this microorganism is the main cause of the formation of caries; because it is present in the dental plaque and is one of the producers of acids that erode the enamel giving rise to carious lesions. On the other hand, at the global level, there is a growing awareness of the need to use natural products in human therapeutics, which is why the World Health Organization proposed to achieve the "health for all" program, considering the importance to establish formal strategies of primary health care with traditional medicine and natural therapeutic elements of recognized utility which has been carried out in many parts of the world. The present study was carried out in vitro in the microbiology laboratory of the Faculty of Dentistry of the Universidad Central applying procedures that allowed knowing the antimicrobial effect of coconut oil by determining the degree of inhibition on strains ATCC25175 of *Streptococcus mutans*, establishing a comparison with the effect of 0.12% chlorhexidine. The results show that coconut oil at different concentrations has an inhibitory effect on strains of *Streptococcus mutans* ATCC25175, therefore the microorganism is "sensitive or inhibited" according to the scale established by Cedamano and Mejía (35), without demonstrating significant differences in the effect produced by the three concentrations. It is evidenced that the microorganism presents significantly greater sensitivity to chlorhexidine at 0.12% than to coconut oil in its three concentrations.

KEYWORDS: COCONUT OIL, *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC25175, BACTERIAL INHIBITION.

I CERTIFY that the above is a true and correct translation of the original document written in Spanish.


Leda, Indira Stewart
C.C: 1757623044
Registro Serescyt: 862183198

UMACAPACITACIÓN
CAPACITACIÓN & CONSULTORÍA
 RUC: 6601268324001
E-MAIL: umacapacitacion@ufpa.edu.ve - info_uma@ufpa.edu.ve
Sitio: www.umacapacitacion.com
Calle: Ferropedimental, FASE 2, TORO, 520156-196 - 100014600

	FORMATO PARA EXPEDIENTE DEL ESTUDIANTE	CODIGO: sb-ucb.
	AUTORIZACION DE PUBLICACION EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL <small>La información de este recuadro es para el control del registro. Favor no modificarla</small>	

Fecha de entrega:	Día: 29	Mes: 09	Año: 2017
-------------------	---------	---------	-----------

INFORMACIÓN DE AUTOR (ES)

Nombres y apellidos:	Andrea Carmen Torres Torres	C.I. o pasaporte:	1724581614
Email:	andreetorress@outlook.com	Año Nacimiento:	1990

Nombres y apellidos:		C.I. o pasaporte:	
Email :		Año Nacimiento	

Nombres y apellidos		C.I. o pasaporte:	
Email:		Año Nacimiento	

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL

Nombre de la Facultad:	Odontología		
Carrera:	Odontología		
Título a optar:	Odontólogo		
Pregrado:	<input checked="" type="checkbox"/>	Especialización:	<input type="checkbox"/>
Maestría:	<input type="checkbox"/>	Doctorado:	<input type="checkbox"/>
Institucional:	<input type="checkbox"/>	Otro:	<input type="checkbox"/>
Tutor (es):	Dra. Maria Fernanda Caicedo Breedy		

INFORMACIÓN Y CATEGORÍA DEL DOCUMENTO. Marque con X (uno o varios)

Artículo de Revista	<input type="checkbox"/>	Revista Académica / Científica	<input type="checkbox"/>
Capítulo de Libro	<input type="checkbox"/>	Tesis (Maestría y Doctorado)	<input type="checkbox"/>
Libro	<input type="checkbox"/>	Trabajo de grado (Pregrado y Especialización)	<input checked="" type="checkbox"/>
Memoria de Evento	<input type="checkbox"/>	Otro	<input type="checkbox"/>
Ponencia	<input type="checkbox"/>	Cualq	<input type="checkbox"/>
Producción Docente	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
Título y subtítulo del documento:			

DINÁMICA DE INVESTIGACIÓN (Definida por cada Facultad. Consultar con su Tutor)

Grupo de Investigación:	Microbiología
Línea de Investigación:	Microbiología
Área:	Microbiología
Tema:	Efecto antimicrobiano del aceite de coco sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i>

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Por medio de este formato manifiesto (manifiestamos) mi (nuestra) voluntad de autorizar a la Universidad Central del Ecuador, la publicación en texto completo, de manera gratuita y por tiempo indefinido en el Repositorio Digital de la Universidad Central del Ecuador, así como en índices, buscadores, redes de repositorios y Biblioteca Digital su difusión, el documento académico-investigativo objeto de la presente autorización, con fines estrictamente educativos, científicos y culturales, en los términos establecidos.

En virtud del reconocimiento y protección a los Derechos de Autor consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual en el Ecuador, de lo señalado en la Declaración de Berlín sobre el Acceso Abierto al Conocimiento en las Ciencias y Humanidades, así como del uso de Licencias de Creative Commons, indico mi decisión respecto a publicar mi (nuestro) trabajo en el Repositorio Institucional de Acceso Libre Nacional e Internacional, de la Universidad Central del Ecuador.

Como autor (autores) manifiesto (manifiestamos) que el presente documento académico-investigativo es original y se realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es de mi (nuestra) exclusiva autoría y poseo (poseemos) la titularidad sobre la misma. La Universidad de Central del Ecuador, no será responsable de ninguna utilización indebida del documento por parte de terceros, será exclusivamente mi (nuestra) responsabilidad atender personalmente cualquier reclamación que pueda presentarse a la Universidad. Autorizo (autorizamos) al Repositorio Institucional de la Universidad Central del Ecuador, convertir el documento al formato que el repositorio lo requiera (Impreso, digital, electrónico o cualquier otro conocido o por conocer) con fines de preservación documental, académico y de Investigación. Esta autorización no implica renuncia a la facultad que tengo (tenemos) de publicar posteriormente la obra, en forma total o parcial, por lo cual podré (mos), dando aviso por escrito a la Biblioteca de la Universidad Central del Ecuador, con no menos de un mes de antelación, solicitar que el documento deje de estar disponible para el público en el Repositorio Institucional de la Universidad de Central del Ecuador, así mismo, cuando se requiera por razones legales y/o reglas del editor de una revista.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Firma autor		Cédula:	1724581614
Firma autor		Cédula:	
Firma autor		Cédula:	

ESPACIO EXCLUSIVO PARA EL ASESOR O REPRESENTANTE COMITÉ EVALUADOR DE FACULTAD

Entiendo los términos en los que el autor acepta la publicación en texto completo, en especial aquellos en los que asume la autoría del documento y que excluye a la Universidad Central del Ecuador o a mi persona por cualquier reclamo o litigio de terceros, haciéndose responsable de los efectos que ello conlleva. He leído íntegramente el texto completo y evaluado este documento en su componente académico e investigativo; utilicé mecanismos de detección antiplagio y/o buscadores comerciales en línea que permiten detectar indicios de fraude académico; según los conocimientos adquiridos en mi área de especialidad profesional certifico un alto nivel de confiabilidad de autoría, que cumple con los requisitos de calidad exigidos por la Universidad Central del Ecuador para efectos de visibilidad y prestigio nacional e Internacional y por lo tanto avalo la calidad de este trabajo y su inclusión en texto completo y referencial en la Colección de Trabajos de Titulación.

AVAL DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL

Nombre tutor*	María Fernanda Caicedo Breedy	Email	fcaicedo@uce.edu.ec
---------------	-------------------------------	-------	---------------------



Firma

*Se aceptan firmas originales y/o digitales, tanto para autor(es) como para tutor (es), las cuales son requisitos indispensables para la entrega en Biblioteca.