

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORRREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

**“ADHERENCIA BACTERIANA *IN VITRO* EN DIENTES SOMETIDOS
A BLANQUEAMIENTO CON *MUSA PARADISIACA* Y PERÓXIDO DE
HIDRÓGENO AL 35%”**

AUTORA: PANTIGOZO MORÁN ÚRSULA MARIANA

ASESOR: GONZÁLEZ CABEZA JOSÉ GUILLERMO

Trujillo – Perú

2020

DEDICATORIA

A Dios, quien ha sido la luz incondicional que ha guiado mi camino y mi mayor inspirador.

A mis padres, los pilares fundamentales en mi vida y los principales promotores de mis sueños, que inculcaron en mí responsabilidad y constancia, y siempre se preocuparon por mi bienestar y mi formación personal y académica, convirtiéndose en el cimiento principal para la construcción de mi vida profesional y mi más grande ejemplo a seguir.

A mis hermanos, quienes aparte de ser mis mejores amigos, son mi mano derecha, pues han estado siempre presentes brindándome su consejo y apoyo incondicional en los retos más difíciles que me impuso esta carrera, la cual compartimos en familia junto a nuestros padres.

A mi abuelito Fito, a quien aún extraño tras su partida y sé que desde el cielo nos cuida, en especial a mi mamá. **A mi abuelito Teto,** a quien, a pesar de no haber conocido, le tengo un amor y agradecimiento infinitos por brindarme el padre de buenos valores que tengo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la vida, por bendecirme con una maravillosa familia, por brindarme salud y así poder lograr una de mis metas más anheladas y por guiar mi espíritu con sabiduría y fortaleza en la realización de este trabajo.

A mis abuelitos Fito y Teto, que descansan en paz, por haberme brindado los mejores padres que pude pedir.

A mis padres José y Julia, por forjarme como la persona que soy ahora, por permitirme compartir con ellos el amor por la misma profesión, brindándome la oportunidad de estudiar esta carrera, por su confianza plena, apoyo incondicional, sabios consejos y orientación durante todo mi tiempo de estudios, por su preocupación y paciencia en la realización de esta tesis y su motivación para alcanzar mis metas, por ser mi ejemplo más grande de tenacidad y superación, por todos sus esfuerzos y sacrificios para que yo pudiera llegar a este punto de mi vida.

A mis hermanos Fabiola y Esteban, por su ayuda desinteresada durante toda mi etapa de pregrado, por impulsarme a ser una mejor persona y profesional, por celebrar mis logros como si fuesen propios, por motivarme a no desfallecer en la culminación de mis metas, brindándome palabras de aliento cada vez que lo necesitaba, razón por la cual son parte fundamental en este logro.

Al Blgo. Dr. José Guillermo González Cabeza, por su asesoramiento en la ejecución de la parte microbiológica y redacción del presente trabajo de investigación, y por todos los conocimientos compartidos a lo largo de esta experiencia.

A la CD. Dra. Fiorella Grace Claudet Sánchez, por su orientación y supervisión en la realización y redacción de la parte experimental de la presente investigación.

A la Blga. Dra. Elva Manuela Mejía Delgado, por su coasesoría, tiempo y buena disposición en la ejecución y redacción de la parte microbiológica del presente trabajo.

Al Blgo. Dr. Cirilo Segundo Leiva González, por su tiempo, disposición y orientación en la recolección de la especie *Musa paradisiaca*, por brindarme un espacio en el Herbario Antenor Orrego, por sus conocimientos botánicos y apoyo en la redacción de la parte botánica llevada a cabo durante la ejecución de este estudio,

Al Q.F. Dr. Edmundo Arturo Venegas Casanova, por su colaboración en la preparación e identificación fitoquímica del extracto etanólico de *Musa paradisiaca*, así como su orientación en la redacción de la parte farmacognóstica de este trabajo.

A la CD. Dra. María Espinoza Salcedo, por su desinteresado apoyo, orientación y aporte académico en la parte metodológica del presente estudio.

A todos mi familiares, abuelitas, tíos, tías, primos, primas, que se preocuparon por mis avances en el desarrollo de este estudio y me apoyaron de alguna u otra manera con sus conocimientos y me brindaron muchos ánimos.

A mis amigos, que me ayudaron ante cualquier dificultad a lo largo de toda mi vida universitaria y me alentaron durante el desarrollo de mi tesis.

A las autoridades de mi Alma Mater, la Universidad Privada Antenor Orrego, por haberme dado la oportunidad formarme profesionalmente en sus aulas y a los docentes por compartir sus conocimientos y valores de calidad a lo largo de mi etapa universitaria.

RESUMEN

Objetivo: La presente investigación tuvo como propósito comparar la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%.

Materiales y método: El estudio de corte transversal, experimental y comparativo se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego. La muestra estuvo constituida por 18 premolares, los cuales fueron divididos en tres grupos: G1 (Control), G2 (Extracto etanólico de *Musa paradisiaca*) y G3 (Peróxido de hidrógeno al 35%). Luego, fueron esterilizados en autoclave para después ser expuestos a la cepa *Streptococcus Mutans ATCC 25175* e incubados por 24 horas. Transcurrido este periodo de tiempo, fueron dispuestos en tubos de ensayo estériles con un medio de cultivo limpio, para ser centrifugados por 10 minutos con el fin de liberar a las bacterias adheridas a las superficies dentarias. Se tomó 0.1 ml del líquido para la preparación de la dilución 1/100 y la siembra en placas Petri con Agar Soya Trypticase Sangre, las cuales fueron incubadas por 48 horas. La adherencia bacteriana se obtuvo mediante el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Los resultados fueron almacenados en Excel y procesados en el programa estadístico SPSS versión 23. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba ANOVA, siendo complementada por las pruebas post Hoc: Test de Duncan para la comparación múltiple de grupos y el Test de Bonferroni para la comparación de medias de dos grupos, considerándose un nivel de significancia del 5%.

Resultados: Se observó una mayor adherencia bacteriana en el Grupo III (peróxido de hidrógeno) con 77×10^5 UFC/ml, seguido por el Grupo II (extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*) con 40×10^5 UFC/ml y por el Grupo I (Control) con 89×10^4 UFC/ml, obteniendo una diferencia significativa entre los tres grupos ($p=0.000$), y una diferencia estadísticamente significativa entre sí al comparar cada grupo experimental con el control y entre ambos grupos experimentales ($p<0.05$).

Conclusiones: Se concluye ambos métodos de blanqueamiento dental causan adherencia bacteriana en la superficie dental, siendo mayor al usar peróxido de hidrógeno al 35%.

Palabras clave: Blanqueamiento dental, *Musa paradisiaca*, peróxido de hidrógeno, adherencia bacteriana, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Objective: The present research aimed to compare the in vitro bacterial adherence in teeth subjected to whitening with 50% ethanol extract of *Musa paradisiaca* and 35% hydrogen peroxide.

Materials and Methods: The cross-sectional, experimental and comparative study was carried out in the Molecular Microbiology and Biotechnology Laboratory of the Antenor Orrego Private University. The sample consisted of 18 premolars, which were divided into three groups: G1 (Control), G2 (50% ethanol extract of *Musa paradisiaca*) and G3 (35% hydrogen peroxide). Then, they were sterilized in an autoclave to be later exposed to the *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 strain and incubated for 24 hours. After this period of time, they were placed in sterile test tubes with a clean culture medium to be centrifuged for 10 minutes in order to free the bacteria attached to the dental surfaces. 0.1 of the liquid was taken for the preparation of the 1/100 dilution and the culture on Petri dishes with Trypticase Soy Blood Agar, which were incubated for 48 hours. Bacterial adherence was measured by counting Colony Forming Units (CFU). The data was stored in Excel and processed using the statistical program SPSS version 23. Statistical analysis was performed using ANOVA Test, which was complemented by Post-Hoc Tests: Duncan's test for multiple comparison of groups, and by Bonferroni's test for comparison of means of two groups, considering a significance level of 5%.

Results: A greater bacterial adherence was observed in Group III (35% hydrogen peroxide) with 77×10^5 CFU/ml; then followed by Group II (50% ethanol extract of *Musa paradisiaca*) with 40×10^5 CFU/ml; and finally by Group I (Control) with 89×10^4 CFU/ml, obtaining a significant difference between the three groups ($p = 0.000$), and a statistically significant difference between each experimental group and the control group and between experimental groups ($p < 0.05$).

Conclusions: It appears that both tooth whitening methods cause bacterial adherence on the dental surface, being bigger when using 35% hydrogen peroxide.

Key words: Tooth whitening, *Musa paradisiaca*, hydrogen peroxide, bacterial adherence, *Streptococcus mutans*.

ÍNDICE

DEDICATORIA	1
AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
III. METODOLOGÍA.....	20
IV. RESULTADOS	38
V. DISCUSIÓN.....	42
VI. CONCLUSIONES	47
VII. RECOMENDACIONES.....	48
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
IX. ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

TABLAS

- Tabla 1.** Promedios y desviación estándar de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con Extracto Etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada)39
- Tabla 2.** Comparación de la adherencia bacteriana *in vitro* en los diferentes grupos evaluados, según recuentos de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml)40
- Tabla 3.** Análisis de Duncan para la comparación de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada)40
- Tabla 4.** Nivel de significancia de la comparación entre grupos41

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

GRÁFICOS

Gráfico 1. Promedios y desviación estándar de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con Extracto Etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada)39

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

El aumento de las preocupaciones estéticas y la exigencia por una apariencia perfecta han desencadenado una mayor demanda de los procedimientos estéticos^{1,2}. Es por ello que actualmente los tratamientos cosméticos que mejoran el color dental son cada vez más solicitados³

Hoy en día el color dental se posiciona como uno de los aspectos más relevantes en la auto percepción de la apariencia bucal⁴ y en la determinación de la satisfacción con el aspecto de los dientes. De acuerdo a un estudio, el 66,8% de pacientes está disconforme con el color de sus dientes⁵. Asimismo, se reporta que los individuos inconformes con su color dental presentan un mayor deseo por realizarse blanqueamiento dental².

El blanqueamiento dental se ha convertido en el tratamiento estético más popular ofrecido en la práctica dental⁶. La efectividad de sus resultados ha ocasionado que sea considerado como el tratamiento más deseado^{2,5}, por lo que son cada vez más los dentistas que lo ofrecen y realizan². De acuerdo a la Academia Americana de Odontología Cosmética (AACD), los tratamientos de aclaramiento dental han aumentado en un poco más del 300% entre los años 2002 y 2007 y las cifras siguen creciendo alrededor de un 25% por año³.

La Asociación Americana de Ortodoncistas (AAO) considera que el profesional debe mantenerse actualizado, informándose con la literatura disponible sobre el blanqueamiento dental⁷. En la actualidad, el odontólogo cuenta con nuevas técnicas y una gran cantidad de productos⁸, así como diversas concentraciones, formatos, métodos de activación y protocolos de aplicación de los mismos. Es por ello que cada profesional debe capacitarse en el manejo de las diferentes técnicas de

blanqueamiento⁴. Asimismo debe llevar a cabo un plan de tratamiento óptimo⁸, siguiendo un protocolo que parta de un correcto diagnóstico y concluya en un tratamiento efectivo para así satisfacer la demanda del paciente^{4,9}.

A pesar de ser conservador y dar resultados satisfactorios¹⁰, el blanqueamiento puede tener efectos sobre la estructura dental⁸. Es por ello que es importante que el odontólogo se documente e informe sobre la seguridad de estos procedimientos con el fin de brindar tratamientos más seguros y a su vez poder proveer de mayor información al paciente^{11,12}.

Las sustancias encargadas de aclarar los dientes son los peróxidos⁸, dentro de los cuales el más empleado es el peróxido de hidrógeno^{8,13}. Internacionalmente existen varios estudios sobre los efectos del peróxido de hidrógeno en el esmalte dental, dentro de los cuales, Hosoya¹⁴, Zheng¹⁵, Ittatirut¹⁶, Al-Jubori¹⁷ y Romero¹⁸ han estudiado su efecto sobre la adherencia bacteriana a la superficie dental.

El blanqueamiento dental se ha vuelto cada vez más accesible debido a la mayor disponibilidad de productos de venta libre y varios métodos hechos por uno mismo (DIY)¹⁹. Sin embargo, el Consejo de la Asociación Dental Americana (ADA) sobre Asuntos Científicos ha expresado su preocupación con respecto a la seguridad de los procedimientos de blanqueamiento sin supervisión a largo plazo, razón por la cual es importante que sean empleados con precaución^{19,20}.

Existe información con respecto a estos métodos de blanqueamiento hechos por uno mismo. A nivel internacional se han realizado estudios sobre la efectividad de blanqueamiento dental con cáscara de plátano^{21,22}, así como con extractos de las especies de plátano *Musa sapientum*²³ y *Musa paradisiaca var. Raja*²⁴. Sin embargo, no existe información sobre sus efectos en la estructura dental, como la adherencia bacteriana.

El presente estudio estudiará la adherencia de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a la superficie de dientes sometidos a dos métodos de blanqueamiento, uno hecho por uno mismo (DIY) empleando extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* y otro aplicado profesionalmente en consultorio empleando peróxido de hidrógeno al 35%.

1.2. Marco teórico

El color de los dientes representa el factor aislado más importante dentro del aspecto de la sonrisa, por lo que se ha convertido en una gran preocupación estética. Debido a ello la demanda de dientes de tonalidades más claras llama la atención a la práctica odontológica²⁵.

Actualmente, el aclaramiento dental representa el procedimiento de elección más común que, además de ser conservador y mínimamente invasivo, ha sido probado como seguro y efectivo bajo supervisión profesional^{26,27}. Su alta demanda se ve reflejada en la gran variedad de métodos disponibles tanto para los pacientes como para los clínicos^{2,19}.

Los métodos de blanqueamiento dental se clasifican en cuatro categorías: aplicados profesionalmente en el consultorio, aplicados por el paciente en casa bajo supervisión profesional, productos de venta libre sin supervisión y métodos hechos por uno mismo, en inglés “do-it-yourself” (DIY)^{19,26,28}.

El blanqueamiento dental aplicado profesionalmente en consultorio tiene al peróxido de hidrógeno como principal ingrediente activo en la mayoría de sus productos^{2,25}. Este se presenta con distintas indicaciones de aplicación y a diversas concentraciones, siendo la concentración al 35% la más usada^{12,13}. Este es un compuesto relativamente inestable y de bajo peso molecular que durante el proceso de aclaramiento actúa como un potente agente oxidante^{11,29,30}. Al aplicarse sobre el diente, se descompone en radicales libres inestables e inespecíficos, los cuales rompen las moléculas pigmentadas grandes en moléculas más

pequeñas y menos pigmentadas a través de un proceso de óxido-reducción^{1,31}. Sin embargo, la difusión de esta reacción oxidante a través de la matriz orgánica del esmalte no debería de exceder el punto de saturación en el cual los elementos orgánicos e inorgánicos del esmalte y la dentina sean dañados^{1,29}.

A pesar de que el uso de altas concentraciones de peróxido no parece causar cambios macroscópicos en el esmalte, se han reportado efectos secundarios microscópicos^{29,32}, tales como cambios en su morfología^{11,29,30,32-35}, con un aumento de porosidades^{11,29,32,36} e irregularidades superficiales³², aumento de su rugosidad superficial^{32,35}, disminución en su microdureza^{11,29,32,34-36} y variaciones en su componente mineral³⁰, así como alteraciones en su componente orgánico^{30,36}.

Este conjunto de alteraciones sobre la superficie del esmalte puede afectar la adherencia bacteriana y la susceptibilidad a caries en el diente. La adherencia de bacterias y de saliva a la superficie del diente forman el biofilm, lo cual lleva al desarrollo de caries dental y enfermedades periodontales^{16,17}. La adherencia bacteriana se debe a los microorganismos presentes en la microflora oral, dentro de los cuales el más común es el *Streptococcus mutans*¹⁸.

El *Streptococcus mutans*, considerado el microorganismo cariogénico más importante, es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo. Su adherencia tiene la correlación más fuerte con la experiencia de caries^{17,18,37}. Las adhesinas de su pared celular se adhieren a la película adquirida salival por medio de receptores específicos, para después a partir de la sacarosa producir polisacáridos que le permiten adherirse a la placa bacteriana y poder multiplicarse allí, lo que luego da lugar a la colonización de otras bacterias. Por otra parte, el *Streptococcus mutans* produce ácidos con los que puede desmineralizar el esmalte dental, siendo esta la primera etapa en la formación de la caries dental^{18,38}.

El peróxido de hidrógeno puede generar ciertas condiciones sobre la superficie del esmalte como irregularidades, las cuales protegen a las bacterias contra las fuerzas de corte, volviendo a la pieza dental más susceptible a la adherencia bacteriana^{18,39}. Se ha reportado su efecto sobre la adherencia del *Streptococcus mutans* al esmalte dental⁴, por lo que se considera que los agentes blanqueadores pueden influenciar la adherencia bacteriana a estructuras dentales¹⁷. Todo este conjunto de efectos secundarios ha ocasionado que la seguridad de los agentes blanqueadores químicamente sintetizados se vea cuestionada⁴⁰.

La gran demanda pública por el blanqueamiento dental ha llevado al desarrollo de varios métodos de aplicación⁴¹, entre los cuales tenemos al método hecho por un mismo (DIY)¹⁹. La inclinación por este método se ha extendido a través del Internet, donde se promueve el uso de recursos naturales o herbales como agentes blanqueadores²⁰. En la literatura se dispone de información sobre estos recursos⁴², los cuales, además de tener propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes, analgésicas y antisépticas, están libres de químicos. Existe la percepción pública de que los efectos secundarios comúnmente asociados a los productos blanqueadores químicamente sintetizados podrían ser evitados con el uso de estos recursos, los cuales ofrecerían un blanqueamiento sin dañar el esmalte⁴³. Su mayor seguridad, sumada a su menor precio, más fácil manejo y más cercano alcance explicaría la cada vez mayor preferencia por este método de blanqueamiento por parte de la población en general^{41,44,45}.

Ante este creciente interés por el uso de estos recursos naturales, cada vez son más los estudios que han evaluado su efecto blanqueador sobre el esmalte^{40,46}. Asimismo, existen estudios que han evaluado su efecto en otros aspectos del esmalte. Kwon¹⁹ encontró una disminución significativa de su microdureza y mínimos cambios en su morfología superficial tras emplear una mezcla de fresa y bicarbonato de sodio. Por otro lado, Jung-Hyun⁴⁰ observó una disminución en sus niveles de calcio y fósforo tras usar extractos de toronja y ciruela, sin embargo estos

aumentaron al usar extracto de pomelo. Hartanto⁴⁴ encontró una disminución de su microdureza superficial a partir de la tercera semana posterior al blanqueamiento con una pasta de fresa. En tanto, Dewi⁴⁷ halló una disminución de los niveles de calcio con el uso de extracto etanólico de manzana. Finalmente, Asmawati^{48,49}, tras la aplicación de un gel de fresa, obtuvo una disminución en su microdureza mas no una diferencia significativa en su componente mineral.

Entre estos agentes blanqueadores naturales encontramos el plátano, cuya efectividad como agente blanqueador ha sido previamente reportada²¹⁻²⁴. La especie *Musa paradisiaca*, comúnmente conocida como plátano, pertenece a la familia Musaceae^{50,51}. Es una hierba alta y robusta ampliamente distribuida en los trópicos⁵¹. Posee tallos aéreos falsos y no ramificados y hojas simples y grandes, con vainas que surgen de un rizoma. Su fruto es una cápsula leñosa o baya suave carnosa o coriácea y pesa en promedio 125 gramos, de los cuales aproximadamente el 75% es agua y el 25% es materia seca⁵². Generalmente se cultiva por su fruto para la alimentación^{51,52}, contribuyendo de manera importante en la dieta de muchos pueblos⁵¹. Por ello es considerada una de las frutas más populares, distribuidas alrededor del mundo⁵⁰.

Su cáscara constituye aproximadamente el 18-33% de toda la fruta. Se ha reportado su efecto blanqueador sobre los dientes, el cual que se debería a la presencia de saponinas, las cuales pueden unirse al cromógeno, aclarando así los dientes y que por sus características espumantes pueden actuar como un agente de limpieza²⁴. Otro compuesto presente en la cáscara de plátano es el ácido salicílico, el cual aclara los dientes efectivamente sin dañar el esmalte dental²³. Asimismo encontramos la presencia de ácido málico⁵³, el cual ayuda a disolver manchas dentales⁵⁴, oxidando la superficie del esmalte⁵⁵. Por otra parte, se ha reportado también la presencia de ácido elágico⁵⁶, que contiene grupos hidroxilo que actúan como un poderoso agente oxidante durante el proceso de blanqueamiento dental⁴². También presenta ácido

ascórbico, comúnmente conocido como vitamina C⁵⁷ el cual tiene la capacidad hacer que las moléculas de color se vuelvan neutrales, y por lo tanto más blancas⁵⁸.

Entre sus minerales encontramos principalmente potasio, manganeso y magnesio, los cuales son absorbidos por la superficie dental y la hacen lucir más blanca⁴³. Por otra parte, su capacidad de ser un biosorbente catiónico le permite absorber metales pesados contenidos que podemos encontrar tras ciertas exposiciones ocupaciones y el uso de algunos enjuagues bucales²⁴.

Aparte de su efecto blanqueador, se ha reportado su actividad antimicrobiana⁵⁹, la cual se debería a la alta cantidad de flavonoides en su composición⁵⁶. Sultan⁶⁰ observó que los extractos de la cáscara de *Musa paradisiaca* tienen actividad antibacteriana e inhibitoria en la formación de biofilm contra el *Streptococcus mutans*.

Yudhit y cols²⁴ (2019 – Indonesia) investigaron el efecto del extracto de *Musa paradisiaca var. Raja* al 100% sobre el color de 30 dientes agrupados en: G1 (1 hora), G2 (2 horas) y G3 (3 horas). El color fue analizado visualmente con una guía de color clásica. Se encontró diferencias significativas antes y después del tratamiento y se concluyó que el extracto de *Musa paradisiaca var. Raja* al 100% aclara los dientes.

Lekshmi²³ y cols (2018 – India) evaluaron el cambio de color en esmalte tratado con agentes blanqueadores herbales usando un espectrofotómetro sobre 40 premolares divididos en: GC (PH al 35%), G1 (*Musa sapientum*), G2 (*Citrus sinesis*) y G3 (*Citrus limon*). Encontraron un significativo cambio de color en todos los grupos, obteniendo el mejor resultado en el Grupo 1, comparado con los grupos *Citrus*. Concluyeron que *Musa sapientum* aclara los diente mejor que *Citrus sinesis* y *Citrus limon* pero menos que el peróxido de hidrógeno.

Juárez²² (2016 - Ecuador) determinó la efectividad de dos métodos de blanqueamiento dental: el aplicado profesionalmente en consultorio y el hecho por uno mismo (DIY) sobre 30 pacientes agrupados en: G1 (peróxido de hidrógeno al 35%) y G2 (cáscara de plátano, jugo de limón, bicarbonato de sodio o fresas). Obtuvo efectividad alta en el Grupo 1 y media en el Grupo 2. Concluyó que el blanqueamiento dental aplicado profesionalmente en consultorio es más efectivo que el blanqueamiento dental hecho por uno mismo.

Ittatirut¹⁶ y cols (2014 – Thailandia) compararon los efectos del peróxido de hidrógeno al 25% y 35% sobre la formación de *Streptococcus mutans* sobre 162 muestras de esmalte dental divididas en: G1 (grupo control), G2 (PH al 25%) y G3 (PH al 35). No observaron diferencia en la formación de *Streptococcus mutans* entre los tres grupos.

Zheng¹⁵ y cols (2014 – China) evaluaron los efectos del peróxido de hidrógeno al 35% sobre el crecimiento de biofilm de *Streptococcus mutans* en la superficie de 20 discos de esmalte dental, divididos en dos grupos: Control y Experimental. Hallaron que a partir del día 21 el recuento de bacterias en el Grupo Experimental fue significativamente mayor que el del Grupo Control. Concluyeron que después de tres semanas, el peróxido de hidrógeno al 35% aumenta el crecimiento del biofilm en la superficie blanqueada.

Borja²² (2013 - Perú) determinó la eficacia blanqueadora de la cáscara de plátano sobre 34 premolares divididos en dos grupos: Control y Experimental. A pesar de no encontrarse resultados estadísticamente significativos, se concluyó que igualmente la cáscara de plátano logró reducir el tono del color dental.

Actualmente el odontólogo dispone de agentes blanqueadores con peróxido hidrógeno a altas concentraciones; sin embargo, no dispone de información actualizada sobre sus efectos en la adherencia bacteriana sobre el esmalte. Por otra parte, los métodos hechos por uno mismo

(DIY) divulgados a través del Internet, son realizados sin buscar mayor información. Asimismo, no se encuentra información vasta sobre los efectos, como la adherencia bacteriana, en el esmalte tratado con productos naturales. Es por ello que resulta importante evaluar la adherencia bacteriana en dientes sometidos a métodos de blanqueamiento tanto los hechos por uno mismo empleando productos naturales como *Musa paradisiaca*, así como los aplicados profesionalmente en consultorio empleando productos aplicados en el consultorio como el peróxido de hidrógeno al 35%.

Con el presente estudio, se busca concientizar sobre el uso indiscriminado de los agentes blanqueadores aplicados profesionalmente en consultorio tanto a profesionales odontólogos como a pacientes, así como proveer a la comunidad de mayor información sobre los métodos hechos por uno mismo (DIY) y promover su uso siempre que estén científicamente probados como efectivos y seguros, para de esta manera poder minimizar sus posibles efectos sobre la adherencia bacteriana en la estructura dental y así brindar mayor seguridad al paciente.

Ante la escasez de estudios sobre la adherencia bacteriana en dientes tratados con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%, se planteó realizar la presente investigación. Por lo expuesto, esta investigación tendrá como propósito comparar la adherencia de *Streptococcus mutans* sobre dientes sometidos a blanqueamiento con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* y el peróxido de hidrógeno a 35%.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. Formulación del problema

¿Existe adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%?

2.2. Hipótesis de investigación

Sí, existe adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo General

Comparar la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%.

2.3.2. Específicos

- Determinar la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca*
- Determinar la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 35%.

2.4. Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CLASIFICACIÓN		ESCALA DE MEDICIÓN
			POR SU NATURALEZA	POR SU FUNCIÓN	
MÉTODO DE BLANQUEAMIENTO	Procedimiento por el cual se modifica el color de las piezas dentales llevándolos a tonos más claros mediante el uso de componentes que actúan sobre los tejidos dentales ⁶¹ .	<i>Musa paradisiaca</i> Peróxido de hidrógeno al 35%.	Cualitativa	Independiente	Nominal
ADHERENCIA BACTERIANA	Fenómeno de interrelación que se establece entre <i>S. mutans</i> y los tejidos del hospedador debido a características estructurales del microorganismo y del polimorfismo de los receptores del huésped ⁶² .	Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	Cuantitativa	Dependiente	De razón

III. METODOLOGÍA

3.1. Material de estudio

3.1.1. Diseño de investigación

Número de mediciones	Número de grupos a estudiar	Tiempo en el que ocurrió el fenómeno a estudiar	Forma de recolectar los datos	Posibilidad de intervención del investigador
Transversal	Comparativo	Prospectivo	Prolectivo	Experimental

3.1.2. Área de estudio

Este estudio fue realizado en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, 2019, y en el laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, 2020.

3.1.3. Definición de población muestral

3.1.3.1. Características generales

La población muestral constó de 18 premolares superiores o inferiores, de individuos adultos hombres o mujeres entre 18 y 40 años, con un tiempo post-extracción menor a 6 meses.

3.1.3.1.1. Criterios de inclusión

- Premolar de individuo de hombre o mujer entre 18 y 40 años.

- Premolar sano extraído por indicación diagnóstica ortodóntica, con menos de 6 meses.

3.1.3.1.2. Criterios de exclusión

- Premolar con dentina expuesta.
- Premolar con pigmentaciones o manchas blancas.
- Premolar con malformaciones en su estructura.

3.1.3.1.3. Criterios de eliminación

- Premolar cuyo protocolo de blanqueamiento no sea cumplido correctamente por errores humanos.
- Premolar contaminado tras esterilización previa a pruebas bacteriológicas.

3.1.4. Diseño estadístico de muestreo

3.1.4.1. Unidad de muestreo

Premolar sano extraído por indicación ortodóntica con menos de 6 meses que será sometido o no a blanqueamiento y luego expuesto a la cepa diluida de *Streptococcus mutans*.

3.1.4.2. Unidad de análisis

Placa Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.1.4.3. Tamaño muestral

Para la determinación del tamaño muestral se realizó una prueba piloto, empleándose los datos obtenidos en la siguiente fórmula para comparación de medias:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

n = Número de premolares por grupo

Z_{α} = Riesgo de 0.05 = 1.645

Z_{β} = Poder estadístico de 95% = 1.960

S^2 = Valor del grupo piloto estudiado = $(5596.76)^2$

d^2 = Valor mínimo de diferencia = $(11920)^2$

Se obtuvo:

$$n = \frac{2 * (1.645 + 1.960)^2 * 5596.76^2}{11920^2}$$

$$n = 5.73 = 6 \text{ premolares por grupo}$$

Por lo tanto, la muestra estuvo conformada por 18 premolares, que fueron ubicados en los 3 grupos:

- 6 premolares en Grupo I (Control: Agua destilada).
- 6 premolares en Grupo II (Extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*).
- 6 premolares en Grupo III (Peróxido de hidrógeno al 35%).

3.1.5. Método de selección

Se realizó a través de un método no probabilístico, a conveniencia de la investigadora hasta completar el número requerido.

3.2. Métodos, técnicas e instrumentos de investigación

3.2.1. Método de recolección de datos

Observación (directa, participante y estructurada) y conteo.

3.2.2. Descripción del procedimiento de recolección de datos

A. De la aprobación del proyecto

El primer paso para la realización de la presente investigación fue solicitar la autorización para su ejecución, mediante la aprobación e inscripción del proyecto por parte de la Escuela de Profesional de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego con la correspondiente Resolución Decanal (Anexo N°1). Para la realización de estos pasos, se presentó la Constancia de asesoría del docente a cargo (Anexo N°2).

B. De la autorización para la ejecución

Una vez aprobado el proyecto se solicitó la autorización del coordinador del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego con la fin de obtener los permisos correspondientes para la ejecución (Anexo N°3).

C. Del estudio piloto

Para la ejecución de esta investigación, se realizó una prueba piloto por la carencia de estudios previos que evaluaran el efecto de la especie *Musa paradisiaca* y del peróxido de hidrógeno al 35% sobre la adherencia bacteriana a la superficie dental. Se trabajó, siguiendo los mismos pasos y objetivos planeados para el estudio real, con una muestra

reducida constituida por 4 premolares para cada grupo, haciendo un total de 12 premolares, bajo la supervisión de un Microbiólogo, tal como lo certifica la constancia respectiva (Anexo N°4). La adherencia bacteriana de cada uno de ellos fue luego evaluada por medio del recuento de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) en 12 placas Petri correspondientes a los 12 premolares.

Se obtuvieron los siguientes resultados en la adherencia bacteriana a la superficie dentaria tras las 48 horas:

- Grupo I – Control/Agua Destilada: $9,2 \times 10^5$ UFC/ml.
- Grupo II – Extracto Etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*: 39×10^5 UFC/ml.
- Grupo III – Peróxido de hidrógeno al 35%: 71×10^5 UFC/ml).

Los resultados obtenidos se llevaron al estadístico para la determinación del tamaño muestral del proyecto definitivo.

D. De la calibración de la investigadora

Para dar mayor validez y confiabilidad al presente estudio, se realizó una prueba interevaluador en la que la investigadora se entrenó y calibró con un experto en el tema (Microbiólogo) en la inspección visual de placas Petri y recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) tal como lo certifica la constancia correspondiente (Anexo N°4). Para ello se realizó la lectura de un número de 12 placas Petri para el conteo de las UFC mediante la inspección visual de cada placa entre la investigadora y el experto. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un método estadístico de Kappa Cohen, teniendo un resultado de (1.00) (Anexo N°5).

E. Instrumento de recolección de datos

Para el presente estudio se empleó una ficha de recolección de datos elaborada por el investigador. En esta ficha se registró el nivel de adherencia bacteriana de cada premolar obtenido por medio del recuento de número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de cada una de las 6 placas Petri, por cada grupo a evaluar. La ficha constó de una tabla en la que se consignan los tres grupos, las 18 placas Petri y el número de UFC/ml obtenido (Anexo N°6).

F. Recolección de la muestra

Las piezas dentarias fueron recolectadas de consultorios dentales externos de Trujillo; con un tiempo de vida menor a 6 meses tras su extracción y se almacenaron en recipientes con agua destilada bajo refrigeración a una temperatura de 4°C por un periodo máximo de 28 días (Anexo N°7).

G. Preparación de la muestra

Una vez recolectados los premolares se procedió a la desinfección de los mismos con raspadores para piezas posteriores y curetas periodontales Gracey para premolares (5/6, 7/8 y 9/10) a fin de no dañar la superficie coronaria vestibular, con el propósito de remover todo el cálculo y tejido orgánico restante. Posteriormente, se limpió la superficie vestibular de cada pieza con copas de hule y pasta profiláctica, haciendo uso de un equipo de micromotor y una pieza recta con el propósito de estandarizar las condiciones de las muestras antes de aplicar los agentes blanqueadores.

Después de ello, las piezas dentarias fueron lavadas profusamente con agua destilada y luego secadas para

finalmente ser conservadas en refrigeración dentro de recipientes plásticos estériles con agua destilada estéril, la cual fue cambiada diariamente para evitar el crecimiento bacteriano, hasta el momento en que fueran necesarias.

(Anexo N°8)

H. Obtención del material biológico: *Musa paradisiaca*

Para el presente estudio, se eligió la especie de plátano *Musa paradisiaca* conocido comúnmente como “plátano conga”. El material biológico que sirvió para este trabajo está depositado en el Herbario Antenor Orrego (HAO) del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, Perú con el código n° 20130.

El material fue recolectado de la huerta del señor Francisco Asmat en la Campiña de Moche, distrito Moche, provincia Trujillo, región La Libertad, Perú, localizada a 8° 08' 56,9"S y 79° 00' 25,1"O, 35 m s.n.m, el 28 – VI – 2019 por S. Leiva & U. Pantigozo 7690 (Anexo N°9).

Fase I. Toma de datos de campo: Haciendo uso de un equipo GPS, se tomaron los datos del lugar de la colecta, como la altitud y las coordenadas de ubicación.

Fase II. Recolección: Se utilizó el método clásico de herborización para la recolección de la especie vegetal. Con la ayuda de tijeras botánicas, se recolectó una muestra para el estudio, que contenía 10 ejemplares del fruto de *Musa paradisiaca*, y una muestra para el herbario, que contenía hojas y flores de la especie. Ambas muestras iban siendo guardadas dentro de bolsas de plástico asépticas a medida que se recolectaban. Tras su recolección, la muestra para el

herbario se colocó temporalmente dentro de una prensa botánica para su posterior traslado al herbario (Anexo N°10).

Fase III. Selección: Una vez en el herbario, se realizó la selección del material biológico con el fin de obtener sólo los de apariencia sana y completa y tamaño uniforme. Se separó las partes deterioradas y eliminó materias extrañas o polvo adherido.

Fase IV. Prensado: Se adecuó hojas y flores dentro hojas de periódico separadas por cartón y láminas de aluminio corrugado para luego amarrar las cuerdas de la prensa botánica (Anexo N°11).

Fase V. Secado: Se colocó la prensa botánica dentro de una estufa artesanal para el secado de la muestra por un par de días (Anexo N°12).

Fase VI. Identificación taxonómica: La especie de planta seleccionada para este estudio fue determinada por un especialista Botánico en el Herbario Antenor Orrego (HAO) del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, donde se recibió la constancia respectiva (Anexo N°13).

Fase VII. Montaje de la muestra: Tras dos días de secado, se procedió al pegado de la muestra sobre cartulina blanca académica, la cual fue colocada debajo de papel sábana (Anexo N°14).

Fase VIII. Depósito oficial en el herbario y obtención de código: Finalmente, se ingresó al Herbario Antenor Orrego con el código n° 20130 (Anexo N°15).

I. Elaboración del extracto etanólico de *Musa paradisiaca*

Para la elaboración del extracto etanólico de la cáscara del fruto de *Musa paradisiaca* se solicitó la autorización para el uso de los equipos y ambientes del Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, así como lo certifica la constancia avalada por el jefe del laboratorio mencionado (Anexo N°16).

Fase I. Lavado y secado: La parte externa de los frutos recolectados fue lavada con agua corriente. Luego fue secada y colocada sobre un campo de trabajo de papel Kraft para luego proceder con los siguientes pasos (Anexo N°17).

Fase II. Extracción del mesocarpio de la cáscara del fruto de la especie *Musa paradisiaca*: Se procedió a extraer mecánicamente el mesocarpio (parte interna de la cáscara) del fruto de la especie *Musa paradisiaca* empleando espátulas adecuadas y tratando de obtener el material de manera fresca (Anexo N°18). Se pesó 5 g del mesocarpio extraído de la *Musa paradisiaca* y se colocó temporalmente en cápsulas de porcelana.

Fase III. Preparación del extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca*: Para la preparación del extracto, se empleó la maceración como técnica de extracción. Para ello, se colocó el material previamente pesado dentro de frascos ámbar que contenían 100 ml de alcohol al 50% como solvente, trabajando al 50 p/v de *Musa paradisiaca*. Se agitaron y se taparon para luego dejar reposar la muestra por un periodo de 7 días, en los cuales se agitó por 15 minutos 2 veces al día el contenido para lograr un mejor rendimiento en la extracción. Después de esos

días, se sometió a reflujo controlado por 10 minutos en baño María, tras lo cual se dejó enfriar y se filtró con papel filtro Whatman n°40, obteniéndose así el extracto etanólico al 50% del mesocarpio de *Musa paradisiaca*. El extracto fue guardado en un frasco ámbar y mantenido en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización (Anexo N°19).

Tras la obtención del extracto, se obtuvo una constancia avalada por un especialista Químico Farmacéutico, que certifica su colaboración en la preparación del extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca* (Anexo N°20).

J. Identificación fitoquímica del extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de *Musa paradisiaca*

Consistió en la identificación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca*. La cáscara del fruto posee componentes fitoquímicos como las saponinas, las cuales están presentes en otros recursos naturales con capacidad de aclarar los dientes, lo cual explicaría el efecto blanqueador de la especie *Musa paradisiaca*²⁴.

Con el fin de ratificar la presencia de saponinas en el mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca*, se realizó una marcha fitoquímica preliminar en la cual se llevaron a cabo protocolos específicos que consistían en reacciones coloridas para cada metabolito (Anexo N°21).

A continuación se describe el procedimiento realizado en cada ensayo para detectar los metabolitos secundarios en el extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca*:

- **Ensayo de Tricloruro férrico:** Se midió X gotas del extracto en un tubo de ensayo y se añadió I-II gotas del reactivo Tricloruro Férrico al 5% en etanol.

Reacción positiva: La reacción es positiva si hay coloración azul-negrizca, lo cual indica la presencia de polifenoles.
- **Ensayo de Dragendorff:** Se midió XX gotas del extracto en un tubo de ensayo y luego se agregó II – III gotas de reactivo de Dragendorff.

Reacción positiva: La reacción es positiva si hay formación de precipitados de color rojo o anaranjado, lo cual indica la presencia de alcaloides.
- **Ensayo de Fehling:** Se midió X gotas del extracto y se evaporó en baño María. El residuo se redisolvió con 2 ml de agua destilada y se adicionó 2 ml del reactivo de Fehling. Se calentó en baño de agua de 5 a 10 minutos.

Reacción Positiva: La reacción es positiva si aparece un precipitado de color rojo ladrillo, lo cual indica la presencia de azúcares reductores.
- **Ensayo de Gelatina:** Se midió XX gotas del extracto en una cápsula y se llevó a sequedad. Se redisolvió en XX gotas de agua, se trasvasó a un tubo de ensayo y luego se añadió I gota de solución reactiva de gelatina al 1%.

Reacción Positiva: La reacción es positiva al observar un precipitado blanco, lo cual indica la presencia de taninos.
- **Ensayo de Shinoda:** Se midió X gotas del extracto en un tubo de ensayo y se agregó limadura de magnesio metálico más II gotas de ácido clorhídrico concentrado.

Reacción Positiva: La reacción es positiva si hay coloraciones: roja (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magenta (flavanonas) y algunas veces azules o verdosas.

- **Ensayo de Espuma:** Se midió XX gotas del extracto, se agitó vigorosamente por 30 segundos, y se reposó por 15 minutos.

Reacción Positiva: La persistencia de la espuma indica la presencia de saponinas.

- **Ensayo de Ninhidrina:** Se midió 2 ml del extracto y se agregó III gotas del reactivo de Ninhidrina. Se colocó en baño María durante 5 minutos.

Reacción positiva: La reacción es positiva si hay coloración morada o azul violácea que indica presencia de aminoácidos.

Tras la realización de los ensayos se encontraron los siguientes metabolitos; alcaloides, azúcares reductores, flavonoides, saponinas y aminoácidos, mas no así polifenoles y taninos (Anexo N°22).

K. Aplicación de los dos métodos de blanqueamiento

La aplicación de los métodos de blanqueamiento fue realizada en el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego, para lo cual previamente se solicitó la autorización respectiva al coordinador de dicho laboratorio (Anexo N°3).

Se procedió a ejecutar los métodos de blanqueamiento previamente señalados, siguiendo las indicaciones del

fabricante y/o el protocolo disponible en la literatura. Previamente a los procedimientos de blanqueamiento, se esterilizó el instrumental necesario, cumpliendo así con los protocolos de bioseguridad (Anexo N°23).

A continuación se describen los procedimientos de blanqueamiento que se llevaron a cabo:

- **Grupo I:** Las piezas dentales inmersas en agua destilada estéril dentro de recipientes estériles fueron colocadas dentro de una estufa a 37°C hasta su posterior evaluación (Anexo N°24).
- **Grupo II:** Se tomó 20 ml del extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* en un recipiente y se sumergieron los premolares, dejándolos reposar por un periodo de 6 horas hasta su posterior evaluación (Anexo N°25).
- **Grupo III:** Se realizaron dos aplicaciones del agente blanqueador. Primero, se aplicó el peróxido de hidrógeno al 35% mediante el uso de una espátula en una fina capa de aproximadamente 1 mm de espesor, midiendo con una sonda graduada y dejando actuar el agente blanqueador durante 15 minutos. Luego, se removió el agente con ayuda del equipo de succión y las piezas fueron lavadas profusamente con agua destilada y secadas con papel absorbente. Para la segunda aplicación, se dejó actuar al agente blanqueador por otros 15 minutos, sumando un tiempo total de exposición al agente blanqueador de 30 minutos. Finalmente, se succionó el agente blanqueador y se removió el excedente mediante el lavado profuso con agua destilada para finalmente hacer el secado con papel absorbente y ser colocados temporalmente sobre una placa Petri estéril (Anexo N°26). La ejecución de este

método de blanqueamiento fue realizada por la investigadora bajo supervisión de un especialista Cirujano Dentista, como lo certifica la constancia respectiva (Anexo N°27).

Una vez realizados los procedimientos en cada grupo, las piezas dentales fueron conservadas dentro de recipientes de vidrio estériles cerrados herméticamente y con agua destilada estéril en una estufa 37°C de temperatura por 24 horas (Anexo N°28), periodo tras el cual fueron esterilizadas en autoclave a 121°C por un periodo de 60 minutos (Anexo N°29).

L. Procedimiento bacteriológico

Los procedimientos bacteriológicos fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego por la investigadora bajo supervisión de un especialista Microbiólogo. Para ello, se solicitó la autorización del uso de equipos y ambientes al coordinador de dicho laboratorio (Anexo N°3).

Fase I. Obtención de la cepa: Para este estudio, se utilizó un cultivo liofilizado de la cepa estandarizada de *Streptococcus mutans* ATCC (American Type Culture Collection) 25175, el cual fue provisto por el laboratorio GenLab del Perú SAC del departamento de Lima así como lo consignan el comprobante de compra respectivo (Anexo N°30). Se trasportó mediante un servicio de encomiendas a la ciudad de Trujillo y fue entregado al investigador, para posteriormente ser llevado al Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego, donde fue conservado hasta su reactivación.

Fase II. Reactivación de la cepa bacteriana: La presentación de la cepa era en un dispositivo Kwik-Stik sellado y almacenado dentro de una bolsa laminada, de la cual se procedió a sacar tras dejar que se pusiera a temperatura ambiente previamente (Anexo N°31). Luego, se abrió el dispositivo y se tomó el hisopo de inoculación contenido, e inmediatamente se empapó su base con el material hidratado dentro del dispositivo, el cual consistía de una solución homogénea del gránulo liofilizado de la bacteria en líquido hidratante, y se transfirió a tubos de ensayo estériles conteniendo como medio Agar Soya Trypticase Sangre para su cultivo (Anexo N°32). Fueron cerrados herméticamente, e incubados en una estufa bajo condiciones de microanaerobiosis a 37°C por 24 horas con el fin de obtener colonias jóvenes.

Fase IV. Preparación y estandarización del inóculo: Transcurrido el tiempo de incubación, con la ayuda de un asa bacteriológica se tomó una muestra del cultivo y se diluyó dentro de un tubo de ensayo con 15 ml de medio caldo tioglicolato, el cual luego se agitó durante 30 segundos hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0,5 del Nefelómetro de Mc Farland, cuya concentración bacteriana es de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml (Anexo N°33). Esta comparación se llevó a cabo visualmente utilizando un fondo blanco con líneas negras contrastantes y fuentes de luz adecuada. El inóculo preparado fue utilizado inmediatamente después de su preparación.

Fase V. Exposición de las piezas dentarias a inóculo: Se inoculó 0.1 ml de la cepa diluida en tubos de ensayo con 5 ml de medio caldo tioglicolato (Anexo N°34), y con ayuda de pinzas estériles se dispusieron las piezas dentarias dentro de ellos (Anexo N°35). Luego, se incubaron en una estufa a 37°C

por 24 horas bajo condiciones de microanaerobiosis en jarra Gaspak (5 a 10% de CO₂) (Anexo N°36). Transcurrido este tiempo, se sacaron las piezas dentarias de dichos tubos y se lavaron con agua destilada estéril, para luego ser sumergidos en tubos de ensayo estériles con un medio de cultivo limpio. Tras ello, se centrifugaron a 3000 revoluciones durante 10 minutos con el fin de desprender las bacterias adheridas a la superficie de cada diente en todos los grupos (Anexo N°37).

Fase VI. Preparación de diluciones: Tras el centrifugado, se agitó vigorosamente cada tubo de ensayo con medio caldo tioglicolato y con una jeringa de 1 ml se procedió a recolectar 0.1 ml del líquido de las áreas con mayor turbidez en la parte inferior de cada tubo y se inoculó en un segundo tubo de ensayo con 0.9 ml de caldo tioglicolato, del cual se tomó 0.1 ml para volver a inocular en un tercer tubo de ensayo con 0.9 ml de caldo tioglicolato, obteniéndose así las diluciones 1/10 y 1/100 (Anexo N°38).

Fase VII. Sembrado: Previamente al sembrado, se giraron los tubos de la última dilución entre las manos para una distribución uniforme de los microorganismos. Luego, se procedió a realizar la siembra de la muestra de cada tubo en placas Petri. Para ello, se tomó 0.1 ml de la última dilución (1/100) y se inoculó en placas Petri conteniendo Agar Soya Trypticosa Sangre. Con la ayuda de un asa de Driglasky y a una distancia de 10 cm de la llama del mechero, se procedió al sembrado, distribuyendo la muestra uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 30° grados por 10 veces aproximadamente (Anexo N°39). Se dejaron reposar por unos minutos para que la muestra se seque y luego se voltearon de posición para ser incubadas en una estufa por 48 horas bajo condiciones de microanaerobiosis empleando una jarra Gaspak, con el método de la vela para obtener un

ambiente aproximado de 5 a 10% de CO₂ a 37°C (Anexo N°40).

Fase VIII. Recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC): Después del tiempo transcurrido, se procedió a la evaluación de la adherencia bacteriana de cada premolar por grupo mediante el recuento de Unidades Formadoras de Colonias de cada placa Petri a través de la observación macroscópica y con la ayuda de una lupa (Anexo N°41). Se empleó la técnica de conteo manual para obtener el número de Unidades Formadoras de Colonias, para lo cual la placa Petri se dividió en cuatro cuadrantes, de los cuales se seleccionó un área de 1 cm² representativo por cuadrante. La suma del número de colonias obtenido de cada área de los cuatro cuadrantes se dividió entre el número de cuadrantes, y el resultado se multiplicó por el inverso de la dilución y por el volumen de siembra usado. Por medio de cálculos matemáticos se obtuvo el número de Unidades Formadoras de Colonias por 1 ml (UFC/ml).

El número final de bacterias adheridas por espécimen en cada grupo fue calculado usando la siguiente fórmula:

$$UFC/ml = \Sigma N/4 \times A \times D \times V$$

Donde:

UFC/ml = Número final de bacterias adheridas por espécimen

N = Número de colonias en 1 cm² por cuadrante

A = Área del círculo de la placa Petri = 65 cm²

D = Inverso de la dilución (1/100) = 100/1 = 10²

V = Volumen de siembra = 0,1 ml \Rightarrow 0,1 ml \times 10 = 1 ml

Tras la finalización de las pruebas bacteriológicas, se solicitó la constancia respectiva que avala la supervisión de ejecución por parte del especialista Microbiólogo (Anexo N°42).

3.2.3. Procesamiento y análisis estadístico de datos

Estadística Descriptiva: Los datos recolectados fueron almacenados en Excel y procesados en el programa estadístico SPSS ver 23. Se realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk por tratarse de un tamaño muestral menor a 50 para determinar si se utilizarían pruebas paramétricas o no paramétricas en el análisis estadístico. Al obtener una distribución normal en los resultados ($p > 0.05$), se decidió por utilizar pruebas paramétricas para la comparación de grupos (Anexo N°43). Los resultados se presentaron en tablas de doble entrada y gráficos de barras acuerdo a los objetivos planteados, mostrando la media y desviación estándar de los recuentos de UFC/ml por grupo.

Estadística Inferencial: Como prueba paramétrica se utilizó la prueba estadística ANOVA, siendo complementada por las pruebas post hoc de Duncan para la comparación múltiple de grupos y de Bonferroni para la comparación de medias de dos grupos, considerándose un nivel de significancia del 5%.

3.2.4. Consideraciones éticas

Se consideró de vital importancia prestar atención los factores que puedan dañar el medio ambiente al realizar la presente investigación estomatológica. Por ello, se tuvo en cuenta la manipulación y desecho de las muestras sobre todo de la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* según el Manual de Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Medicina⁶³ durante la ejecución del trabajo. No se consideraron los principios de la Declaración de Helsinki por tratarse de un estudio *in vitro*.

IV. RESULTADOS

Al comparar la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%, se observó que:

En el Grupo I la adherencia bacteriana fue de 89×10^4 UFC/ml, la cual aumentó en el Grupo II al utilizar Extracto Etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*, en el cual la adherencia bacteriana fue de 40×10^5 UFC/ml; sin embargo, la mayor adherencia bacteriana se obtuvo en el Grupo III al utilizar peróxido de hidrógeno al 35%, encontrándose una adherencia bacteriana de 77×10^5 UFC/ml. (Tabla 1 y Figura 1)

Al comparar los grupos del estudio en el ANOVA se observó que existe diferencia significativa entre ellos ($p=0.000$). (Tabla 2)

Al realizar el análisis Post Hoc Duncan se observaron 3 sub conjuntos evidenciándose que existe diferencia significativa entre el Grupo I – Control (Agua destilada), Grupo II (Extracto etanólico al 50% de *M. paradisiaca*) y Grupo III (Peróxido de hidrógeno al 35) ($p<0.05$) (Tabla 3)

Al realizar el análisis Post Hoc Bonferroni se observó que el Grupo I – Control (Agua destilada) y Grupo II (Extracto etanólico al 50% de *M. paradisiaca*) presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí ($p<0.05$), el Grupo I – Control (Agua destilada) y Grupo III (Peróxido de hidrógeno al 35%) presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí ($p<0.05$) y que el Grupo II (Extracto etanólico al 50% de *M. paradisiaca*) y el Grupo III (Peróxido de hidrógeno al 35%) también presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí ($p<0.05$) (Tabla 4).

Tabla 1. Promedios y desviación estándar de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con Extracto Etanólico al 50% *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada).

Grupos	N	Promedio	Desviación Estándar
Grupo I – Control (Agua destilada)	6	8.9×10^4	12×10^4
Grupo II – Extracto etanólico al 50% de <i>Musa paradisiaca</i>	6	40×10^5	67×10^4
Grupo III – Peróxido de hidrógeno al 35%	6	77×10^5	58×10^4

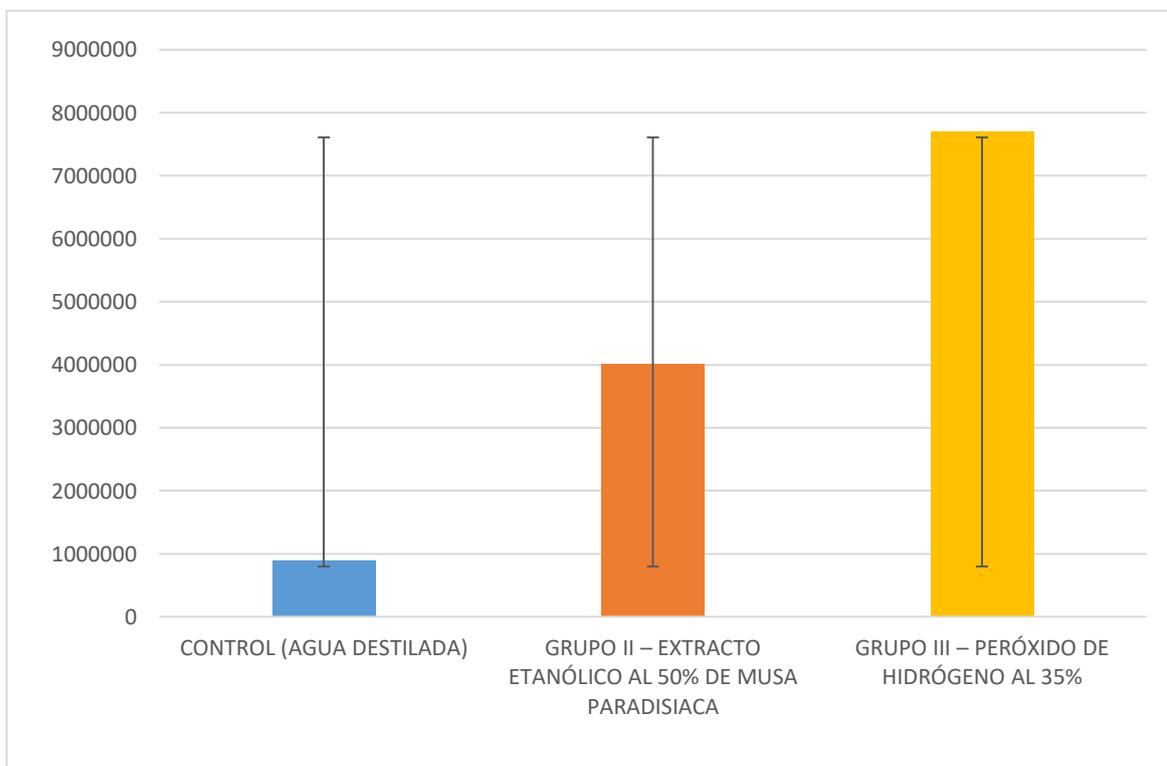


Gráfico 1. Promedios y desviación estándar de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con Extracto Etanólico al 50% *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada).

Tabla 2. Comparación de la adherencia bacteriana *in vitro* en los diferentes grupos evaluados, según recuento de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFCL/ml).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F (ANOVA)	P
Inter grupos	139220640893333.300	2	69610320446666.600		
Intra grupos	3975518146666.667	15	265034543111.112	262.646	0.000
Total	143196159040000.000	17			

*Prueba ANOVA

Tabla 3. Análisis de Duncan para la comparación de la adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con Extracto Etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*, Peróxido de Hidrógeno al 35% y Control (Agua Destilada).

GRUPOS	N	1	2	3
Grupo I - Control (Agua Destilada)	6	89x10 ⁴		
Grupo II – Extracto Etanólico al 50% de <i>Musa paradisiaca</i>	6		40x10 ⁵	
Grupo III – Peróxido de Hidrógeno al 35%	6			77x10 ⁵
Sig.		1.000	1.000	1.000

*Prueba Post Hoc de Duncan

Tabla 4. Nivel de significancia de la comparación entre grupos.

Comparación entre grupos		Nivel de Significancia (p valor= 0.05)
Grupo I - Control (Agua Destilada)	Grupo II – Extracto Etanólico al 50% de <i>Musa paradisiaca</i>	0.000
Grupo I - Control (Agua Destilada)	Grupo III – Peróxido de Hidrógeno al 35%	0.000
Grupo II – Extracto Etanólico al 50% de <i>Musa paradisiaca</i>	Grupo III – Peróxido de Hidrógeno al 35%	0.000

*Prueba Post Hoc de Bonferroni

V. DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fue comparar la adherencia bacteriana en dientes sometidos a dos métodos de blanqueamiento: uno hecho por uno mismo (DIY) y otro aplicado profesionalmente en consultorio.

En este trabajo se emplearon 18 premolares superiores e inferiores divididos en 3 grupos de 6 piezas cada uno, de los cuales dos grupos fueron sometidos a métodos de blanqueamiento. Uno de ellos fue el método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY), llevado a cabo en el Grupo II con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* mientras que el otro fue el método de blanqueamiento aplicado profesionalmente en consultorio, llevado a cabo en el Grupo III con peróxido de hidrógeno al 35%. El Grupo I se mantuvo sin tratamiento alguno, siendo conservado en agua destilada, y sirvió como grupo control. Después de los tratamientos los dientes fueron conservados en agua destilada a 37°C para simular el ambiente oral, tal como lo fue hecho en el estudio de Trakiniene⁶⁴.

Actualmente existen varios métodos de blanqueamiento dental⁶⁴. El método más conocido es el aplicado profesionalmente en consultorio, el cual usa mayormente peróxido de hidrógeno al 35%^{12,13}, siendo el más empleado para diseños experimentales⁶⁴. Por otra parte, los métodos hechos por uno mismo (DIY) con recursos naturales cada vez son más populares⁵⁴. Dentro de estos recursos, se ha comprobado la efectividad del plátano como agente blanqueador²¹⁻²⁴. Por estas razones se decidió trabajar con el método de blanqueamiento aplicado profesionalmente en consultorio, empleando peróxido de hidrógeno al 35% y el método hecho por un mismo (DIY) con cáscara de plátano, específicamente de la especie *Musa paradisiaca*.

Por otra parte, el microorganismo de prueba elegido fue *Streptococcus mutans*, dado que es la principal bacteria responsable de la caries dental⁶⁵, y su adherencia a la superficie dental posterior al blanqueamiento dental ha sido confirmada previamente en algunos estudios^{14,15,17,18,65}.

Existen varios estudios que han investigado los efectos del método de blanqueamiento aplicado profesionalmente en consultorio sobre la microdureza³¹, rugosidad superficial^{14,31,35,66}, morfología^{11,25,29,30,34,35}, composición química^{3,30} y otros aspectos del esmalte. Asimismo se ha evaluado su efecto sobre la adherencia bacteriana^{14-16,65}, obteniendo resultados controversiales. Se ha reportado que el peróxido de hidrógeno al 35% incrementa la adherencia de *Streptococcus mutans* según Hosoya¹⁴, pero que no tiene ningún efecto sobre esta según Ittaturut¹⁶.

Por otra parte, se han realizado estudios sobre la efectividad del blanqueamiento dental hecho por uno mismo (DIY) con el uso de distintos recursos naturales, obteniendo resultados favorables. Existen algunos estudios sobre sus efectos en otros aspectos del diente, encontrando cambios en la composición química^{40,47}, microdureza^{19,44,48} y morfología del esmalte¹⁹. En cuanto a su efecto sobre la adherencia bacteriana en el esmalte dental no se dispone de información hasta la fecha. Con respecto al plátano, no existen estudios previos sobre sus efectos en el diente, y en específico, sobre la adherencia bacteriana.

Como este es el primer estudio que evalúa el efecto de un método de blanqueamiento dental hecho en casa (DIY), en este caso empleando *Musa paradisiaca* “plátano”, sobre la adherencia bacteriana a la superficie dentaria, y lo compara con el método de blanqueamiento dental aplicado profesionalmente usando peróxido de hidrógeno al 35%, no fue posible hacer comparaciones con estudios previos directamente relacionados al tema.

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se acepta la hipótesis alternativa, dado que sí existe adherencia en dientes sometidos a ambos métodos de blanqueamiento. La mayor adherencia bacteriana se encontró en el Grupo III, el cual fue sometido al blanqueamiento aplicado profesionalmente en consultorio con peróxido de hidrógeno al 35%. El segundo grupo con mayor adherencia bacteriana fue el Grupo II, el cual fue sometido al blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY) con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*. Finalmente, el Grupo I (Control) que fue conservado en agua destilada, presentó la menor adherencia bacteriana. Comparando los tres grupos, se obtuvo una significativa diferencia entre los índices de adherencia de *Streptococcus mutans* a la superficie dentaria.

En lo relacionado a los índices de adherencia de *Streptococcus mutans* a la superficie dentaria correspondientes a los grupos sometidos a métodos de blanqueamiento: hecho por un mismo (DIY) con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* y aplicado profesionalmente con peróxido de hidrógeno al 35%, se observó que existe una diferencia estadísticamente significativa.

Este efecto concuerda con las conclusiones planteadas por algunos autores como Kwon¹⁹, quien, a pesar de no expresarse específicamente sobre la adherencia bacteriana, concluyó que existe una diferencia significativa entre los efectos del blanqueamiento aplicado profesionalmente en consultorio con peróxido de hidrógeno al 25% y hecho por uno mismo (DIY) con una mezcla de fresa y bicarbonato de sodio, sobre la microdureza y rugosidad superficial del esmalte. Asimismo coinciden con Dewi⁴⁷, quien encontró una diferencia significativa al evaluar el efecto de los métodos de blanqueamiento aplicado en casa por el paciente bajo supervisión profesional con peróxido de carbamida al 10%, y hecho por uno mismo (DIY) con extracto de manzana, sobre los niveles de calcio dental. Por último, concuerdan con Asmawati⁴⁸, quien concluyó que existe una diferencia significativa en la dureza del esmalte de dientes tratados con los métodos de blanqueamiento aplicado en casa bajo supervisión profesional con peróxido de carbamida al 10% y hecho por uno mismo (DIY) con gel de fresa.

Con este estudio, se corroboró que el método de blanqueamiento dental aplicado profesionalmente en consultorio tiene un efecto sobre la adherencia bacteriana, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo experimental y el grupo control. Esto es consistente con los resultados obtenidos por Hosoya¹⁴ y Anggakusuma⁶⁵, quienes concluyeron que esta aumenta tras el uso del peróxido de hidrógeno al 35% y peróxido de carbamida al 35%, respectivamente. Comparando el peróxido de hidrógeno al 35% con sus otras concentraciones, los resultados son similares a los obtenidos por Al-Jubori¹⁷ y Romero¹⁸, quienes encontraron que el peróxido de hidrógeno al 7.5% aumenta significativamente los índices de adherencia bacteriana.

Podemos atribuir estos resultados a la serie de alteraciones que se presentan en el esmalte sometido a agentes de blanqueamiento dental¹⁸. Estos pueden modificar

sus características superficiales, dejándolo más susceptible a la adherencia bacteriana. Asimismo, al alterar químicamente los sitios de unión a la membrana de esta superficie incrementarían la adherencia bacteriana en el esmalte⁶⁷. Uno de los efectos desfavorables del blanqueamiento dental a la erosión del esmalte debido a su desmineralización, lo que causa una mayor rugosidad en la estructura dental⁶⁸. La rugosidad superficial se considera como un factor predisponente para la adherencia bacteriana por su importante rol en el desarrollo del biofilm de las bacterias orales. Según la literatura una superficie rugosa puede actuar como amortiguador en contra de las fuerzas de corte e incrementar el área disponible para la formación de biofilm, promoviendo así la adherencia bacteriana⁶⁶.

A pesar de la similitud de los resultados obtenidos a los de estudios previos, también se ha encontrado discrepancias. Por un lado los hallazgos de este estudio concuerdan y discrepan con los de Zheng¹⁵, quien observó crecimiento de biofilm a partir de la tercera semana, pero antes de ello lo encontró disminuido. Por otro lado, no existe concordancia con los resultados de Ittatirrut¹⁶, quien no encontró un aumento en la formación de biofilm tras este método de blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35%. Esta discrepancia se debería a la continua liberación de peróxido por parte de los productos blanqueadores, lo que ocasionaría un cambio en el balance biológico existente dentro la cavidad oral. Asimismo, se ha reportado que la liberación de oxígeno por parte del peróxido de hidrógeno tiene un efecto antibacteriano y una acción mecánica sobre la placa dental⁶⁷.

Por otro lado, a pesar de que no existen estudios previos sobre el efecto del método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY) sobre la adherencia bacteriana, los resultados del efecto de este método sobre la adherencia bacteriana en este estudio concuerdan con algunos estudios que observaron efectos sobre el esmalte tras someterlo a este método blanqueamiento. Entre estos estudio tenemos el realizado por Kwon¹⁹, quien observó cambios en la microdureza y morfología tras el uso de una mezcla de fresa y bicarbonato de sodio; por Jung⁴⁰, quien encontró niveles disminuidos de calcio y fósforo tras el uso de extractos de pomelo y ciruela; por Hartanto⁴⁴, quien observó una disminución en la microdureza superficial a partir de la tercera semana posterior al blanqueamiento con una pasta de fresa; y

finalmente por Dewi⁴⁷, quien encontró niveles de calcio disminuido tras el blanqueamiento con extracto de manzana.

La adherencia bacteriana encontrada en los dientes tratados con el extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* se debería a la presencia de ácido ascórbico, así como de ácido málico, los cuales están involucrados en el proceso de erosión^{48,49,69}. Estos ácidos pueden unir el calcio al esmalte y causar porosidades en los cristales del esmalte, lo cual tiene un gran impacto en la erosión. En la erosión encontramos también la desmineralización del esmalte, la cual podría ocasionar una mayor rugosidad. Todo ello, sumado a la capacidad del *Streptococcus mutans* de adherirse a la superficie dental, facilita su adherencia^{66,69}.

Por otra parte, en este presente estudio se identificó la presencia de azúcares reductores y sus derivados. Entre estos podemos destacar a la sacarosa, la glucosa y la fructuosa, los cuales están presentes en la cáscara de plátano tal como lo reporta Chandaju⁷⁰. El *Streptococcus mutans* produce glucanos a partir de la sacarosa través de la actividad de las glucosiltransferasas para incrementar la acumulación bacteriana¹⁶. Esto explicaría el incremento de la adherencia bacteriana a la superficie de dientes sometidos al método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY), empleando extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*.

El resultado de este estudio está parcialmente limitado por el uso de dientes humanos extraídos, lo cual inherentemente diferirá de los dientes vitales en el ambiente oral. En cuanto a otras limitaciones, no se encontró literatura con respecto al efecto de *Musa paradisiaca* sobre la adherencia bacteriana a la superficie dental. Asimismo, no se contó con estudios actualizados sobre el efecto del blanqueamiento aplicado profesionalmente con peróxido de hidrógeno al 35% en la adherencia bacteriana a la superficie dental.

Los hallazgos de esta investigación proveen información importante sobre el efecto de dos métodos de blanqueamiento dental sobre la adherencia de bacteriana a la superficie dentaria. Esto educará a la comunidad odontológica y al público en general sobre la seguridad de estos dos métodos de blanqueamiento con respecto a la adherencia bacteriana, y así concientizará su uso con mayor responsabilidad.

VI. CONCLUSIONES

- Ambos métodos de blanqueamiento dental con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35% causan adherencia bacteriana, siendo mayor al utilizar el segundo.
- La adherencia bacteriana en dientes sometidos a blanqueamiento con extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca* es de 40×10^5 UFC/ml,
- La adherencia bacteriana en dientes sometidos a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 35% es de 77×10^5 UFC/ml.

VII. RECOMENDACIONES

- Se aconseja evaluar la adherencia de otras bacterias cariogénicas a la superficie dentaria sometida a blanqueamiento dental.
- Se recomienda realizar estudios *in vivo* para determinar el efecto del método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY) con recursos naturales como *Musa paradisiaca* sobre la adherencia bacteriana en el diente.
- Se aconseja comparar el efecto del extracto de *Musa paradisiaca* en a distintas concentraciones sobre la adherencia bacteriana a la superficie dentaria.
- Se sugiere investigar el efecto del método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY) empleando otros recursos naturales sobre la adherencia bacteriana en la superficie dentaria.
- Se recomienda estudiar el efecto del método de blanqueamiento hecho por uno mismo (DIY) con recursos naturales sobre otros aspectos en el diente.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kemaloglu H, Atalayin C, Tezel H. Scanning Electron Microscopy Investigation of Enamel Surface Treated with Different Bleaching Agents. *Dentistry*. 2014; 4(4):1-5.
2. Silva F, Chisini L, Demaraco F, Horta B, Correa M. Desire for tooth bleaching and treatment performed in Brazilian adults: findings from a birth cohort. *Braz Oral Res*- 2018; 32(e12): 1-10.
3. Vargas T et al. Efectos de agentes de blanqueamiento dental sobre la concentración de fosfato en el esmalte dental por medio de espectroscopio Raman. *Rev Odontol Mex*. 2015; 19(4): 232- 239.
4. Mango H. Nivel de conocimiento de los efectos nocivos del aclaramiento dental dirigido a los alumnos de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega en el semestre 2018-II. [Tesis de título]. Lima: 2019.
5. Zavanelli A, Sônego M, Zavanelli R, Mazaro J, Faclón-Antenucci R. Perception and expectation. What do patients really wants from the dental treatment?. *Rev Gaúch Odontol*. 2017; 65(3): 243-248.
6. Takesh T, Sargsyan A, Anbarani A, Ho J, Wilder-Smith P. Effects of a novel whitening formulation on dental enamel. *Dentistry* 2017; 7(4): 1-4.
7. Slack M, Swift E, Rossouw E, Phillips C. Tooth whitening in the orthodontic practice: A survey of orthodontists. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2013; 143(4): S644-S71.
8. Leiva G. Erosión del esmalte dental con peróxido de hidrógeno al 35% con y sin activación de luz. [Tesis de título]. Quito; 2019.
9. Muñoz R, Ampuero N. Efecto de lámparas Led en aclaramiento dental en la clínica odontológica UCSG, semestre A-2017. *Revista Conrado*. 2018; 14(62):143-147.
10. Méndez R. Efecto del fluoruro de sodio al 2% en la remineralización del esmalte después del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 38%. [Tesis de doctorado]. Tampico: 2015.
11. Hurd A, Palacios J, Pallotini G, González J, Maláver P, López C. Efecto del aclaramiento dental con peróxido d Efecto de lámparas Led en aclaramiento dental en la clínica odontológica UCSG, semestre A-2017e hidrógeno a

- diferentes concentraciones sobre la superficie del esmalte: un estudio in vitro. *Journal Odont Col.* 2015;8 (16):8-30.
12. Velásquez O, Abanto M. Efecto del peróxido de hidrógeno al 35% con y sin la activación de lámpara de diodos en la microdureza del esmalte. *Kiru.* 2013; 10(1): 42–48.
 13. Sánchez M, Kuong N. Efecto del peróxido de hidrógeno al 40% sobre la fuerza de adhesión de brackets metálicos. *Rev Estomatol Hered.* 2017; 27(2): 81-87.
 14. Hosoya N, Honda K, Iino F, Arai T. Changes in enamel surface roughness and adhesion of *Streptococcus mutans* to enamel after vital bleaching. *J Dent.* 2003; 31(8): 543-548.
 15. Zheng C, Pan J, Wang Z, Wang Y. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching on the growth of *Streptococcus mutans* biofilm on enamel disc surface. *Journal of Peking University (Health Sciences).* 2014; 46(1): 30-34.
 16. Ittatirut S, Matangkasombut O, Thanyasrisung P. In-Office Bleaching Gel with 35% Hydrogen Peroxide Enhanced Biofilm Formation of Early Colonizing Streptococci on Human Enamel. *J Dent.* 2014; 42: 1480-1486.
 17. Al-Jubori SH, Al-Sabawi, Taha MY. Study of the Adherence of *St. mutans* on Bleached and Fluoridated Tooth Surfaces (An In Vitro Study). *Al-Rafidain Dent J.* 2013; 13(2): 116-121.
 18. Romero AJM, Romero AC. Adherencia del *Streptococcus mutans* en Dientes Permanentes Humanos Sometidos a Dos Agentes Blanqueadores. *Kiru.* 2009; 6(1): 39-45.
 19. Kwon S, Kurti S, Oyoyo U, Li Y. Effect of various tooth whitening modalities on microhardness, surface roughness and surface morphology of the enamel. *Odontology.* 2014; 103 (3): 274-279.
 20. Kwon S, Meharry M, Oyoyo U, Li Y. Efficacy of do-it-yourself whitening as compared to conventional tooth whitening modalities: an *in vitro* study. *Oper Dent.* 2015; 40(1): E21-E27.
 21. Juárez K. Estudio Comparativo entre Agentes Blanqueadores Caseros Naturales y Agentes Blanqueadores Aplicados en el Consultorio Dental para determinar su Efectividad, periodo marzo –julio 2016. [Tesis de título]. Loja; 2016.

22. Borja F. Eficacia de la cáscara de plátano como agente blanqueador dental en piezas premolares *in vitro*. Universidad Alas Peruanas, Arequipa – 2013. [Tesis de título]. Arequipa: 2014.
23. Lekshmi J, Nair S, Pillai R, Varghese N, Salim A, Murali N. Spectrophotometric Analysis of Color Changes in Enamel Following Exposure to Herbal Beaching Agents: An *In Vitro* Study. *Cons Dent Endod J*. 2018; 3(2): 62 – 66.
24. Yudhit A. Portency of banana (*Musa paradisiaca var. Raja*) peel extract as color changes agent of human teeth (*In-Vitro*). *IOSR-JDMS*. 2019; 18(10): 68-71.
25. Martín J et al. Estudio Descriptivo In Vitro de Dos Agentes Blanqueadores de Distinta Concentración sobre la Micromorfología del Esmalte Bovino. *Rev Dent Chile*. 2014; 105 (2): 4-7.
26. Omar F, Ab-Ghani Z, Rahman N, Halim M. Nonprescription bleaching versus home bleaching with professional prescriptions: Which one is safer? A comprehensive review of color changes and their side effects on human enamel. *Eur J Dent*. 2019; 13(4): 589-598.
27. Kwon S, Wertz P. Review of the mechanism of tooth whitening. *J Esthet Restor Dent*. 2015. 27(5):240-257.
28. Kwon S, Cortez E, Wang M, Jagwani M, Oyoyo U, Li Y. Systematic review of *in vitro* studies evaluating tooth bleaching efficacy. *AM J Dent*. 2020; 33(1):17-24.
29. Fatima N. In-Vitro Comparative Study of In-office and Home Bleaching Agents on Surface Micro-morphology. *J Coll of Physicians Surg Pak*. 2016; 26(1): 9-12.
30. Llana C, Esteve I, Forner L. Effect of Hydrogen and Carbamide Peroxide in Bleaching, Enamel Morphology, and Mineral Composition: In vitro Study. *J Contemp Dent Pract*. 2017; 18(7): 576-582.
31. Nascimento WC, Gomes YS, Alexandrino LS, Costi HT, Silva JO, Silva CM. Influence of Fluoride Concentrations and pH Value of 35% Hydrogen Peroxide on the Hardness, Roughness and Morphology of Bovine Enamel. *J Contemp Dent Pract*. 2014; 15(4): 392-398.
32. Poggio C, Grasso N, Ceci M, Beltrami R, Colombo M, Chesa M. Ultrastructural Evaluation of Enamel Surface Morphology After Tooth

- Bleaching Followed by the Application of Protective Pastes. *Scanning*. 2016; 38 (3): 221 – 226.
33. Órtiz M, Zavala NV, Patiño N, Martínez GA, Ramírez JH. Efecto del blanqueamiento y el remineralizante sobre la microdureza y micromorfología del esmalte dental. *Rev ADM*. 2016; 73(2): 81-87.
 34. Pimenta-Dutra A et al. The effect of bleaching agents on enamel surface of bovine teeth: A SEM study. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9 (1): e46 – e50.
 35. Grazioli G, Valente L, Isolan C, Pinheiro H, Duart C, Münchow E. Bleaching and enamel surface interactions resulting from the use of highly-concentrated bleaching gels. *Arch Oral Biol*. 2018; 87: 157 – 162.
 36. Fatima N, Iqbal W, Hussain M. Effects of Light Activated Bleaching and Tetra pack Orange Juice on Micro-morphology and Composition of Dental Enamel. *Smile Dent J*. 2014; 9(2): 38-43.
 37. Mohammadi N et al. Effect of 15% Carbamide Peroxide on the Surface Roughness and Adhesion of *Streptococcus mutans* to Microhybrid Composite Resin and Giomer. *World J Dent*. 2017; 8(4): 288-295.
 38. Costa I, Mejía E, Alvarado O. Efecto Antibacteriano in vitro del Eleutherine bulbosa (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATTC 35668. *Pueblo Continente*. 2016; 27(2): 343-350.
 39. Vishwakarma P, Karale R, Sirekha A, Hedge J, Savitha B, Srinivasan A. The Effect of Home Bleaching Agents on the Surface Roughness and Fracture Toughness of Composite Resin Materials. *Dentistry*. 2014; 4 (7): 1-6.
 40. Jung-Hyun L, Sung-Suk B. A Study on the Whitening Effect of Fruit Extracts and the Changes in the Components of the Teeth. *Indian J Sci Technol*, 2016; 9S (1): 1-7.
 41. Brinda B, Madan P, Mohammed J. Effect of an indigenously available herbal tooth whitening system on human enamel microhardness and micromorphology. An in-vitro study. *Sch J Dent Sci*. 2015; 2(3A): 254-258.
 42. Pramesti A, Jasrin T, Hidayat O. Teeth re-whitening effect of strawberry juice on coffee stained teeth. *PJD*. 2013; 25(1): 15-20.
 43. Kalliath C, Mukunda A, Pynadath M, Venugopal V, Prethweeraj J. Comparison between the effect of commercially chemical teeth whitening

- paste and teeth whitening containing ingredients of herbal origin on human enamel. *Ayu*. 2018; 39(2): 113-117.
44. Hartanto A, Rianti D, Meizarini A. Strawberry paste application as bleaching materials towards color change and enamel surface microhardness. *JMKG*. 2012; 1(1): 7-14.
 45. Kumar S, Duraisamy P, Manipal S, Rajmohan, Baharathwaj, Mungura M. Comparison of the whitening properties of commercially available whitening toothpaste using Shade Vision System: An *in vitro* study. *Int J Oral Health Med Res*. 2016; 3(4):22-16.
 46. Rahmawan D, Wijayaningrum K, Puspita S. Comparison of immersion time between strawberry (*Fragaria x ananassa*) juice and 35% carbamide peroxide on tooth discoloration. *Mutiara Medica*. 2018; 18(1):20-24.
 47. Dewi D, Mozartha M, Bikarindrasari R. Effect of apple gel extract application (*Malus Domestica*) on dental calcium solubility. *Denta*. 13(2): 16-23.
 48. Asmawati A, Rieuwpassa I. Comparison of enamel hardness after the application of dental bleaching agents strawberry gel and 10% carbamide peroxide. *J Dentomaxillofac Sci*. 2018; 3(1):17-19.
 49. Asmawati, A, Thalib B, Natsir N, Rieuwpassa I, Mahardhika A, Hasyim R. Ana analysis of the compounds of dental enamel after application strawberry gel with energy-dispersive. *J Int Dent Med Res*. 2018; 11(2) : 656-662
 50. Naikwade P, Gaurav S, Sharayu D, Kailas J. Evaluation of antibacterial properties of *Musa paradisiaca L.* leaves. *Bio Disc*. 2015; 6(1-I): 80-84.
 51. Lakshmi V, Kumar S, Ali A. An Overview of *Musa paradisiaca* Linn. *NPAIJ*. 2015; 11(4): 105-109.
 52. Barua N, Das M. An Overview of phamacological activities of *Musa sapientum* and *Musa paradisiaca*. *IJPPR*. 2013; 4(2): 852-858.
 53. Chabuck Z, Al-Charrakh A, Hindi N, Hindi S. Antimicrobial effect of aqueous banana peel extract, Iraq. *Res Gate: Pharm Sci*. 2013; 1: 73-75.
 54. Puspasari N, Effendi C, Nugraeni Y. Effect of apple juice on whitening teeth after immersion in coffee solution in vitro. *IDJ*. 2012; 1(2): 17-19.
 55. Octarina, Aprilianti E. The effect of *Citus limon* and whitening toothpaste to teeth color changes (Study on the right maxillary central incisor of 18 year old female). *Adv Health Sci Res*. 2018; 8: 211-214.

56. Behiry S et al. Antifungal and antibacterial activities of *Musa paradisiaca* L. peel extract: HPLC Analysis of Phenolic and Flavonoid Contents. *Processes*. 2019; 7 (215): 1-11.
57. Aquino C, Salomao L, Ribeiro S, Siqueira D, Cecon P. Carbohydrates, phenolic compounds and antioxidant activity in pulp and peel of 15 banana cultivars. *Rev Bras Frutic*. 38(4): 1-11.
58. Sugianti N. Effect Extract Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) As an alternative to natural tooth bleaching agent on external discoloration case. *IDJ*. 2012; 1(2): 5-9.
59. Imam MZ, Akter S. *Musa paradisiaca* L. and *Musa sapientum* L.: A phytochemical and pharmacological review. *J App Pharm Sci* 2011; 1: 14-20.
60. Sultan R, Shawkkat M, Hadi S. Antimicrobial, antibiofilm and antiplasmid activity of fruit peel extracts on bacterial dental caries. *Curr Res Microbiol Biotechnol*. 2017; 5(5): 1266-1272.
61. Parra P. Comparación de la sensibilidad dentaria post blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 35% entre hombres y mujeres de 18 a 30 años de edad. [Tesis de especialidad] Cuernavaca: 2017.
62. Chávez R. Adherencia del *Streptococcus mutans* después del uso de la IgY extraído de la yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas. [Tesis de título]. Lima: 2009.
63. Terragno R et al. Bioseguridad en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina. 4° ed. Atlta: Oficina Pública de Salud y Seguridad; 1999.
64. Trakinienė G et al. The effect of the teeth bleaching with 35% hydrogen peroxide on the tensile bond strength of metal brackets. *Sci Rep*. 2017; 7(798): 1-6.
65. Anggausuma k, Ptatiwi D, Widyarman A. The effect of carbamide peroxide on surface enamel structural changes and *Streptococcus mutans* attachment. *Sci Dent J*. 2020; 4(1): 6-10.
66. Attia R, Kamel M. Changes in Surface roughness of bleached enamel by using different remineralizing agents. *Tanta Dent J*. 2016; 13(4):179-186.
67. Briso A, Silva U, Souza M, Rahal V, Júnioe E, Cintra L. A clinical randomized study on the influence of dental whitening on *Streptococcus mutans* population. *Aust Dent J*. 2017;0:1-5.

- 68.** Fatima N. The effect of light activated bleaching versus orange juice on enamel's micro-hardness. *Tanta Dent J.* 2015; 12: 302-307
- 69.** Maestri R. Evaluación *in vitro* de la rugosidad de esmalte y dentina en dientes bovinos expuestos a bebidas isotónicas. [Tesis de título]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2015.
- 70.** Chandarju S, Mythily R, Kumar C. Extraction, isolation and identification of sugars from banana peels by HPLC couple LC/MS instrument and TLC analysis. *J Chem Pharm Res.* 2011; 3(3): 312-321.

IX. ANEXOS

ANEXO N°1: Resolución Decanal



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

Trujillo, 10 de octubre del 2020

RESOLUCION N° 1968-2020-FMEHU-UPAO

VISTO, el expediente organizado por Don (ña) PANTIGOZO MORAN URSULA MARIANA alumno (a) de la Escuela Profesional de Estomatología, solicitando **INSCRIPCIÓN** de proyecto de tesis Títulado "ADHERENCIA BACTERIANA IN VITRO EN DIENTES SOMETIDOS A BLANQUEAMIENTO CON MUSA PARADISIACA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%", para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista, y;

CONSIDERANDO:

Que, el (la) alumno (a) PANTIGOZO MORAN URSULA MARIANA, ha culminado el total de asignaturas de los 10 ciclos académicos, y de conformidad con el referido proyecto revisado y evaluado por el Comité Técnico Permanente de Investigación y su posterior aprobación por el Director de la Escuela Profesional de Estomatología, de conformidad con el Oficio N° 0415-2020-ESTO-FMEHU-UPAO;

Que, de la Evaluación efectuada se desprende que el Proyecto referido reúne las condiciones y características técnicas de un trabajo de investigación de la especialidad;

Que, habiéndose cumplido con los procedimientos académicos y administrativos reglamentariamente establecidos, por lo que el Proyecto debe ser inscrito para ingresar a la fase de desarrollo;

Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este despacho;

SE RESUELVE:

- Primero.- **AUTORIZAR** la inscripción del Proyecto de Tesis intítulado "ADHERENCIA BACTERIANA IN VITRO EN DIENTES SOMETIDOS A BLANQUEAMIENTO CON MUSA PARADISIACA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%", presentado por el (la) alumno (a) PANTIGOZO MORAN URSULA MARIANA, en el registro de Proyectos con el N°767-ESTO por reunir las características y requisitos reglamentarios declarándolo expedito para la realización del trabajo correspondiente.
- Segundo.- **REGISTRAR** el presente Proyecto de Tesis con fecha 10.10.20 manteniendo la vigencia de registro hasta el 10.10.22.
- Tercero.- **NOMBRAR** como Asesor de la Tesis al (la) profesor (a) Dr. GONZALEZ CABEZA JOSE.
- Cuarto.- **DERIVAR** al Señor Director de la Escuela Profesional de Estomatología para que se sirva disponer lo que corresponda, de conformidad con la normas Institucionales establecidas, a fin que el alumno cumpla las acciones que le competen.
- Quinto.- **PONER** en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de lo dispuesto en la presente resolución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.


JUAN DIAZ PLASECIA
Decano (e)


ELENA ADELA CACERES ANDONAIRE
Secretaria de Facultad

C.C.
ESCUELA DE ESTOMATOLOGIA
ASESOR
EXPEDIENTE
Archivo

ANEXO N°2: CONSTANCIA DE ASESORÍA

CONSTANCIA DE ASESORIA

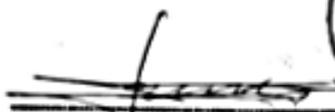
Yo, **González Cabeza José Guillermo**, docente de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, hace constatar que está asesorando el Proyecto de Investigación titulado:

“Adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%”

De la bachiller **Pantigozo Morán Ursula Mariana**, identificada con ID N° 000109952.

Se expide la presente para los fines pertinentes.

Trujillo, 09 de octubre del 2020


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN



Dr. José Guillermo González Cabeza

ANEXO N°3: AUTORIZACIÓN DE LA UNIDAD INVESTIGADOR PARA LA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CONSTANCIA DE AUTORIZACIÓN DE AMBIENTES Y EQUIPOS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

Por la presente se deja constancia de la autorización de uso de los laboratorios y equipos del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego, para la ejecución del proyecto de investigación titulado: **“ADHERENCIA BACTERIANA IN VITRO EN DIENTES SOMETIDOS A BLANQUEAMIENTO CON MUSA PARADISIACA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%”** de la bachiller de la Escuela Profesional de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego **URSULA MARIANA PANTIGOZO MORÁN**, identificada con DNI N° 70767652, bajo el asesoramiento del Dr. **JOSÉ GUILLERMO GONZÁLEZ CABEZA**.

Se extiende la constancia para fines pertinentes

Trujillo, 29 de noviembre del 2019




Dr. JOSÉ GUILLERMO ONZÁLEZ CABEZA

Coordinador del Laboratorio de
Microbiología Molecular y Biotecnología

ANEXO N°4: CONSTANCIA DE SUPERVISIÓN DE LA EJECUCIÓN DE LA PRUEBA PILOTO Y DE CALIBRACIÓN

CONSTANCIA DE SUPERVISION DE PRUEBA PILOTO Y DE CALIBRACIÓN

Yo, José Guillermo González Cabeza, Biólogo, identificado con el N° C.B.P. 2849 hago **CONSTAR** la supervisión de la ejecución de la prueba piloto y de calibración de la tesis, realizada en los ambientes del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo, titulada:

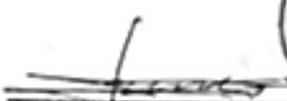
“ADHERENCIA BACTERIANA *IN VITRO* EN DIENTES SOMETIDOS A BLANQUEAMIENTO CON *MUSA PARADISIACA* Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%”

Alumna: Bach. Úrsula Mariana Pantigozo Morán

ID: 000109952

Se expide la presente para fines convenientes.

Trujillo, noviembre del 2019


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN



ANEXO N°5: CALIBRACIÓN DEL INVESTIGADOR

Variable	n	Calibración	% de concordancia	Kappa	*p
Agua destilada	4	Interevaluador	100%	1.00	<0.01
Extracto etanólico al 50% de <i>Musa paradisiaca</i>	4	Interevaluador	100%	1.00	<0.01
Peróxido de hidrogeno al 35%	4	Interevaluador	100%	1.00	<0.01

*Kappa de Cohen

Puntuación casi perfecta

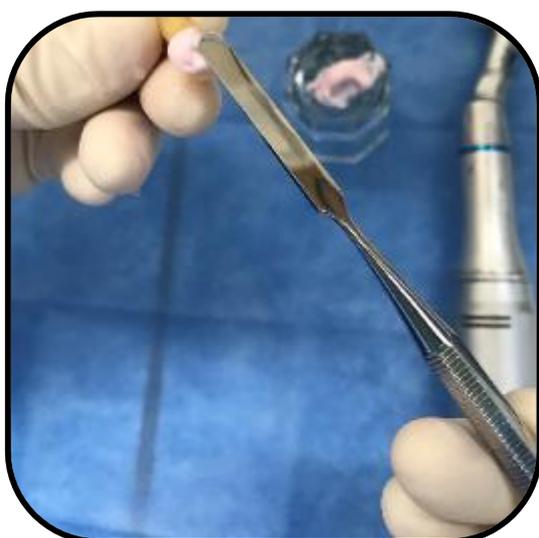
ANEXO N°6: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

GRUPO	N° PLACA PETRI	UFC/ML
GRUPO I CONTROL (AGUA DESTILADA)	#1	
	#2	
	#3	
	#4	
	#5	
	#6	
GRUPO II EXTRACTO ETANÓLICO AL 50% DE MUSA PARADISIACA	#7	
	#8	
	#9	
	#10	
	#11	
	#12	
GRUPO III PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%	#13	
	#14	
	#15	
	#16	
	#17	
	#18	

ANEXO N°7: RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

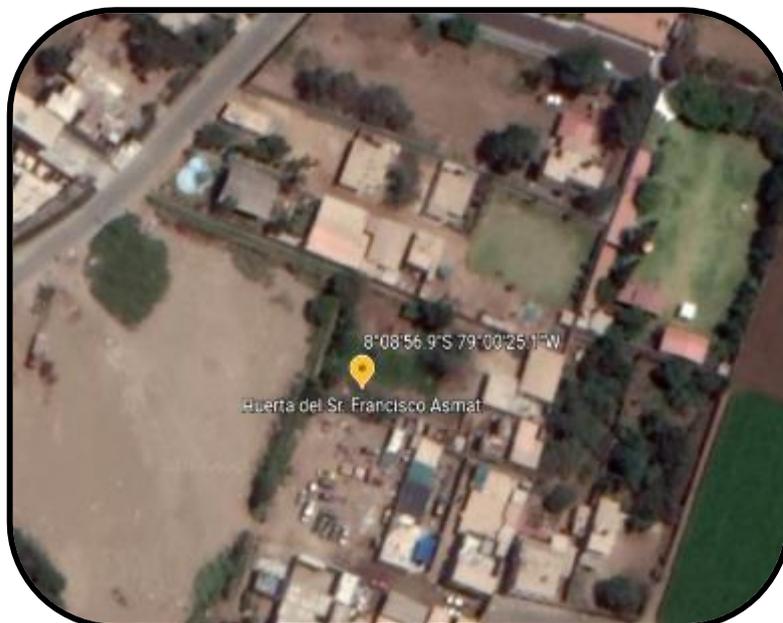


ANEXO N°8: PREPARACIÓN DE LA MUESTRA





ANEXO N°9: UBICACIÓN GEOREFERENCIAL DEL LUGAR DE LA COLECTA



ANEXO N°10: RECOLECCIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO

Recolección de hojas de *Musa paradisiaca*



Recolección de flores de *Musa paradisiaca*



Recolección de frutos de *Musa paradisiaca*



Adecuación del material biológico en prensa para su traslado a HAO



ANEXO N°11: PRENSADO DE MUESTRA PARA HERBARIO





ANEXO N°12: SECADO DE MUESTRA PARA HERBARIO EN ESTUFA ARTESANAL



ANEXO N°13: CONSTANCIA DEL HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO) DE LA IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE *MUSA PARADISIACA*



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 23-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Úrsula Mariana Pantigozo Morán**, bachiller en Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

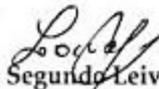
***Musa paradisiaca* L. (Musaceae)**

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: «Adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%».

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 23 de julio de 2019




Mg. Segundo Leiva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural

ANEXO N°14: MONTAJE DE LA MUESTRA EN HERBARIO HAO

Materiales



Procedimiento



**ANEXO N°15: MUESTRA BOTÁNICA DEPOSITADA EN EL HERBARIO HAO
CON EL NÚMERO 20130**



ANEXO N°16: AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNT

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA

CONSTANCIA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE AMBIENTES Y EQUIPOS DEL LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO PARA EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

Por la presente se deja constancia de la autorización de uso de los laboratorios y equipos del Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, para la ejecución del proyecto de investigación titulado: "ADHERENCIA BACTERIANA *in vitro* EN DIENTES SOMETIDOS A BLANQUEAMIENTO CON *Musa paradisiaca* Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%" de la bachiller de la Escuela Profesional de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, ÚRSULA MARIANA PANTIGOZO MORÁN, identificada con DNI N° 70767652, bajo el asesoramiento del Dr. JOSÉ GUILLERMO GONZÁLEZ CABEZA.

Se extiende la constancia para fines pertinentes

Trujillo, 07 de julio del 2019



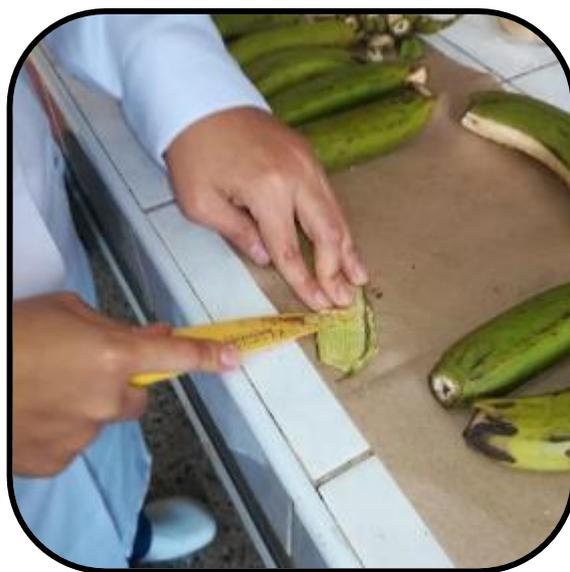
Dr. Q.F. Edmundo Arturo Venegas Casanova
QUÍMICO FARMACÉUTICO
COFILL N° 11858

Dr. EDMUNDO ARTURO VENEGAS CASANOVA
Jefe del Laboratorio de Farmacognosia
Docente Investigador de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO N°17: LAVADO Y SECADO DE LOS FRUTOS DE *MUSA PARADISIACA*



ANEXO N°18: EXTRACCIÓN DEL MESOCARPIO DE *MUSA PARADISIACA*



ANEXO N°19: PREPARACIÓN DE EXTRACTO DE *MUSA PARADISIACA*





Conservación del extracto en refrigeración



**ANEXO N°20: CONSTANCIA DE PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO
AL 50% DEL MESOCARPIO DEL FRUTO DE *MUSA PARADISIACA***

CONSTANCIA

Yo, **Edmundo Arturo Venegas Casanova**, Profesor Auxiliar D.E. Código 5843, Docente de la cátedra de Farmacognosia y Farmacobotánica del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura CQFLN N°11658

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación del extracto etanólico al 50% del mesocarpio del fruto de la especie *Musa paradisiaca* en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, a la bachiller **ÚRSULA MARIANA PANTIGOZO MORÁN**, identificada con DNI 70767652 con domicilio legal en San Martín de Porres 250 Urb. San Andrés, egresada de la Escuela Profesional de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, en la ejecución de la tesis titulada: "**Adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%**".

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

Trujillo, 11 de julio del 2019

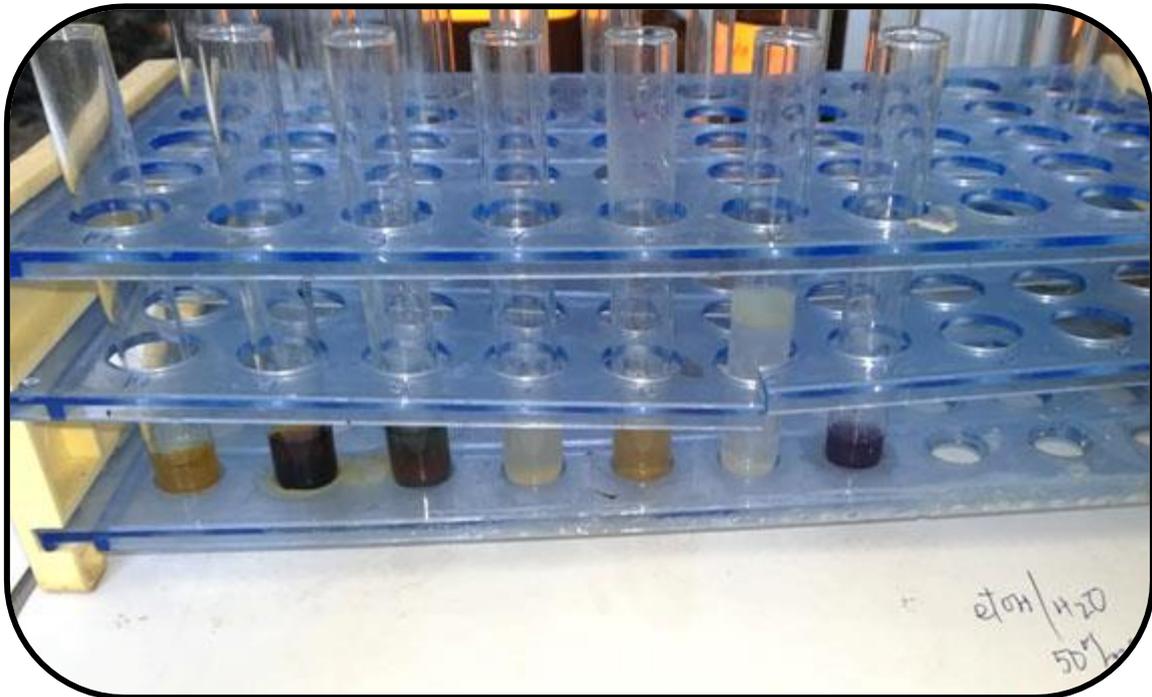


Dr. Q.F. Edmundo Arturo Venegas Casanova
QUÍMICO FARMACÉUTICO
CQFLN N°11658

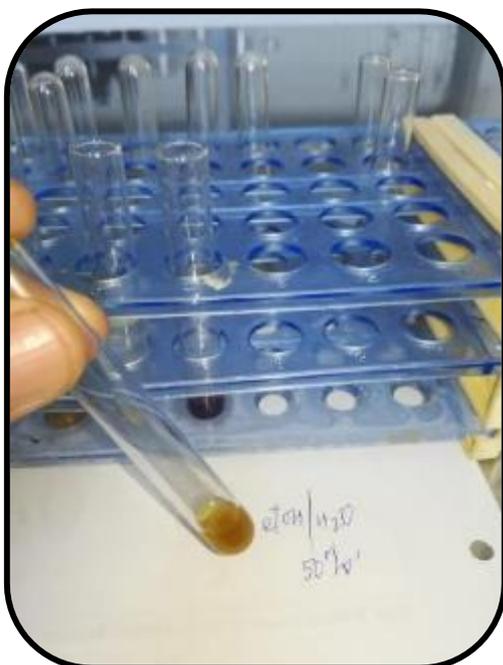
Dr. Edmundo Arturo Venegas Casanova
Químico Farmacéutico
CQFLN N°11658

ANEXO N°21: MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Esquema de general de marcha fitoquímica



**Ensayo de Tricloruro Férrico
(Polifenoles)**



**Ensayo de Dragendorff
(Alcaloides)**



**Ensayo de Fehling
(Azúcares reductores)**



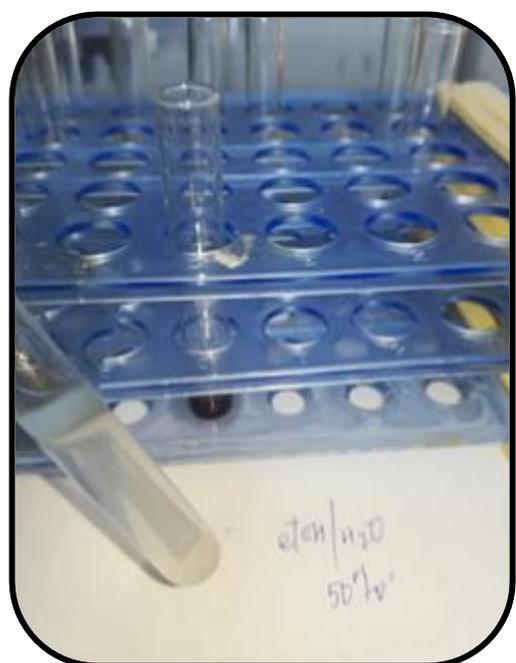
**Ensayo de Gelatina
(Taninos)**



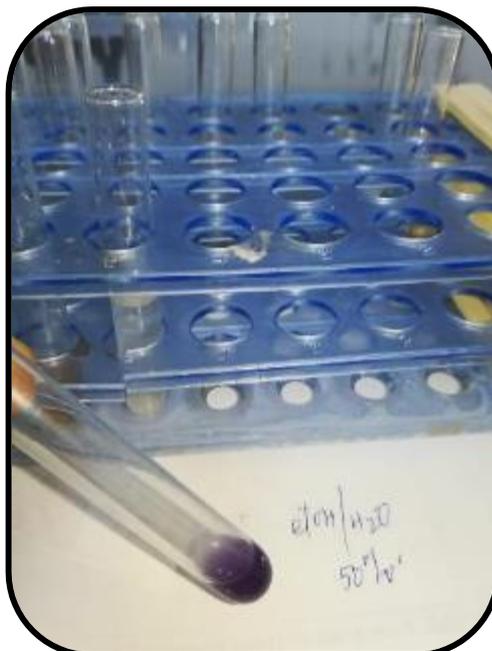
**Ensayo de Shinoda
(Flavonoides)**



**Ensayo de Espuma
(Saponinas)**



**Ensayo de Ninhidrina
(Aminoácidos)**



**ANEXO N°22: TABLA DE RESULTADOS DE LA MARCHA FITOQUÍMICA
PRELIMINAR DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 50%**

METABOLITOS SECUNDARIOS	PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
Polifenoles	Tricloruro férrico	-
Alcaloides	Dragendorff	++
Azúcares reductores	Fehling	++
Taninos	Gelatina	-
Flavonoides	Shinoda	+
Saponinas	Espuma	++
Aminoácidos	Ninhidrina	+

Leyenda:

- Negativo (-): Ausencia de coloración
- Positivo (+): Coloración leve
- Positivo (++) : Coloración intensa

Firma del Especialista (Q.F.):

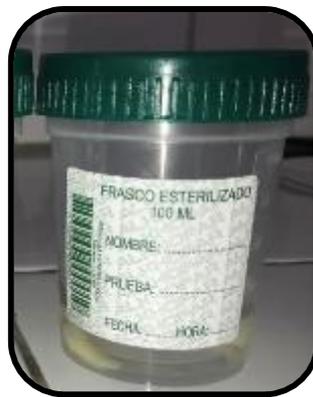


 Dr. Q.F. Estimundo Arturo Velazquez Casanova
 QUÍMICO FARMACÉUTICO
 COFLL N° 11658

ANEXO N° 23: ESTERILIZACIÓN DE INSTRUMENTAL



ANEXO N°24: G1 – CONSERVACIÓN EN AGUA DESTILADA



**ANEXO N°25: G2 – BLANQUEAMIENTO CON EXTRACTO ETANÓLICO AL 50%
DE *Musa paradisiaca***

Extracto etanólico al 50% de *Musa paradisiaca*



Procedimiento

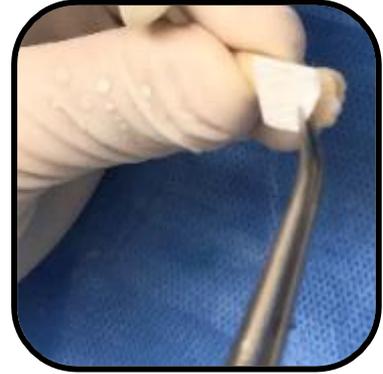
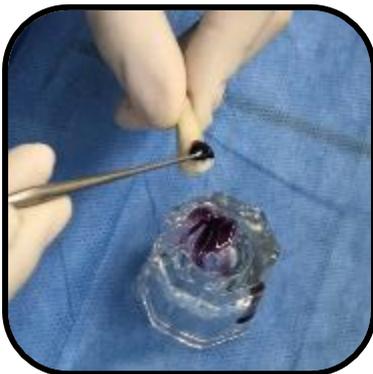
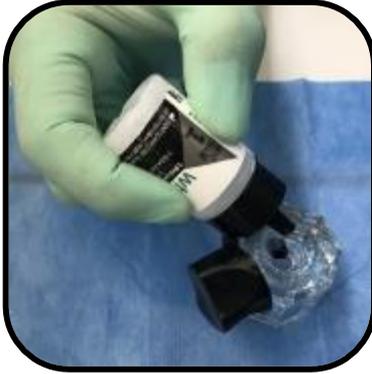


ANEXO N°26: G3 – BLANQUEAMIENTO CON PERÓXIDO DE HIDRÓGENO 35%

Peróxido de hidrógeno – Whiteness HP Maxx



Procedimiento



ANEXO N°27: CONSTANCIA DE SUPERVISIÓN DE ESPECIALISTA CIRUJANO-DENTISTA

CONSTANCIA

Yo, **IORELLA GRACE CLAUDET SANCHEZ**, docente de la Escuela Profesional de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, con registro COP N°17559, hago **CONSTAR** la supervisión de la ejecución de los procedimientos de blanqueamiento dental aplicado profesionalmente en consultorio con peróxido de hidrógeno al 35%, en el Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología, de la Tesis titulada: **“Adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%”**, de la bachiller Úrsula Mariana Pantigozo Morán, identificada con ID: 000109952.

Se expide la presente para fines convenientes.

Trujillo, 30 de enero del 2020



Dra. Fiorella Grace Claudet Sanchez
C.O.P. 17559 - FINE 629

DRA. IORELLA GRACE CLAUDET SANCHEZ

Cirujano-Dentista
COP N°17559

ANEXO N°28: INCUBACION EN ESTUFA A 37° POR 24 HORAS



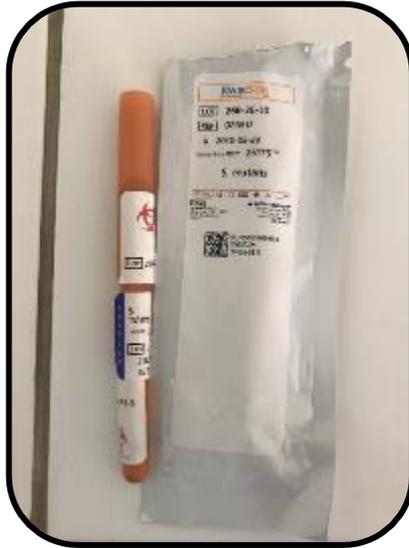
ANEXO N°29: ESTERILIZACIÓN EN AUTOCLAVE A 121° C POR 60 MINUTOS



**ANEXO N°30: FRACTURA ELECTRÓNICA DE LA COMPRA DE LA CEPA
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175 A GENLAB**

	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 F001-001495														
Page 1 of 1																
Fecha emisión : 28/09/2018 Fecha Voto : 28/09/2018 Cliente: UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO ORREGO Dirección: Av. AMERICA SUR NRO. 3145 URB. MONSERRATE TRUJILLO - TRUJILLO - LA LIBERTAD - Peru RUC : 20141878477 Lugar de destino :	Orden Compra: COTIZ 18-031225 Guía de Remisión : N° Pedido : 020573 Tipo Movimiento : ANTICIPOS															
<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr style="background-color: #cccccc;"> <th style="text-align: left;">Código</th> <th style="text-align: left;">Descripción</th> <th style="text-align: right;">Cant</th> <th style="text-align: right;">UM</th> <th style="text-align: right;">Precio Unit.</th> <th style="text-align: right;">Dcto</th> <th style="text-align: right;">Sub-Total</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>HD5868-A</td> <td>KWIK-STIK - Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™</td> <td style="text-align: right;">1</td> <td style="text-align: right;">UND</td> <td style="text-align: right;">309.67</td> <td style="text-align: right;">0.00</td> <td style="text-align: right;">309.67</td> </tr> </tbody> </table>			Código	Descripción	Cant	UM	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total	HD5868-A	KWIK-STIK - Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	309.67	0.00	309.67
Código	Descripción	Cant	UM	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total										
HD5868-A	KWIK-STIK - Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	309.67	0.00	309.67										
TRESIENTOS SESENTA Y CINCO CON 41/100 SOLES 		<table style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: right;">Anticipo</td> <td style="text-align: right;">0.00</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Op. Gravada S/</td> <td style="text-align: right;">309.67</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">IGV 18%</td> <td style="text-align: right;">55.74</td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;">Importe Total S/</td> <td style="text-align: right;">365.41</td> </tr> </table>	Anticipo	0.00	Op. Gravada S/	309.67	IGV 18%	55.74	Importe Total S/	365.41						
Anticipo	0.00															
Op. Gravada S/	309.67															
IGV 18%	55.74															
Importe Total S/	365.41															
Representación Impresa de la Factura Electrónica Consulta : http://cps.genlabperu.com																
Observaciones de SUNAT : La Factura numero F001-001495, ha sido aceptada																
Después de Vencido el plazo de cancelación, se recargará el interés legal correspondiente. Sírvanse Realizar el Depósito Respectivo a las Sigüentes Ctas Bancarias: BCP Soles 193-1440607-0-84 BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34																

ANEXO N°31: CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175



ANEXO N°32: REACTIVACIÓN DE LA CEPA DE ST. MUTANS ATCC 25175



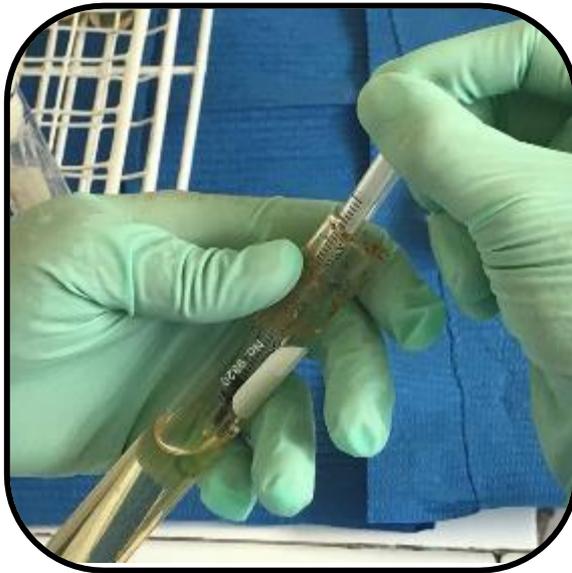
ANEXO N°33: PREPARACIÓN DEL INÓCULO







ANEXO N°34: INOCULACIÓN DE CEPA DILUÍDA



ANEXO N°35: EXPOSICIÓN DE PREMOLARES A CEPA DILUIDA



ANEXO N°36: INCUBACIÓN DE TUBOS DE ENSAYO EN ESTUFA



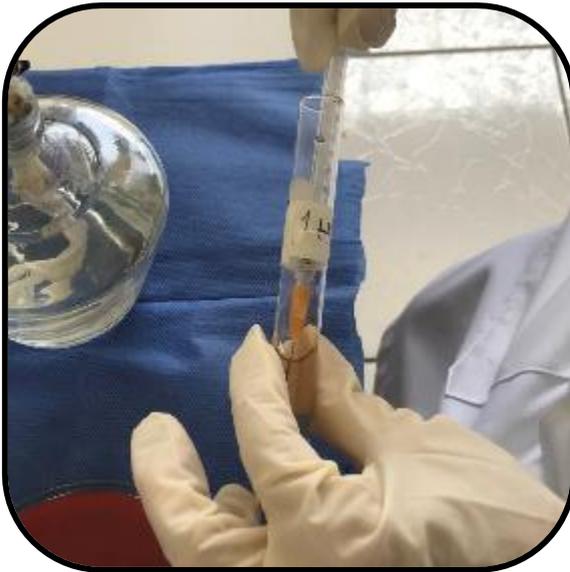
ANEXO N°37: CENTRIFUGADO DE TUBOS DE ENSAYO



ANEXO N°38: PREPARACIÓN DE DILUCIONES



ANEXO N°39: SEMBRADO EN PLACAS PETRI

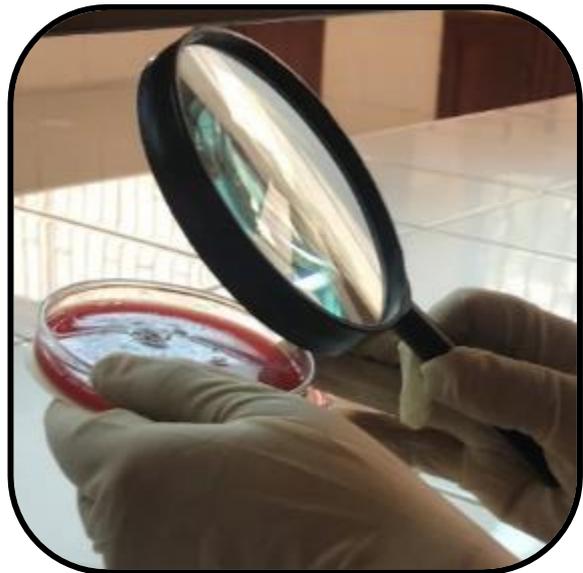
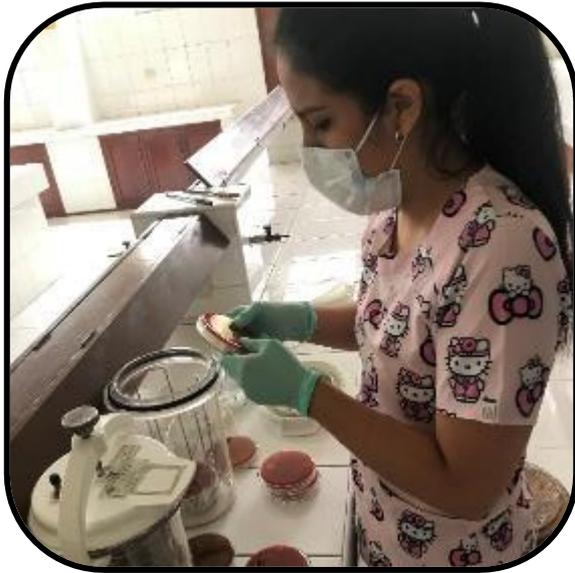




ANEXO N°40: INCUBACIÓN DE PLACAS PETRI EN ESTUFA



ANEXO N° 41: RECUENTO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS



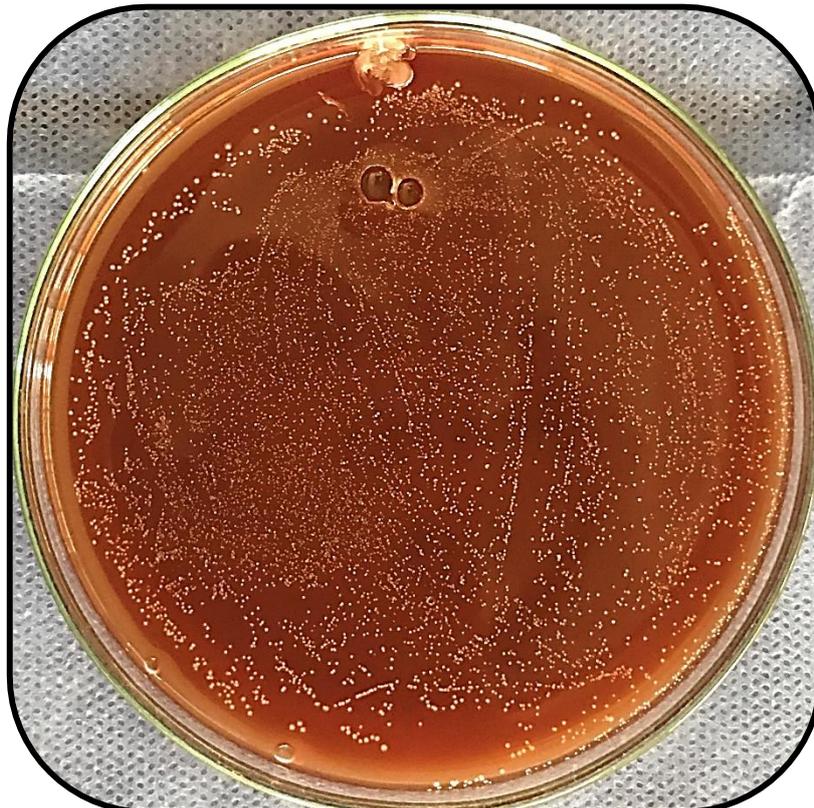
Grupo I – Agua Destilada



Grupo II – Extracto Etanólico de *Musa paradisiaca*



Grupo III – Peróxido de Hidrógeno al 35%



ANEXO N°42: CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE TESIS

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGIA

CONSTANCIA DE EJECUCION DE TESIS

Yo, José Guillermo González Cabeza, Biólogo, identificado con el N° C.B.P. 2849 hago **CONSTAR** que la bachiller Ursula Mariana Pantigozo Morán, identificada con ID: 000109952, realizó la ejecución de la Tesis titulada: **“Adherencia bacteriana *in vitro* en dientes sometidos a blanqueamiento con *Musa paradisiaca* y peróxido de hidrógeno al 35%”**, bajo mi supervisión y asesoramiento, la cual se llevó a cabo desde el 27/11/2019 al 31/01/2020 en los ambientes del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo.

Se expide la presente para fines convenientes.

Trujillo, febrero del 2020


Dr. José Guillermo González Cabeza
JEFE
UNIDAD DE CENTROS DE INVESTIGACIÓN



DR. JOSÉ GUILLERMO GONZÁLEZ CABEZA

Biólogo – CBP 2849

**Coordinador del Laboratorio de
Microbiología Molecular y Biotecnología**

ANEXO N°43: PRUEBA DE NORMALIDAD

Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk de Grupos Control y Experimentales

Para evaluar la normalidad de los datos obtenidos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk ya que el tamaño muestral fue menor a 50. Se observó que los resultados que se obtuvieron se ajustan a una distribución normal ($p > 0.05$), por lo que la comparación de los grupos se realizó aplicando pruebas paramétricas.

GRUPOS	PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK		
	Estadístico	GI	Sig.
I CONTROL (AGUA DESTILADA)	0.95022291	6	0.74208703
II EXTRACTO ETANÓLICO AL 50% DE <i>MUSA PARADISIACA</i>	0.97890068	6	0.94596449
III PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%	0.91841585	6	0.49402514

*Programa estadístico SPSS ver 23.