

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE
SOLANUM LYCOPERSICUM SOBRE *PORPHYROMONAS*
GINGIVALIS Y *STREPTOCOCCUS MUTANS***

TRABAJO DE GRADO

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

**GRUPO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIONES Y TRATAMIENTOS
ODONTOLÓGICOS UNIVERSIDAD DE CARTAGENA GITOU**

CARTAGENA DE INDIAS D.T.C. y H 2016

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *SOLANUM
LYCOPERSICUM* SOBRE *PORPHYROMONAS GINGIVALIS* Y
*STREPTOCOCCUS MUTANS***

ANTONIO JOSE DIAZ CABALLERO

Odontólogo. Universidad de Cartagena 1980 - de 1987.

Especialista en Periodoncia. Pontificia Universidad Javeriana 1989 - de 1990.

Magíster en Educación. Universidad del Norte 2003 - de 2006.

Doctor en Ciencias Biomédicas. Instituto De Investigaciones Inmunológicas De La
Universidad de Cartagena 2008-2012.

MARIA ALEJANDRA PUERTA DOMINGUEZ

MELISSA VARGAS HERNÁNDEZ

Estudiantes X Semestre. Facultad de Odontología. Universidad de Cartagena

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

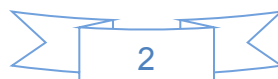
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

**GRUPO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIONES Y TRATAMIENTOS
ODONTOLÓGICOS UNIVERSIDAD DE CARTAGENA GITOU**

CARTAGENA DE INDIAS D.T.C. y H

2016



NOTA DE ACEPTACION

Firma del Presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido seguir su camino y guiarme en el proceso para cumplir mi proyecto de vida.

A mis padres, para que este informe sirva como testigo del esfuerzo y dedicación de todo el trabajo del cual ellos fueron partícipes a través de su apoyo incondicional.

Al grupo de investigación GITOUC, como fiel resultado del trabajo en equipo y del proceso educativo que llevan con gran éxito al instruir a jóvenes para que ingresen en el mundo de la investigación.

A la comunidad científica en general para que estos resultados le sean de gran ayuda para formular nuevas alternativas de tratamiento para el control de microorganismos orales.

AGRADECIMIENTOS

Al departamento de farmacología de la universidad de Cartagena por su ayuda en la prestación de instrumentos de investigación

Al grupo Evaluación Biológica de Sustancias Promisorias bajo la dirección del Dr. Luis Alberto Franco Ospina por el apoyo brindado para la realización de los procesos de laboratorio.

A nuestras amigas, hermanas, compañeras y futuras colegas Angélica María Peñate y María Bernarda Mondol por acompañarnos en nuestro proceso de laboratorio y durar largas jornadas en las instalaciones de la universidad con nosotras.

A nuestras amigas Ma. José Paternina, Daniela Villarreal, Isabella Manzúr, Jessica Fragoso porque nuestra amistad fue el mejor resultado y conclusión de este proyecto.

CONTENIDO

1. RESUMEN DEL PROYECTO	7
2. INTRODUCCION.....	8
3. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA O PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN.....	10
4. OBJETIVOS.....	14
4.1. OBJETIVO GENERAL	14
4.2 OBJETIVO ESPECIFICO.....	14
5. MARCO TEORICO	15
6. METODOLOGIA.....	20
6.1 OBTENCION DEL EXTRACTO Y PRUEBA DE SOLUBILIDAD	20
6.2 RECONSTITUCIÓN Y CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS.....	21
6.3 CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO.....	22
6.4 EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA DE <i>Streptococcus mutans</i> Y <i>Porphyromonas gingivalis</i> en extracto de <i>Solanum Lycopersicum</i> ...	23
6.5 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC) 244	
6.6 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA.....	26
6.7 ANALISIS ESTADISTICO	277
6.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	288
7. RESULTADOS.....	29
7.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO	29
7.2 PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE EXTRACTOS.....	299
7.3 ANALISIS FITOQUIMICO DEL EXTRACTO.....	30
7.4 PREPARACION DE LOS EXTRACTOS PARA SU EVALUACIÓN	3030

7.5 CULTIVO DE MICROORGANISMOS	31
7.6 CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO	32
7.7 SENSIBILIDAD BACTERIANA	344
7.8 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC)..	366
7.9 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA.....	367
8. DISCUSION	38
9. CONCLUSION.....	42
10. RECOMENDACIONES.....	43
11. BIBLIOGRAFIA	44
12. ANEXOS.....	49

1. RESUMEN DEL PROYECTO

Desde tiempos remotos se utilizan sustancias naturales para combatir microorganismos patógenos y darle solución a las enfermedades ocasionadas por estos. En el ámbito odontológico se habla de caries dental y enfermedad periodontal, dos enfermedades infecciosas que afectan potencialmente los dientes y tejidos de soporte de la cavidad oral, estas enfermedades tienen alta incidencia en la población y tienen al *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis* como las bacterias implicadas en su etiología. Existen sustancias presentes en la naturaleza, compuestos de plantas que ayudan a disminuir la incidencia de estas enfermedades actuando sobre las bacterias que la producen ocasionando menos efectos adversos que los fármacos antimicrobianos. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de semilla, pulpa y pericarpio del *Solanum Lycopersicum* sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*. **Metodología:** El presente trabajo será un estudio experimental *In vitro*. se realizará la obtención del extracto acuoso de las partes debidamente procesadas del *Solanum lycopersicum* mediante liofilización y posteriormente se observará la concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima Bactericida (CMB). **Resultados esperados:** Observar efecto antibacteriano de *Solanum Lycopersicum* sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*, y determinar cuál parte de la planta tiene más actividad antibacteriana, para con estudios posteriores implementarlo como una ayuda para el tratamiento de enfermedades como la caries dental y la enfermedad periodontal.

Palabras clave (DeCS): bacterias, *Solanum lycopersicum*, plantas medicinales, liofilización, deshidratación, cultivo.

Palabras clave (MeSH): bacterium, *Solanum lycopersicum*, medicinal plants, freeze-drying, dehydration, crop.

2. INTRODUCCION

Actualmente el uso de plantas medicinales se ha convertido en un paradigma que ha servido de motivación para emplearlo en el ámbito odontológico. En múltiples comunidades se ha vuelto común el uso de extractos de plantas algunas de estas plantas, como el ajo, el clavo, el tabaco, la yedra, el higo, la ortiga y el perejil se emplean con cierta constancia para el tratamiento de enfermedades, dolores, inflamaciones, manejo de cefaleas etc. evidenciándose resultados satisfactorios en los pacientes. Por esta razón se ha impulsado la realización de nuevos estudios con plantas medicinales para evaluar las propiedades medicinales que estas puedan tener, evaluar los efectos clínicos que estas podrían tener y aplicarlo para la resolución de enfermedades en los pacientes.

Como ejemplo de esto tendríamos el *Allium sativum*,¹ nombre científico del ajo, que reporta actividad antiinflamatoria, antivírica y antibacteriana de microorganismos que se encuentran en la placa dental, evaluaciones sobre hongos en donde se identificó actividad antifúngica considerable sobre *T. mentagrophytes* y *Sporothrixschenekii*², dos hongos productores de micosis cutánea como la esporotricosis.

Otras plantas como El limón (*Citrus Limonum*, rutácea) Antiséptico, antihemorrágico, “antiescorbútico”, refrescante, tónico, febrífugo y ligeramente diurético. El jugo de limón, empleado en enjuagues, actúa sobre las aftas y sirve para frotarse los dientes una vez por semana., El incienso (*Bowallia Carterii*, terebintáceo) y también el enebro (*Juniperuslycia*).Es odorífero, mascando el olíbano (incienso macho), perfuma el aliento. El clavo (*Eugenia Caryophyllata*, mirtácea) Excitante y estomacal, pero también antiséptico y calmante de los dolores dentales,La yedra enredadera (*HederaHelix*, analiácea)Analgésica, particularmente contra los dolores dentales, antiespasmódica y emenagoga Es utilizada en los traumatismos y en forma de baños de boca, contra las irritaciones bucales³.

Por tal razón conviene hacer un llamado para que en las generaciones venideras no exista una desinformación en este sentido que nos lleve a perder esta

sabiduría, anclada en los tiempos e incentivar a realizar más estudios sobre los efectos de los extractos naturales con el fin de conseguir mejores resultados en el ámbito clínico.

3. PLANTEAMIENTO DE LA PREGUNTA O PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN.

La enfermedad periodontal y la caries dental actualmente son de las enfermedades más prevalentes de la cavidad oral, la caries dental es un proceso dinámico que ocurre en los depósitos microbianos que están sobre la superficie del diente, el metabolismo de estos depósitos microbianos es el que es capaz de romper ese equilibrio y puede en el tiempo producir una desmineralización progresiva del tejido duro de los dientes ^{1,2} está ya se considera epidémica debido a que ha alcanzado gran parte de la población escolar y adulta en los últimos años³. Por otro lado la enfermedad periodontal también de carácter infeccioso que afecta de manera progresiva a los tejidos de soporte del diente ha alcanzado grandes tasas epidémicas en la población mundial, esta tiene dos grandes grupos que son las gingivitis esta afecta la encía provocando una inflamación y las periodontitis que se da una destrucción más profunda comprometiendo el hueso alveolar, el cemento dental y el ligamento periodontal. Estas enfermedades son multifactoriales es decir que no solo se atribuye su etiología a las bacterias que atacan estos tejidos sino también a condiciones ambientales, sistémicas o genéticas que pueda tener la persona que la padezca⁴. Sin embargo el biofilm bacteriano (placa dental) es el factor con mayoría de influencia en estos procesos patológicos este se acumula en los dientes y su desarrollo está influenciado por aspectos como la higiene oral, las bacterias más asociadas a la aparición de estas enfermedades son el *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*^{5,6}. La

1. Houshmand B, Mahjour F, Dianat O. Antibacterial effect of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) extract on dental plaque bacteria. Indian journal of dental research. Febrero 2013. Vol. 24, no. 1, p. 71-5

2. Singh DN, Verma N, Raghuwanshi S, Shukla PK, Kulshreshtha DK. Antifungal activity of *Agapanthus africanus* extractives. En: Fitoterapia. Junio 2008. Vol. 79, no. 4, p. 298-300

3. Lamendin H. Plantestherapeutiqueethygiènebucco-dentaires, aujourd'hui. Ch. Dent. Fr. 959-90-92, 1999.

4. Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries research, 38(3), 182-191.

5 Ruby J, Goldner M. Nature of symbiosis in oral disease. Journal of dental research. 2007 Jan;86(1):8-11. PubMed PMID: 17189457

odontología moderna se está enfocando en la promoción y prevención surgiendo la necesidad de erradicar los agentes etiológicos causantes de estas enfermedades prevalentes es decir las bacterias, a través de bactericidas para su exterminación total o bacteriostáticos para controlar su población ^{7, 8, 9}, por esta razón se han implementado un sin número de sustancias como dentífricos, colutorios, geles que son utilizados para la higiene oral cuyo principio activo son agentes antimicrobianos que pueden controlar y combatir los microorganismos de la cavidad oral como lo son: la clorhexidina (bisbiguanidas), los fluoruros, cloruro de cetil piridino, cloruro de benzalconio, aceites esenciales (eucaliptol, timol). Compuestos fenólicos (triclosan) entre otros estos han demostrado tener eficiencia en el control y eliminación de microorganismos pero han demostrado tener efectos adversos tales como vómitos, diarreas, malestares estomacales, efecto irritante a la mucosa oral, inflamación y ulceración de tejidos blandos, petequias, sensación alterada del gusto y tinción de los dientes ^{10, 11, 12, 13, 14}, también para el tratamiento se utilizan los fármacos antimicrobianos sistémicos pero estos han demostrado tener poca efectividad a nivel local donde realmente se requiere el efecto ¹⁵, por lo tanto ha surgido la necesidad de investigar sustancias que sean efectivas con componentes naturales para reducir los efectos adversos dirigidos específicamente a los patógenos orales implicados en el desarrollo de la

⁶ S.N. DESHPANDE* DGK, SACHIN B INGLE**. Studies on determination of susceptibility to dental caries among school children. International Journal of Pharma and Bio Sciences April – June 2012;3(2):809-17

⁷ Petersen PE LM. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. Community Dent Oral Epidemiol (2004);32:319-21

⁸ Rodríguez Cruces, V. (2013). Aislamiento de Porphyromonas gingivalis del biofilm dental en pacientes antes y después de un mes de tratamiento ortodóncico fijo.

⁹ Sarabia, M. M., Meriño, M. G., & Pérez, O. G. R. (2015). La dieta y su relevancia en la caries dental y la enfermedad periodontal. Revista Archivo Médico de Camagüey, 9(1).

¹⁰ Rueda, L. A. (2012). Análisis de educación permanente en salud odontológica y en el área de la prevención (Doctoral dissertation, Facultad de Odontología).

¹¹ Tascón, J. E., Londoño, D., Jaramillo, C., Burbano, P., & Mesa, M. (2013). Creencias, prácticas y necesidad de tratamiento periodontal en una población adulta en Cali, 2003.

¹² Giraldo, S. J., Mossos, R., Muñoz, M. M., Perea, C. L., & Prado, C. (2012). Prevalencia de caries y enfermedad periodontal en escolares del sector público de Cali, 2005.

¹³ Bascones-Martínez, A., Muñoz-Corcuera, M., & Bascones-Ilundain, C. (2015). Reacciones adversas a medicamentos en la cavidad oral. Medicina Clínica, 144(3), 126-131.

¹⁴ H L. Present day status and direction for future research on the etiology and prevention of periodontal disease. J Periodontol 1969;40:678-82

¹⁵ SP YWK. Mucosa! sensitivity to chlorhexidine mouthwash. Singapore Dent J 1988;13:39-40.

enfermedad y que estos sean seguros para la salud. La medicina natural ha demostrado ser eficaz para el tratamiento de múltiples enfermedades infecciosas, degenerativas demostrando un tasa realmente baja de manifestaciones secundarias ¹⁶, Los compuestos de origen vegetal son una fuente grande pero muy poco investigada y tienen relación con la higiene oral y la implementación de tratamientos ¹⁷. Actualmente se han venido usando como alternativa, debido a que las enfermedades infecciosas son cada vez más difíciles de tratar por la prevalencia de microorganismos antibiótico – resistentes, Por lo cual, surge la necesidad de desarrollar mecanismos o alternativas de tratamientos que contrarresten dichos microorganismos pues se han convertido mundialmente, en una problemática de salud pública.

El *Solanum lycopersicum* es un miembro de la familia Solanaceae, uno de los más cultivados a nivel mundial¹⁸, debido principalmente a alta demanda que genera y a su vez a la constante oferta en el mercado, que compensa cualquier necesidad presente en la población. Se caracteriza por poseer diversos componentes cuyos contenidos se encuentran íntimamente relacionados con la salud por lo que son utilizados para reducir el riesgo de varias enfermedades crónicas, como lo son las enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Entre los componentes de mayor impacto del *Solanum lycopersicum*, una variedad de fitoquímicos, incluyendo carotenoides como el licopeno, fitoeno, fitoflueno y la provitamina A, β -carotenoide, caroteno, vitamina C, glicósidos de quercetina, naringenina y ácido clorogénico.¹⁹ Todos estos, conocidos por poseer un mecanismo de acción que incluirá la modulación de enzimas detoxificantes, estimulación del sistema inmune, reducción de la agregación plaquetaria, reducción de la presión sanguínea y efectos antioxidantes, antibacterianos y

¹⁶ AA F. Contact stomatitis, glossitis, and cheilitis. Otolaryngol Clin North Am 1974;7:827-43

¹⁷ Kowitz G, Lucatoro, F. and Bennett, W. Effects of dentifrices on soft tissues of the oral cavity. J Oral Med. 1973;28:105-9

¹⁸ Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 1999;12(4):564-82

¹⁹ Kakuko Yasunaka FA, Ariaki Nagayama, Hikaru Okabe, Lucio Lozada-Pérez, Edith López-Villafranco, Elizabeth Estrada Muñiz, Abigail Aguilar, Ricardo Reyes-Chilpa. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. . Journal of Ethnopharmacology 97. 2005:293–9

antivirales ²⁰ No obstante, adentrándonos en el conocimiento de sus componentes, encontramos además, características claves en el licopeno, un pigmento rojo perteneciente a la familia de los carotenoides, que se encuentra en frutas rojas y verduras como los tomates (*Solanum lycopersicum*), capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres y evitan el daño en las moléculas y las membranas celulares. Además se utiliza potencialmente para tratar infecciones microbianas y sinérgicamente con algunos antibióticos contra diversas bacterias²¹ como es el caso del *Streptococcus mutans* y la *Porphyromonas gingivalis*. Sin embargo, no se ha logrado determinar con precisión o exactitud que compuesto o compuestos del mismo, son los que nos brindan la acción antibacteriana en un medio básico, como lo es la cavidad oral. Por lo que nos cuestionamos entonces ¿existe efecto antibacteriano del extracto acuoso de del *Solanum lycopersicum*? contra *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*? Y ¿qué compuestos son los implicados en dicho efecto?

²⁰ More G, Tshikalange TE, Lall N, Botha F, Meyer JJM. Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. Journal of ethnopharmacology. 2008;119(3):473-7

²¹ Meena O, Brahadur V. Breeding potential of indeterminate tomato (*solanum lycopersicum* L.) accessions using d2 analysis. Sabrao Journal of Breeding and Genetics. 2015 January; 47 (1) 49-59.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de la pulpa del *Solanum Lycopersicum* sobre *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*.

4.2. OBJETIVO ESPECIFICO

- Identificar *in vitro* la actividad antibacteriana del extracto acuoso de semilla, pulpa y pericarpio del *Solanum Lycopersicum* en *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto acuoso de pulpa del *Solanum Lycopersicum* por medio de grados de turbidez en placas de 96 pozos evaluados con espectrofotometría.
- Determinar la concentración mínima bactericida (MBC) del extracto de acuoso de *Solanum Lycopersicum*
- Determinar mediante el análisis pre-eliminar fitoquímico los compuestos del extracto acuoso del *Solanum Lycopersicum*

5. MARCO TEORICO

En odontología es muy frecuente combatir patologías de tipo infeccioso en donde el acumulo de bacterias se hace mucho más factible debido a que se encuentran las condiciones favorables para el crecimiento y desarrollo de colonias bacterianas estas a su vez provocaran daños en los órganos dentarios y en los tejidos de soporte. La biopelícula dental es una comunidad microbiana diversa que se encuentra en la superficie dental embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival.²² Ciertos organismos aprovecharon los cambios en el medio y llegan para colonizar zonas favorables como los surcos gingivales y la superficie dental.^{23,24,25}

Entre las enfermedades infecciosas más representativas de la cavidad oral encontramos la caries dental y la enfermedad periodontal, el microorganismo más representativo de la caries dental es el *Streptococcus mutans*, una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa que predomina como principal colonizador en el biofilm que está bastante adherido a las piezas dentarias²⁶,^{27,28} y el más asociado a la enfermedad periodontal es *Porphyromonas gingivalis*, un bacilo gran negativo anaerobio estricto no habita comúnmente en la flora normal sino que aparece cuando se presentan las condiciones específicas de anaerobiosis este posee una enzima que es la colagenasa, que tiene la capacidad de degradar las fibras colágenas, genera un alto daño y

²² Luyo, A. G. P. (2014). La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Revista estomatológica hereditaria*, 15(1).

²³ Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. En: *Periodontol* 2000. Febrero 2011. Vol. 55, no. 1, p. 16-

²⁴ Zhu Y, Dashper SG, Chen YY y col. *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* synergistic polymicrobial biofilm development. En: *PLoS one*. 2013. Vol.8, no.8, p.:e71727

²⁵ Thorstensson H, Johansson B. Why do some people lose teeth across their lifespan whereas others retain a functional dentition into very old age? En: *Gerodontology*. Marzo 2010. Vol. 27, no. 1, p. 19-25.

²⁶ Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. En: *Caries Res*. Abril 2011. Vol. 45, no. 1, p. 69-86

²⁷ Raoult D, Foti B, Aboudharam G. Historical and geographical parallelism between the incidence of dental caries, *Streptococcus mutans* and sugar intake. En: *European journal of epidemiology*. Agosto 2013. Vol. 28, no. 8, p. 709-10

²⁸ Yoshida A, Ansai T, Takehara T, Kuramitsu HK. LuxS-based signaling affects *Streptococcus mutans* biofilm formation. En: *Applied and environmental microbiology*. Mayo 2005. Vol. 71, no. 5, p. 2372-80

perdida de los tejidos por la progresiva degradación de las fibras.²⁹ La enfermedad periodontal se caracteriza por presentar pérdida acelerada de la inserción periodontal y destrucción del soporte óseo y la caries dental presenta degradación de la superficie del esmalte dental, estructura que se encarga de proteger el órgano dentario por lo tanto la necesidad de erradicar estos microorganismos se ha vuelto esencial, actualmente el uso de plantas medicinales se ha incrementado y vuelto un tema a investigar, estas proponen una alternativa viable dentro del plan de tratamiento. Dentro de las plantas medicinales efectivas para microorganismos encontramos un estudio de Ishnava y colaboradores en el 2013 evaluaron extractos de etilacetato, hexano, metanol y acuosos de hojas de eucalyptus globules labill, sobre bacterias cariogénicas como *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans*, mediante la evaluación de la concentración mínima inhibitoria utilizando el método de difusión en agar. Se concluyó que todos los extractos presentaban muy buena actividad antibacteriana, teniendo resultados mayores de inhibición en el extracto a base de etilacetato³⁰. También, en el año 2002, Bairy y col. evaluaron las alteraciones en la población de microorganismos en placa subgingival de pacientes que utilizaron hojas de Magnifera indica, comúnmente conocida como mango, adicional a sus equipos de higiene oral, en contraste con la población bacteriana de pacientes que solo usaron cepillo dental. Se reportó que había una considerable disminución en el número de *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis* en comparación con el grupo control por lo que concluyeron que el uso de estas hojas podría ser utilizado favorablemente como coadyuvante de las herramientas y técnicas de higiene oral habituales.³¹ En el 2006 labrecque y col. evaluaron la capacidad que tenían los

²⁹ Carinci F, Scapoli L, Girardi A, Cura F, Lauritano D, Nardi GM, et al. Oral microflora and periodontal disease: new technology for diagnosis in dentistry. En: Annali di stomatologia. 2013. Vol. 4, no. 2, p. 170-3

³⁰ Ishnava KB, Chauhan JB, Barad MB. Anticariogenic and phytochemical evaluation of Eucalyptus globules Labill. Saudi journal of biological sciences. Enero 2013. Vol. 20, no. 1, p. 69-74.

³¹ Labrecque J, Bodet C, Chandad F, Grenier D. Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of Porphyromonas gingivalis. En: The Journal of antimicrobial chemotherapy. Vol. 58, no. 2, p. 439-43.

componentes de jugo de arándanos no disuelto sobre la formación de biofilm por parte de *Porphyromonas gingivalis*, utilizando un ensayo en placas de poliestireno y microscopia electrónica. En el ensayo se demostró que dichos componentes no afectaban el crecimiento ni la viabilidad de las bacterias pero si impedían la formación del biofilm y la unión de esta a superficies con fibronectina, colágeno tipo 1 y suero humano.

Otra planta que ha sido poco estudiada de la cual se podrían realizar numerosos estudios para determinar sus propiedades medicinales es el *Solanum lycopersicum*, uno de los cultivos más importantes en todo el mundo, utilizado como hortaliza y común en zonas tropicales con temperaturas de 20°-25°. ³²

El *Solanum lycopersicum* de la familia Solanaceae, genero Solanum, Especie S. Lycopersicum y se conoce comúnmente como Tomate ó Jitomate. Este tipo de planta se adapta bien a una gran variedad de climas. La excepción radica en climas propensos a sufrir heladas, fenómeno al que el S. lycopersicum es sensible, así como los pimientos, la patata, la lechuga, etc. Además, requiere humedades medias, que no superen el 70 % por lo que el aumento de estos valores, favorecerá el desarrollo de hongos.

En cuanto a su morfología, su sistema radicular está formado por una corta y débil raíz principal y raíces secundarias de mayor grosor; El tallo principal cuenta con un eje de 2-4cm de grosor en su base, sobre el que se desarrollan las hojas y tallos secundarios. Sus hojas son compuestas e imparipinnadas con foliolos peciolados, lobulados, con borde dentado y recubiertos de pelos glandulares, los cuales se disponen de forma alterna sobre el tallo. Su flor, regular e hipógina con cinco o más sépalos e igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos helicoidalmente a intervalos de 135° y finalmente, su

³² Casierra-Posada, F., & Aguilar-Avenidaño, Ó. E. (2008). Calidad en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cosechados en diferentes estados de madurez. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 300-307.

fruto, puede alcanzar un peso entre pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas ³³.

Epidemiológicamente, estudios sugieren un papel cardio-protector para los alimentos ricos en carotenoides ³⁴ con numerosos estudios que muestran que los individuos que ingieren más carotenoides en su dieta presentan menor riesgo de presentar enfermedades crónicas³⁵. Los informes recientes sugieren que la periodontitis puede ser un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares ^{36,37,38} Y Además, los factores de riesgo reconocidos para las enfermedades cardiovasculares son también factores de riesgos para la enfermedad periodontal ^{39,40}. Por lo que crecientemente existe evidencia de una relación bidireccional entre las etiologías de ambas enfermedades sistémicas y periodontales ^{41,42,43} Sin embargo, factores sistémicos probablemente modifican la respuesta a bacterias y lipopolisacáridos (LPS), lo que resulta en

³³ Bonilla-Barrientos, O., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Cruz-Izquierdo, S., Reyes-López, D., Hernández-Leal, E., & Hernández-Bautista, A. (2014). Diversidad agronómica y morfológica de tomates arrifonados y tipo pimiento de uso local en Puebla y Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 129-139.

³⁴ Chopra, M., O'Neill, M., Keogh, N., Wortley, G., Southon, S. & Thurnham, D. (2000) Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clinical Chemistry* 46, 1818–1829

³⁵ Mayne, S. (1996) Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *FASEB Journal* 10, 690–701.

³⁶ Beck, J., Offenbacher, S., Williams, R., Gibbs, P. & Garcia, R. (1998) Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease. *Annals of Periodontology* 3, 127–141.

³⁷ Arbes, S. Jr., Slade, G. & Beck, JD. (1999b) Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data. *Journal of Dental Research* 78, 1777– 1782

³⁸ Loos, B. G., Craandijk, J., Hoek, F. J., Wertheim-van Dillen, P. M. & van der Velden, U. (2000) Evaluation of systemic markers related to cardiovascular disease in peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of Periodontology* 71, 1528–1534.

³⁹ Grossi, S. & Genco, R. (1998) Periodontal disease and diabetes mellitus: a two way relationship. *Annals of Periodontology* 3, 51–61.

⁴⁰ Wu, T., Trevisan, M., Genco, R., Falkner, K., Dorn, J. & Sempos, C. (2000a) Examination of the relationship between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *American Journal of Epidemiology* 151, 273–282

⁴¹ Fowler, E., Breault, L. & Cuenin, M. (2001) Periodontal disease and its association with systemic disease. *Military Medicine* 166, 85–89.

⁴² Taylor, G. (2001) Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Annals of Periodontology* 6, 99–112.

⁴³ Kinane, D. & Marshall, G. (2001) Periodontal manifestations of systemic disease. *Australian Dental Journal* 46, 45–48.

formas y patrones específicos de enfermedad periodontal y enfermedades a nivel de la estructura del esmalte.

6. METODOLOGIA

6.1 OBTENCION DEL EXTRACTO Y PRUEBA DE SOLUBILIDAD

Los frutos de las plantas fueron recolectados del invernadero y vivero Arayanes ubicado en la ciudad de Barranquilla, Atlántico, Colombia y fueron enviadas al herbario de la universidad de Antioquia para su identificación taxonómica en donde se confirmó la especie de la planta y el fruto. Se recolecto un total de 5,000 gr de *Solanum lycopersicum*.

La preparación del extracto se basó en la separación, pesaje y congelación a temperatura de -80° C las partes del *Solanum lycopersicum* (semillas, pulpa y pericarpio) previo lavado con agua desionizada y secado a temperatura ambiente. Posterior a este proceso, por el método de sublimación se realizó el paso de estados de la materia hasta obtener polvo producto de cada parte del *Solanum lycopersicum*, luego se volvió a congelar el polvo a temperatura -80° , por presentarse aun con partes acuosas y finalmente se volvió a realizar el proceso de liofilización donde se obtuvo polvo en su totalidad. Se escogió trabajar con extractos acuosos pues él agua es un solvente orgánico que es de los más utilizados en este tipo de estudios, además de causar menos efectos adversos sobre bacterias y células que se utilicen sobre estas metodología.

Una vez obtenidos los extractos se realizó la prueba de solubilidad utilizando como solvente el agua. **(Figura 1)**



FIGURA 1. separacion del extracto de *Solanum lycopersicum*

6.2 RECONSTITUCIÓN Y CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS

La reconstitución del *Streptococcus mutans* (ATCC25175) se realizó según las indicaciones de ATCC. Como medio de cultivo se utilizó el caldo Trypticasa de soya suplementado con extracto de levadura, sucrosa, agar-agar y bacitracina (TYS20B). Para realizar el cultivo y siguiendo las indicaciones del proveedor la bacteria, preservada a una temperatura de -20°C , se sacó del congelador y se esperó a que estuviera a temperatura ambiente. El stick que contenía la bacteria, fue sacado de su empaque en condiciones asépticas óptimas en una cabina de flujo laminar vertical. Inmediatamente se aplicó presión vertical para que el hisopo entrara en contacto con la suspensión de bacterias que se encontraba en el fondo del stick y se presionó levemente con los dedos para favorecer que la punta de este se impregnara de forma abundante. El hisopo fue removido del stick y haciendo movimientos circulares de afuera hacia adentro se hizo el cultivo sobre las cajas de Petri con el agar nutritivo anteriormente mencionado. Este procedimiento se realizó sobre todas las cajas de Petri utilizadas y previamente esterilizadas. Finalizado el cultivo, las cajas de Petri fueron rotuladas con el

nombre de la bacteria y la fecha del cultivo y se llevaron a una jarra de anaerobiosis utilizando las bolsas Anaerogen (Oxoid® UK) para alcanzar dicha condición. El cultivo se llevó a una incubadora por un periodo de 48 horas a una temperatura de 37°C siguiendo lo encontrado en la revisión bibliográfica, y se obtuvo un crecimiento abundante de la bacteria.

Para el cultivo de la *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) se utilizó como medio de cultivo el agar Brucella suplementado con hemina (5ug/ml), vitamina K (1mg/ml) y 5% de sangre humana. El procedimiento de reconstitución se hizo según las indicaciones del proveedor que fue el mismo utilizado para el *Streptococcus mutans* en condiciones de anaerobiosis y se incubó por 7 días a 37°C, sin embargo al séptimo día no se obtuvo el crecimiento esperado.

6.3 CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO

Para *Streptococcus mutans* se tomó la mayor cantidad de colonias de los medios de cultivo y se inocularon en tubos con caldo nutritivo Trypticase de soya suplementado con extracto de levadura, sucrosa, y bacitracina y se verificó que quedara a una concentración de 0.08 a 0,1 según la escala de McFarland utilizando un espectrofotómetro de microplacas Multiskan EX (Thermo®, UK).

. Una vez alcanzada esta concentración el inóculo se llevó a incubación a 37°C en condiciones de anaerobiosis utilizando el método de jarra con vela para alcanzar dichas condiciones. Utilizando una placa de poliestireno de 96 pozos se evaluó la absorbancia del inóculo después de transcurrido 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 24 horas dando como resultado la curva de crecimiento.

De la misma forma con *Porphyromonas gingivalis* se realizó la curva de crecimiento utilizando caldo Brucella suplementado con hemina (5ug/ml), vitamina K (1mg/ml) y 5% de sangre humana. El periodo de lectura también tuvo un tiempo de duración de 48 horas.

6.4 EVALUACION DE LA SENSIBILIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* Y *Porphyromonas gingivalis* en extracto de *Solanum Lycopersicum*.

Para hacer la evaluación de la sensibilidad de las bacterias se utilizó una concentración de 8.000ppm para el extracto de *Solanum lycopersicum*. Se tomaron de las soluciones stock, que estaban a una concentración de 10.000ppm, 10µ y se vertieron en tubos eppendorf de 1,5ml estériles que contenían 800µl de extracto y 200 µl de agua, con lo que se alcanzó una solución de 10.000ppm la cual al momento de ser depositada en el pozo en conjunto con el inculo de bacterias resultó con una concentración de 8.000ppm.

Siguiendo el orden metodológico, se realizó el diseño de la placa de poliestireno de 96 pozos teniendo todos los controles de esterilidad, de color, de toxicidad de los solventes y de crecimiento tanto positivo como negativo con gentamicina a 16ppm. El diseño se ilustra en la **FIGURA 2**.

VALOR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	AGUA 100 µl						CALDO 100 µl					
B	50 µl de agua + 50 µl de extracto 500 ppm			50 µl de agua + 50 µl de extracto 1000 ppm			50 µl de agua + 50 µl de extracto 2000 ppm					
C	50 µl de agua + 50 µl de extracto 4000 ppm			50 µl de gentamicina + 50 µl de inculo						50 µl de agua + 50 µl de inculo		
D	50 µl de extracto 500 ppm + 50 µl de inculo						50 µl de extracto 1000 ppm + 50 µl de inculo					
E	50 µl de extracto 2000 ppm + 50 µl de inculo						50 µl de extracto 4000 ppm + 50 µl de inculo					
F	50 µl de inculo + 50 µl de agua											
G												
H												

CONTROL DE ESTERILIDAD
CONTROL DE COLOR
CONTROL DE CRECIMIENTO
PRUEBA DE SENSIBILIDAD
TOXICIDAD DEL SOLVENTE

Figura 2. Diseño de la placa de poliestireno para la evaluación de la sensibilidad de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis* en extracto de *Solanum Lycopersicum*.

Cabe resaltar que lo último que se agregó a la placa de 96 pozos fue el inóculo de bacterias el cual se preparó utilizando el caldo correspondiente para cada bacteria (TYS20B para *Streptococcus mutans* y caldo Brucella suplementado con hemina (5ug/ml), vitamina K (1mg/ml) y 5% de sangre humana para *Porphyromonas gingivalis*), tomando la mayor cantidad de colonias de bacterias de las cajas de Petri e inoculándolas en los tubos con caldo y verificando que estas quedaran a una concentración de 0,08 a 0,1 según la escala de McFarland.

Posteriormente la placa preparada se llevó a incubación en condiciones anaerobias en una jarra de anaerobiosis utilizando el sistema de bolsas Anaerogen (Oxoid® UK) por un periodo de 13 horas para *Streptococcus mutans* y de 22 horas para *Porphyromonas gingivalis*. Tiempo transcurrido se realizó la medición de la observación en un lector de microplacas Multiskan EX (Thermo®, UK).

6.5 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC)

Para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Solanum lycopersicum* se prepararon 14 concentraciones partiendo de 500ppm (siendo esta la concentración más baja que presento actividad antibacteriana en la prueba de sensibilidad bacteriana) hasta llegar a una concentración de 0,0610ppm. Para realizar estas concentraciones, a partir de la solución que se encontraba a 500ppm se tomaron 100µl diluyéndolos con otros 100µl de agua para disminuir su concentración a la mitad. Se obtuvieron dos tubos haciendo esto, uno para el estudio y otro para la preparación de la siguiente dilución. A partir de estos se siguió haciendo el mismo procedimiento obteniendo dos tubos hasta obtener las 14 concentraciones para hacer la identificación de la concentración mínima inhibitoria. Como se muestra en la **FIGURA 3**.



FIGURA 3. Concentraciones para la realización de concentración mínima

Para probar los extractos se realizó la prueba de microdilución en caldo utilizando una placa de poliestireno de 96 pozos con el diseño para cada extracto presentado en la **FIGURA 4.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	50 µl caldo + 50 µl 1.000 ppm	50 µl 1.000 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 3,90 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 3,90 ppm		
B	50 µl caldo + 50 µl 500 ppm	50 µl 500 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 1,95 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 1,95 ppm		
C	50 µl caldo + 50 µl 250 ppm	50 µl 250 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 0,97 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 0,97 ppm		
D	50 µl caldo + 50 µl 125 ppm	50 µl 125 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 0,48 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 0,48 ppm		
E	50 µl caldo + 50 µl 62,5 ppm	50 µl 62,5 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 0,24 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 0,24 ppm		
F	50 µl caldo + 50 µl 31,25 ppm	50 µl 31,25 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl 0,12 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl caldo + 50 µl 0,12 ppm		
G	50 µl caldo + 50 µl 15,62 ppm	50 µl 15,62 ppm extracto + 50 µl inoculo				50 µl Gentamicina + 50 µl Inoculo				100 µl Caldo		
H	50 µl caldo + 50 µl 7,81 ppm	50 µl 7,81 ppm extracto + 50 µl inoculo				100 µl Inoculo				100 µl Agua		

FIGURA 4. Diseño detallado de micro placas de 96 pozos para evaluación de la concentración mínima inhibitoria.

Posterior a la preparación de las placas, estas fueron incubadas a 37°C en condiciones de anaerobiosis utilizando el sistema de bolsas Anaerogen (Oxoid® UK) durante 13 horas para *Streptococcus mutans* y de 22 horas para *Porphyromonas gingivalis*. Al cabo de este tiempo, se realizó la medición de la observación en un lector de microplacas Multiskan EX (Thermo®, UK).

6.6 EVALUACION DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA

La concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de la planta de estudio fue determinada mediante el método descrito por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, en donde las muestras seleccionadas fueron aquellas concentraciones que no demostraron crecimiento bacteriano durante la determinación de la CMI (no existencia de diferencia significativa entre la densidad óptica de las muestras y el caldo).

Para esto se procedió a tomar una asada de los pozos que las contenían, realizando un subcultivo en cajas de Petri con agar correspondiente para cada bacteria (con los pozos de control positivo y negativo también se efectuó esta misma operación). Las cajas de Petri inoculadas se incubaron en anaerobiosis dependiendo de la bacteria a 37°C (**FIGURA 5**). Luego de este periodo se observó la existencia o no de crecimiento de colonias bacterianas y se clasificaron los extractos como bacteriostáticos (aquellos en los que se observaron crecimiento bacteriano en el subcultivo) o bactericida (aquellos en los que no se observaba crecimiento bacteriano).

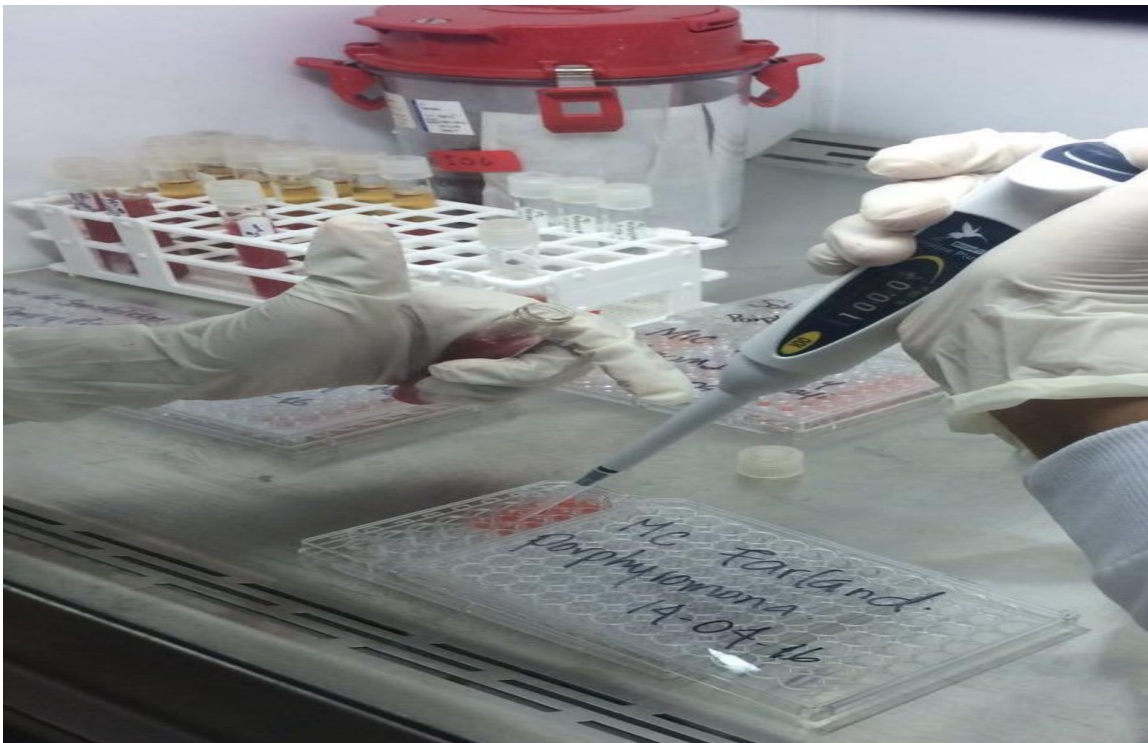


FIGURA 5. Diseño de placas para introducir a la incubadora

6.7 ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en la evaluación de las curvas de crecimiento bacteriano, pruebas de sensibilidad y concentración mínima inhibitoria fueron analizados y graficados utilizando el software Graphpad Prism 5.01, en donde se efectuó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) tomándose un grado de confianza considerando que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control es

significativa cuando $P < 0.05$ (95% de confianza). Los datos fueron graficados como la media \pm la desviación estándar de la media.

6.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Tomando en cuenta lo establecido en el artículo 67 de la resolución 008430 de 1993 del ministerio de salud de Colombia, donde se disponen los reglamentos y estatutos a seguir en investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos, se tuvo en cuenta y se incluyó el proyecto como grupo de riesgo número uno: en el cual los microorganismos representaron un escaso riesgo para el individuo y para la comunidad, por tal motivo pueden ser manipulados en laboratorios tipo básico de microbiología.

7. RESULTADOS

7.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

Primeramente se realizó el material vegetal, proceso que incluye la preparación del extracto, en el que se dio la separación, pesaje y congelación a temperatura de -80° C las partes del *Solanum lycopersicum* (semillas, pulpa y pericarpio) previo lavado con agua desionizada y secado a temperatura ambiente. Posterior a este proceso, por el método de sublimación se realizó el paso de estados de la materia hasta obtener polvo producto de cada parte del *Solanum lycopersicum*, luego se volvió a congelar el polvo a temperatura -80° , por presentarse aun con partes acuosas y finalmente se volvió a realizar el proceso de liofilización donde se obtuvo polvo en su totalidad. Los extractos tenían un color rojo característico del vegetal analizado y no presentaron sensibilidad a la luz. Se procedió a realizar los cultivos bacterianos, curva de crecimiento, prueba de solubilidad del extracto y concentración mínima inhibitoria bacteriana. Con respecto a las partes como semilla y pericarpio presentaron dificultad al momento de su maceración y preparación por lo cual no serán evaluados en el estudio.

7.2 PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE EXTRACTOS

Para el extracto de *Solanum Lycopersicum* se tomó una cantidad de 100 mg con la ayuda de una balanza analítica los cuales se depositaron un tubo eppendorf estéril con capacidad para 1,5ml; como solvente se utilizó el agua que mostro mejor capacidad para disolver el extracto; debido a que este es liofilizado y el fruto es en su mayoría agua obteniendo una solución con el extracto totalmente disuelto. **(FIGURA 6)**

Extracto	Solvente	
Tomate	DMSO 1%	+
	Etanol 1%	+
	Metanol	+
	AGUA	++

FIGURA 6. Solvente que mostro mejor disolución del extracto

7.3 ANALISIS FITOQUIMICO DEL EXTRACTO

Se llevó a cabo el análisis preliminar fitoquímico del extracto acuoso de *Solanum lycopersicum* con el fin de tener claridad sobre los componentes esenciales que este posee. Se encontraron abundantes Azucares reductores (AR), Flavonoides (FL), Cumarinas (CU) y Saponinas (SA); Moderados Cardiotonicos (CA); leves Triterpenos/ Esteroides (TE) y Alcaloides (AL) y ausencia de compuestos fenólicos (CF), Leucoantocianidinas (LE) y Taninos (TA). **Ver tabla 1**

Nº	EXTRACTO	ÓRGANO	AL	AR	CA	CF	CU	FL	LE	SA	TA	TE
1	<i>Solanum Lycopersicum</i>		+	+++	++	-	+++	+++	-	+++	-	+

AL: alcaloides; **AR:** Azucares Reductores; **CA:** Cardiotónicos; **CF:** Compuestos Fenolicos; **CU:** Cumarinas; **FL:** Flavonoides; **LE:** leucoantocianidinas; **SA:** Saponinas; **TA:** Taninos; **TE:** triterpenos/Esteroides; **ND:** No determinado, por interferencia de color

Presencia abundante (+++), presencia moderada (++), presencia leve (+), ausencia (-).

TABLA 1. Se resalta la presencia abundante de las cumarinas y flavonoides, quienes tienen funciones biológicas defensoras y propiedades antimicrobianas.

7.4 PREPARACION DE LOS EXTRACTOS PARA SU EVALUACIÓN

Para realizar la evaluación de los extractos estos fueron filtrados con agua destilada este fue vertido en un embudo con papel filtro a concentraciones de 10.000ppm y así contar con una solución stock de cada uno. Dichas disoluciones fueron realizadas en tubos eppendorf estériles y bajo condiciones óptimas en una

cabina de flujo laminar vertical, utilizando el solvente que mejor mostro capacidad para disolver el extracto previamente probado.

7.5 CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Para el cultivo de *Streptococcus mutans* (ATCC25175) se utilizó el caldo Tripticasa de soya suplementado con extracto de levadura, sucrosa, agar-agar y bacitracina (TYS20B). La bacteria, preservada a una temperatura de -20°C , se sacó del congelador y se esperó a que estuviera a temperatura ambiente. El stick que contenía la bacteria, fue sacado de su empaque en condiciones asépticas óptimas con un hisopo se tomó la bacteria y haciendo movimientos circulares de afuera hacia adentro se hizo el cultivo sobre las cajas de Petri con el caldo nutritivo anteriormente mencionado. Este procedimiento se realizó sobre todas las cajas de Petri utilizadas. Una vez finalizado el cultivo las cajas de Petri fueron rotuladas con el nombre de la bacteria y la fecha del cultivo y se llevaron a una jarra de anaerobiosis utilizando las bolsas Anaerogen (Oxoid® UK) para alcanzar dicha condición. El cultivo de se llevó a cabo por un periodo de 48 horas a una temperatura de 37°C se obtuvo un crecimiento abundante de la bacteria.

Para el cultivo de la *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) se utilizó como medio de cultivo el agar Brucella suplementado con hemina (5ug/ml), vitamina K (1mg/ml) y 5% de sangre humana. El procedimiento fue el mismo utilizado para el *Streptococcus mutans* en condiciones de anaerobiosis y se incubo por 5 días a 37°C , también obteniendo crecimiento de este. **FIGURA 7**

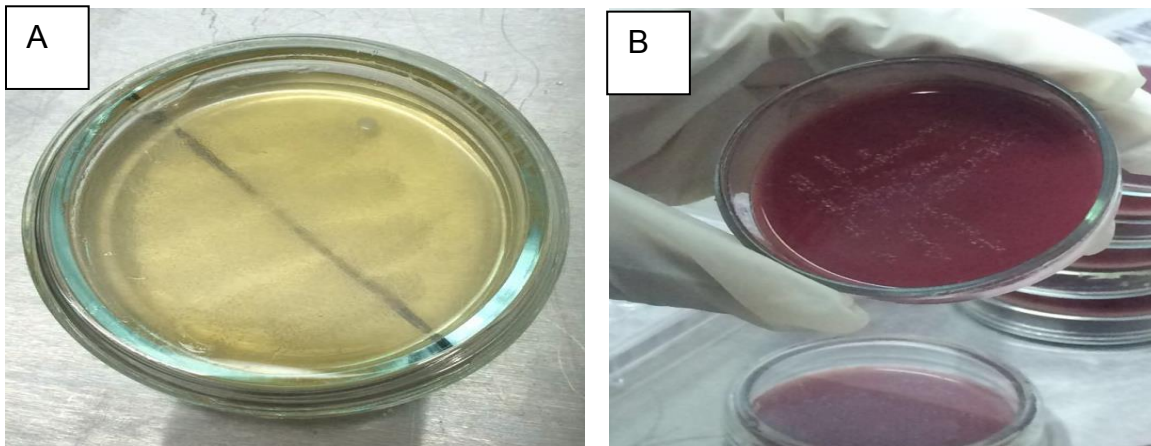


FIGURA 7. Cultivo de *Streptococcus mutans* (A) y *Porphyromonas gingivalis* (B)

7.6 CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO

Para el *Streptococcus mutans* se tomaron colonias de los medios de cultivo y se inocularon en tubos con caldo nutritivo Tripticasa de soya suplementado con extracto de levadura, sucrosa, y bacitracina y se verifico que quedara a una concentración de 0.08 a 0,1 según la escala de McFarland utilizando un espectrofotómetro de microplacas Multiskan EX (Thermo®, UK). . Una vez alcanzada esta concentración el inculo se llevó a incubación a 37°C en condiciones de anaerobiosis utilizando el método de jarra de anaerobiosis con bolsas de Anaerogen (Oxoid® UK) para alcanzar dichas condiciones. Utilizando una placa de poliestireno de 96 pozos se evaluó la absorbancia del inculo después de transcurrido 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24 y 48 horas dando como resultado la curva de crecimiento.

De la misma forma con *Porphyromonas gingivalis* se realizó la curva de crecimiento utilizando caldo Brucella suplementado con hemina (5ug/ml), vitamina K (1mg/ml) y 5% de sangre humana. El periodo de lectura también tuvo un tiempo de duración de 48 horas. **FIGURA 8**

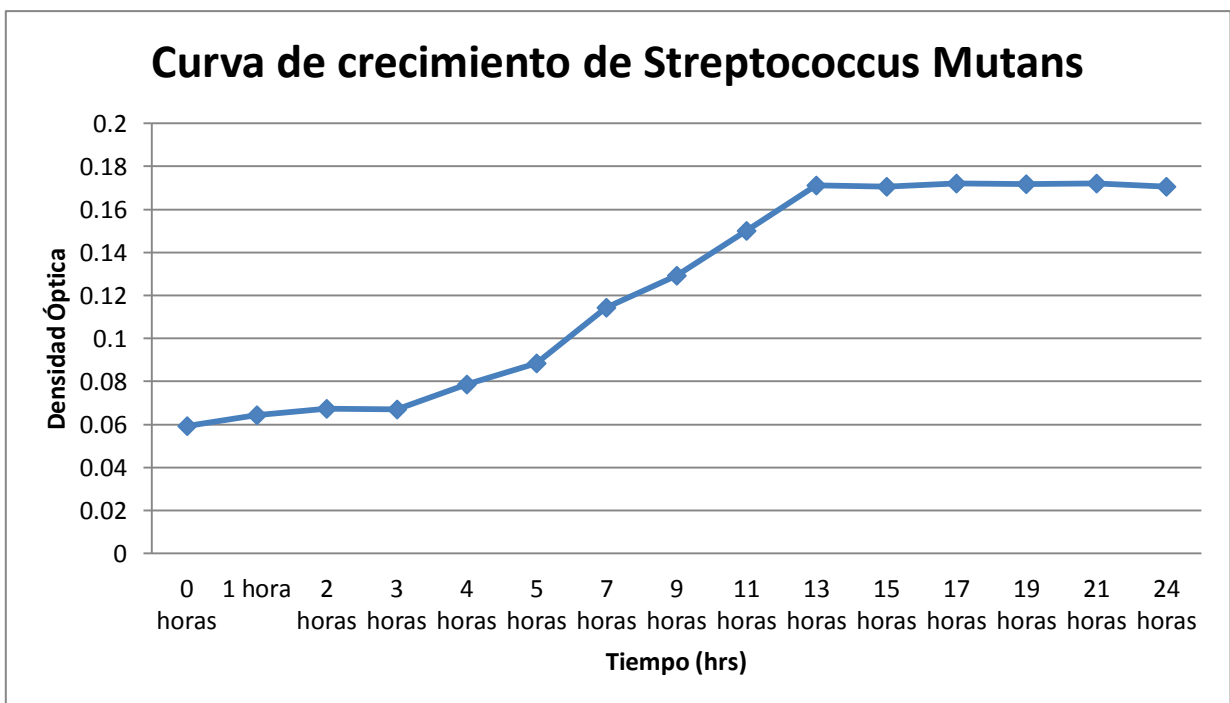


FIGURA 8. Curva de crecimiento graficada de *Streptococcus mutans*

El comportamiento del *Streptococcus mutans* en el periodo de incubación podemos destacar que el periodo de adaptación de la bacteria es bastante corto, llegando a solo 2 horas, desde donde se inicia la fase exponencial de crecimiento que alcanza el pico máximo a las 13 horas. Desde este punto se da paso a la fase estacionara y posterior muerte bacteriana. **Figura 9**

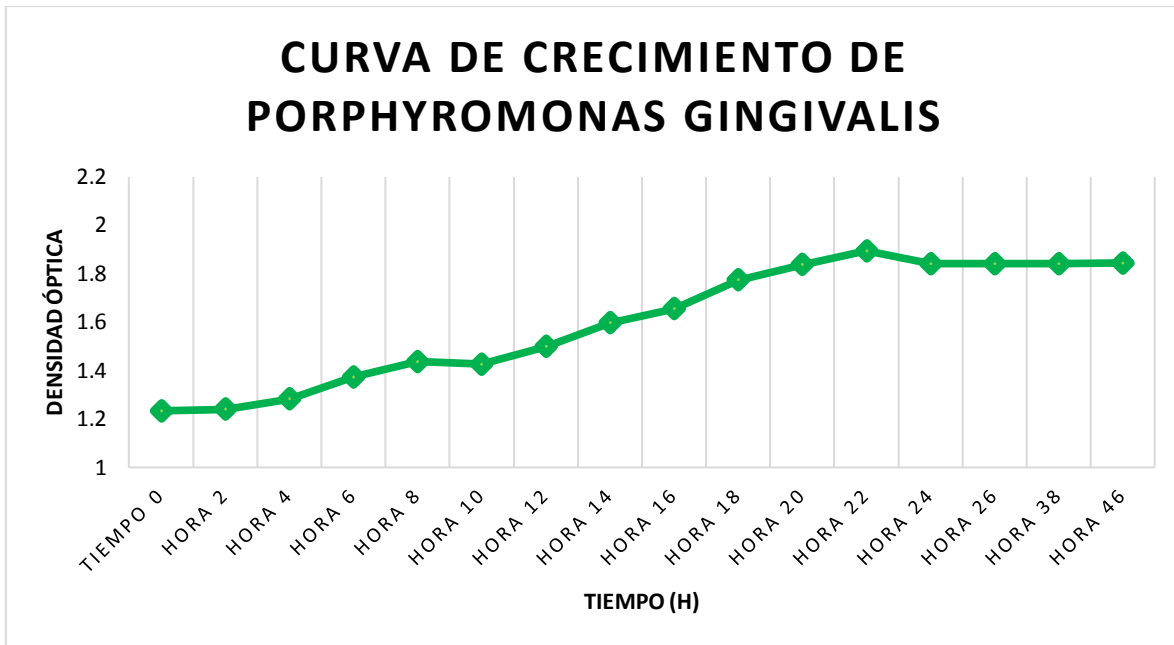


FIGURA 9. Curva de crecimiento graficada de *Porphyromonas gingivalis*

Para *Porphyromonas gingivalis* se puede analizar que la fase adaptativa tiene un tiempo de duración de 2 horas, y seguidamente se inicia la fase exponencial hasta el pico máximo a las 22 horas.

Según este resultado se puede establecer el tiempo de medición para las pruebas de sensibilidad bacteriana y determinación de la concentración mínima inhibitoria.

VER TABLA 2

Bacteria	Tiempo total curva de crecimiento	Tiempo de incubación según curva de crecimiento
<i>S. mutans</i>	25 horas	13 horas
<i>P. gingivalis</i>	46 horas	22 horas

TABLA 2. Tiempos de incubación de los ensayos según la curva de crecimiento bacteriano.

7.7 SENSIBILIDAD BACTERIANA

Antes de hacer la evaluación de la concentración mínima inhibitoria se realizó la prueba de sensibilidad bacteriana con la metodología anteriormente explicada, para poder clasificar a los extractos como idóneos para realizar el ensayo. Para esto se consideró que si las bacterias a 500ppm no mostraban sensibilidad se descartaría el extracto.

Resultados de la prueba de sensibilidad.

Se observó que Para *Porphyromonas gingivalis*, la prueba de sensibilidad mostró que el extracto de *Solanum lycopersicum* a 500 a 1000 a 2000 y 4000 ppm tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto al caldo de cultivo (inoculo) es decir, que sí hubo inhibición del crecimiento bacteriano. Para esto se tomó el crecimiento total del inóculo, y el crecimiento bacteriano expuesto. **Figura 10.** Y para el *Streptococcus mutans*, la prueba de sensibilidad mostró que el extracto de *Solanum lycopersicum* a 500 y a 1000 tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto al caldo de cultivo (inoculo) es decir que si hubo inhibición del crecimiento bacteriano se tomó el crecimiento total del inóculo, y el crecimiento bacteriano expuesto. **Figura 11.**

Sensibilidad de *Porphyromonas gingivalis* a *Solanum lycopersicum*

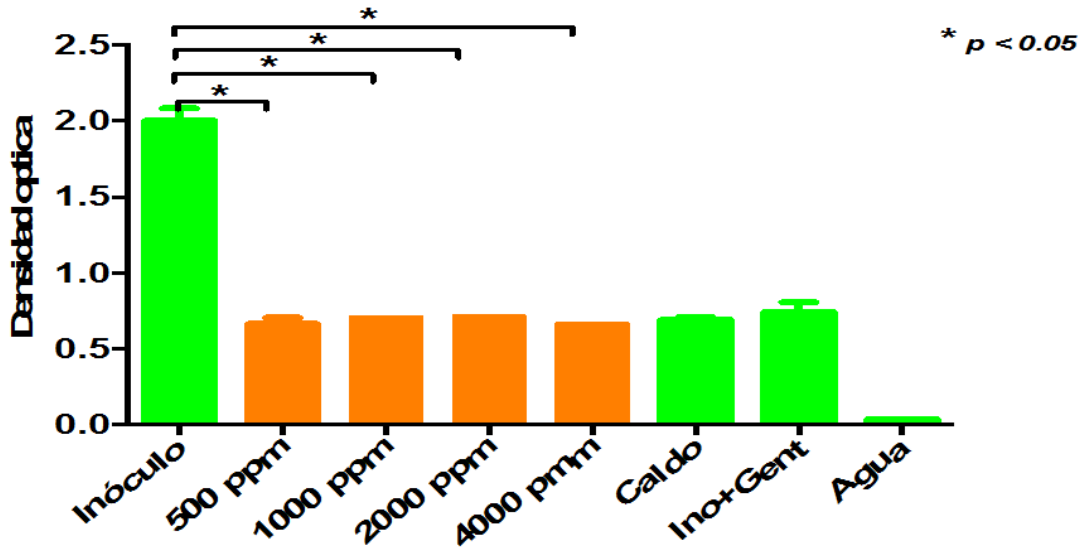


FIGURA 10. A concentraciones de 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm y 4000 ppm hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al inóculo

Sensibilidad de *Streptococcus mutans* a *Solanum lycopersicum*

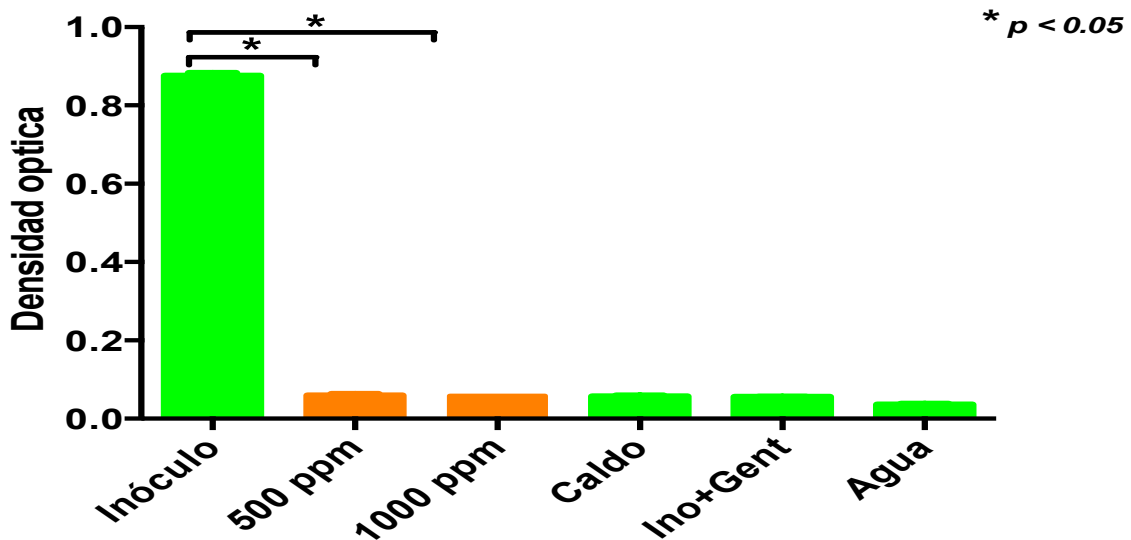


FIGURA 11. A concentraciones de 500 ppm y 1000 ppm hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al inóculo

7.8 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC)

Resultados de la MIC de *Streptococcus mutans*

Se observó que la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Solanum lycopersicum* sobre *Streptococcus mutans* fue 500 ppm esto se puede considerar como de importancia clínica para la investigación. **Figura 12**

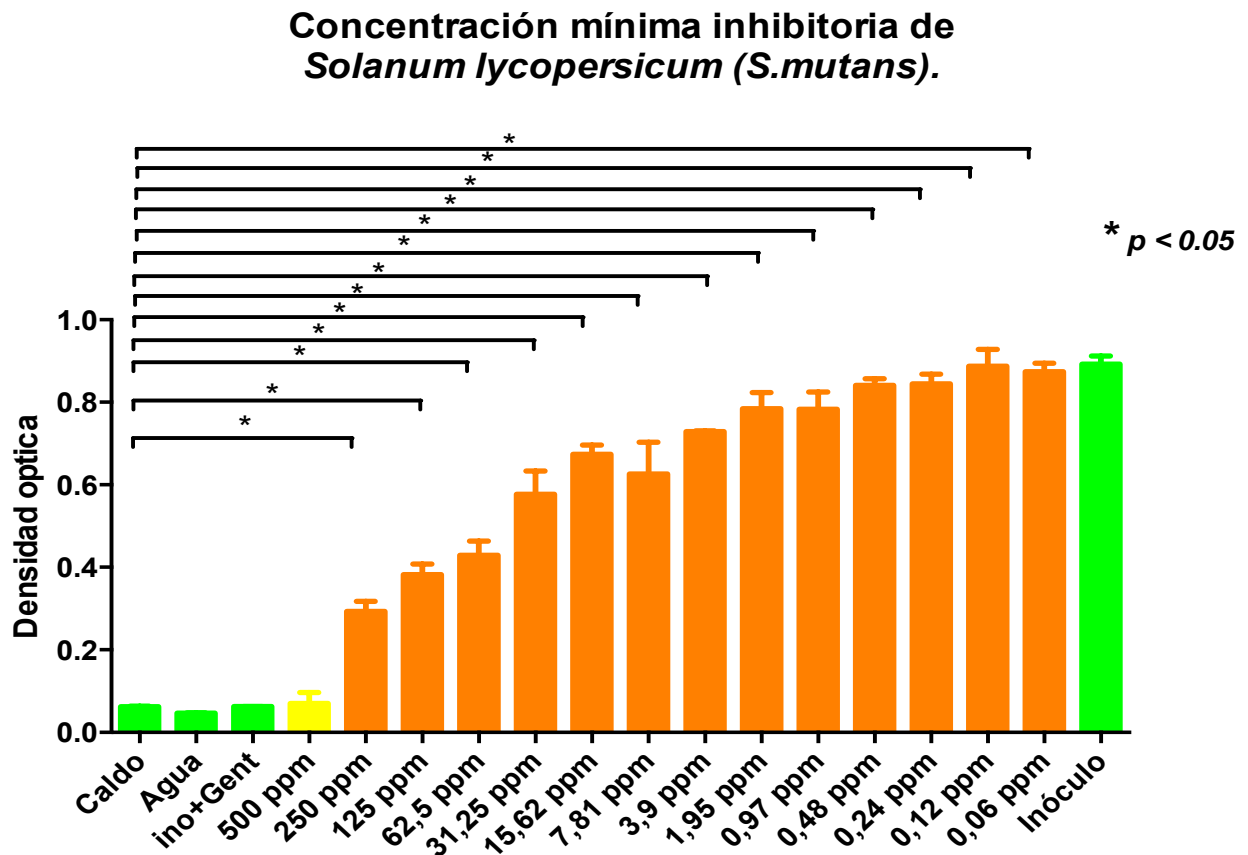


FIGURA 12. A concentración de 500 ppm no hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al caldo.

Resultados de la MIC de *Porphyromonas gingivalis*

Se observó que la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Solanum lycopersicum* sobre *Porphyromonas gingivalis* fue 500 ppm, esto se puede considerar como de importancia clínica para la investigación. **Figura 13**

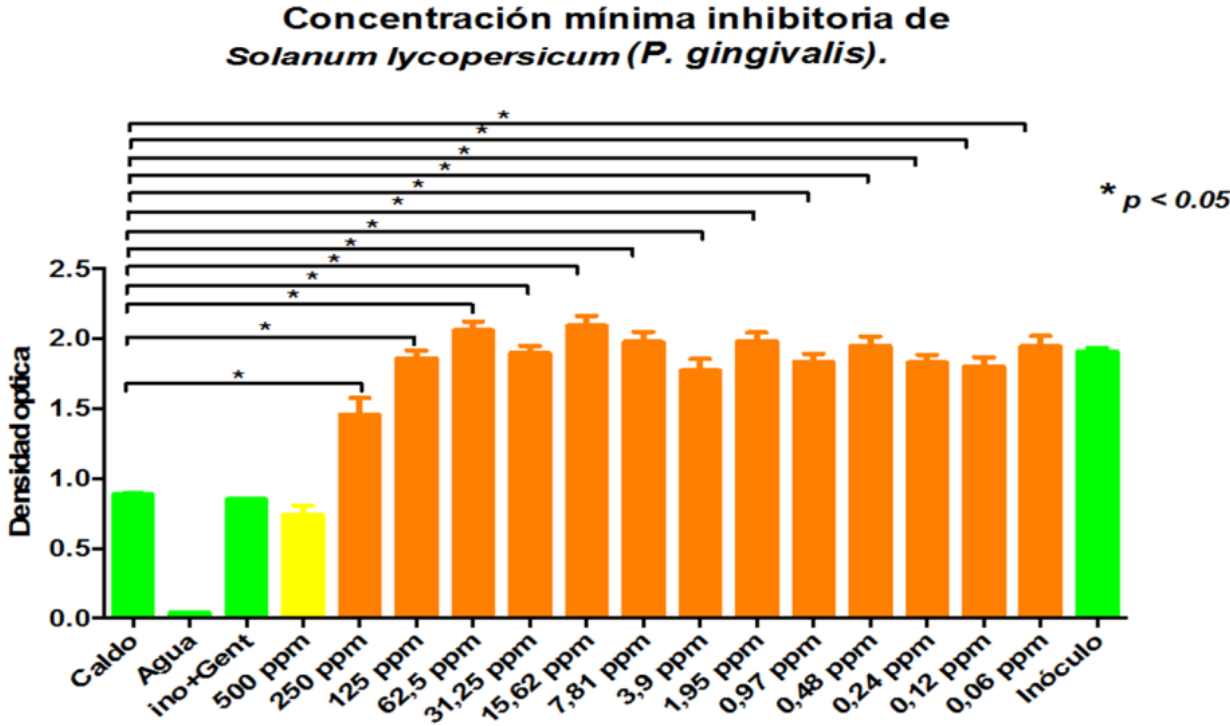


FIGURA 13. A concentración de 500 ppm no hubo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al caldo

7.9 CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria, se tomaron aquellas concentraciones que no mostraron diferencia estadísticamente significativa o mostraron poca diferencia con el caldo de cultivo, ilustradas en la **Tabla 3**

Extractos	bacterias	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Solanum lycopersicum</i>	500ppm, 250ppm, 125ppm, 62,5ppm	_____

Tabla 3. Concentraciones seleccionadas para hacer la evaluación de la concentración mínima bactericida.

Se determinó que el extracto de *Solanum lycopersicum indica* tiene propiedades bactericida sobre *Streptococcus mutans* a concentraciones de 500ppm y bacteriostáticas a 250 ppm, 125ppm, 62,5 ppm. No se pudo realizar la evaluación de la concentración mínima bactericida para *Porphyromonas gingivalis*. **Figura 14**

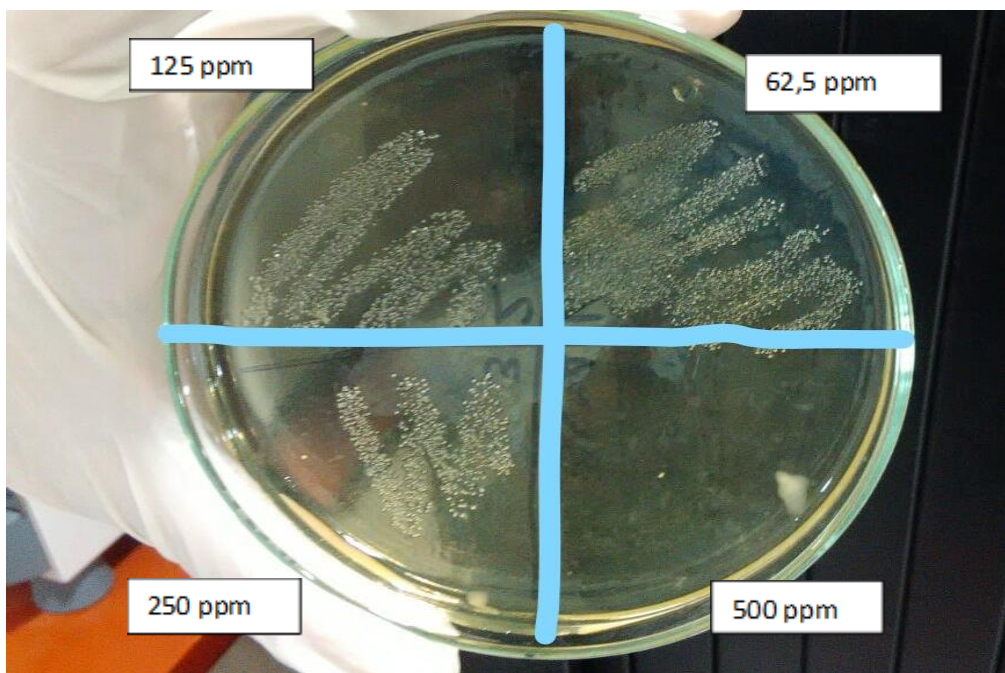


FIGURA 14. CMB de *Solanum lycopersicum* sobre *Streptococcus mutans*. 500ppm, 250ppm, 125ppm y 62,5ppm.

8. DISCUSION

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es considerado uno de los principales cultivos a nivel mundial, debido a su elevado potencial alimenticio (FAOSTAT, 2006); además, posee altos contenidos de licopeno, vitaminas C y A y flavonoides (Willcox et al., 2003).⁴⁴ Compuestos son considerados como “antioxidantes”, ya

⁴⁴ Willcox, Joye K., George L. Catignani, and Sheryl Lazarus. "Tomatoes and cardiovascular health." (2003): 1-18.

que se encuentran asociados con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénicas y cardiovasculares actualmente se están realizando investigaciones sobre los efectos antimicrobianos de los extractos naturales presentando estos grandes potenciales bactericidas o bacteriostáticos volviéndose así de importancia clínica para la práctica profesional. Los resultados inhibitorios, bactericidas y bacteriostáticos pueden ser explicados por los componentes fitoquímicos que posee el *Solanum Lycopersicum* al realizar screening preliminar fitoquímico observando que en su mayor parte posee cumarinas y flavonoides estas han mostrado ejercer muchas actividades biológicas entre estas antitumoral, antiarritmicas, antiinflamatorias, antisépticas y analgésicos utilizados para tratar la osteoporosis, hipertensión y el asma.

En el presente estudio se muestra la actividad Antimicrobiana expresada en concentración mínima inhibitoria (MIC) y en pruebas de sensibilidad, en la que el inóculo de *Phorphyromonas gingivalis* tiene un crecimiento de 1.9-2.0 aproximadamente y respecto a las diferentes diluciones del extractos acuoso de la pulpa se obtuvo diferencia estadísticamente significativa en disoluciones de 8.000 ppm, 4.000 ppm, 2.000 ppm, 1.000 ppm, y 500 ppm, sin embargo quien mostro mayor inhibición de crecimiento de la bacteria fue la concentración a 500ppm, demostrando así que hubo inhibición del crecimiento bacteriano. se observó que Para *estreptococos mutans*, la prueba de sensibilidad mostró que el extracto de *Solanum Lycopersicum* a 500 y a 1000 tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto al caldo de cultivo (inóculo) es decir que si hubo inhibición del crecimiento bacteriano se tomó el crecimiento total del inóculo, y el crecimiento bacteriano expuesto y Se observó que la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *solanum lycopersicum* sobre *estreptococos mutans* fue 500 ppm esto se puede considerar como de importancia clínica para la investigación.

Es importante destacar que no se habían reportado muchos ensayos sobre la actividad antibacteriana del extracto de *Solanum lycopersicum* sobre la *P. gingivalis* considerada una bacteria periodontopatógena, ni del *Streptococcus mutans*, bacteria de importancia y relevancia clínica en la aparición de la caries

dental; no obstante los resultados obtenidos en este estudio pueden ser comparados con aquellos obtenidos en trabajos similares con otras plantas como por ejemplo en el estudio de Bakri IM en el 2005,⁴⁵ en donde se evaluó el extrato de *Allium sativum* sobre diversas bacterias orales, entre esas *P. gingivalis*, obteniendo un MIC, utilizando la misma metodología, de 4,4mg/ml lo que al enfrentar a los valores arrojados por el *Solanum Lycopersicum* de 500ppm que equivales a 500µg/ml, se encuentran muy por encima de estos, indicando que en el mismo volumen se necesita menor cantidad del extracto de *Solanum Lycopersicum* para producir inhibición del crecimiento de la *P. gingivalis* en comparación con el extracto de *Allium sativum*. Por este fin, la acción antioxidante y el alto potencial de inhibición de los extractos acuosos de estas plantas contra bacterias anaerobias responsables de las infecciones periodontales, se estudió, buscando en un futuro la utilización en formulaciones de fármacos, especialmente como agente antibacteriano

Otro aspecto relevante en la investigación serían los solventes utilizados para la realización de estudios y los métodos de extracción del extracto ya que estos fueron considerablemente diferentes, como lo refiere Ramirez EP en 2015 ⁴⁶ donde se implementó el solvente etanólico, difiriendo del *S. Lycopersicum*, cuyo solvente fue agua (H₂O) y para el cual no se requirió una prueba de toxicidad del solvente, agregándole un plus de confiabilidad.

De la misma forma, estos resultados pueden ser comparados con otras plantas que ya son utilizadas en odontología, como es el caso de la *Caléndula officinalis* a la cual estudios como los realizados por Parente LM et al. en el 2012 en el 2003⁴⁷ reportaron actividad antibacteriana a concentraciones entre 109ppm a 4000ppm

⁴⁵ Luna-Guevara, M. L., & Delgado-Alvarado, A. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes en frutos y productos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Avances en Investigación Agropecuaria*, 18(1), 51-66.

⁴⁶ Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of oral biology*. 2005 Jul;50(7):645-51

⁴⁷ Pimentel Ramirez, E., Castillo Andamayo, D., Del Solar, Q., Maurtua Torres, D., Villegas Vílchez, L., & Díaz Santisteban, C. (2015). Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Revista Estomatológica Herediana*, 25(4), 268-277.

sobre bacterias Gram positivas; y concentraciones inhibitorias de 2048ppm sobre bacterias periodontopatógenas respectivamente, lo que demuestra que las MIC del *Solanum Lycopersicum* puede ser medido y comparado con las de los productos frecuentemente utilizados en el mercado regular.

Además, debemos destacar dentro de los componentes químicos de S. LYCOPERSICUM , el hecho de ser un fenol, compuesto químico capaz de inhibir o retardar la oxidación mediante la captación de radicales libres como lo menciona Guevara L, en 2014 ^{48,49} en su estudio; adicionándole aplicaciones nutricionales, capacidad anticancerígena y antimutagenica, sin embargo las mismas se pueden afectar por la composición química del fruto que dependerá de factores como la intensidad de luz, pH del suelo, frecuencia de riego, y tipo de fertilización.^{50,51} No obstante, las aplicaciones y efectos del estudio mencionado, no se relacionan de manera directa con los efectos antibacterianos en cavidad oral.

De lo anterior se puede concluir que el extracto acuoso de la pulpa de *Solanum Lycopersicum* posee buena actividad inhibitoria sobre la *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans* por lo que se consideran potenciales agentes de prevención con importancia clínica haciéndolos viables para utilizarlos como agentes antibacterianos de uso odontológico. Se recomienda realizar más estudios permitentes como evaluación de la capacidad para inhibir la formación de biofilm o citotoxicidad sobre células.

⁴⁸ Parente LM, Lino Junior Rde S, Tresvenzol LM, Vinaud MC, de Paula JR, Paulo NM. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2012;2012:375671.

⁴⁹ Murali J, Bahaumik A, Sravan P. Phytochemical Analysis and Antimicrobial Studies of Various Extracts of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Sch. Acad. J. Biosci., 2013; 1(2):34-38

⁵⁰ Fernandez V, Camara M, Quintela J. Ingredientes bioactivos de tomate: el licopeno..NutrClinDietHosp N° 3. Vol. XXVII/167

⁵¹ Wonyoung L, Dong L. Lycopene-Induced Hydroxyl Radical Causes Oxidative DNA Damage in *Escherichia coli*. J. Microbiol. Biotechnol. (2014), 24(9), 1232–1237.

9. CONCLUSION

El extracto acuoso de *Solanum Lycopersicum* presenta una actividad antibacteriana considerable sobre *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, esto es relevante para nuestra parte clínica debido a que con mayores estudios podríamos llegar a utilizar compuestos naturales como opciones de tratamientos nuevos para tratar patologías causadas por estos microorganismos estudiados de la cavidad oral y también convertirse en alternativas terapéuticas para los tratamientos de tipo químico como los son los antibióticos

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más estudios de este tipo, no solo sobre estas bacterias, sino también sobre otro tipo de microorganismo de importancia odontológica y estudios complementarios como por ejemplo la determinación de la citotoxicidad de estos o la capacidad que tengan para inhibir la formación de la biopelícula utilizando modelos *invitro*. Y cromatografía para saber con exactitud los componentes específicos de la planta de estudio.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Houshmand B, Mahjour F, Dianat O. Antibacterial effect of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) extract on dental plaque bacteria. Indian journal of dental research. Febrero 2013. Vol. 24, no. 1, p. 71-5
2. Singh DN, Verma N, Raghuwanshi S, Shukla PK, Kulshreshtha DK. Antifungal activity of *Agapanthus africanus* extractives. En: Fitoterapia. Junio 2008. Vol. 79, no. 4, p. 298-300
3. Lamendin H. Plantestherapeutiqueethygiénebucco-dentaires, aujourd'hui. Ch. Dent. Fr. 959-90-92, 1999.
4. Fejerskov, O. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. Caries research, 38(3), 182-191.
5. Ruby J, Goldner M. Nature of symbiosis in oral disease. Journal of dental research. 2007 Jan;86(1):8-11. PubMed PMID: 17189457
6. S.N. DESHPANDE* DGK, SACHIN B INGLE**. Studies on determination of susceptibility to dental caries among school children. International Journal of Pharma and Bio Sciences April – June 2012;3(2):809-17
7. Petersen PE LM. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. Community Dent Oral Epidemiol (2004);32:319-21
8. Rodríguez Cruces, V. (2013). Aislamiento de *Porphyromonas gingivalis* del biofilm dental en pacientes antes y después de un mes de tratamiento ortodóncico fijo.
9. Sarabia, M. M., Meriño, M. G., & Pérez, O. G. R. (2015). La dieta y su relevancia en la caries dental y la enfermedad periodontal. Revista Archivo Médico de Camagüey, 9(1).
10. Rueda, L. A. (2012). Análisis de educación permanente en salud odontológica y en el área de la prevención (Doctoral dissertation, Facultad de Odontología).
11. Tascón, J. E., Londoño, D., Jaramillo, C., Burbano, P., & Mesa, M. (2013). Creencias, prácticas y necesidad de tratamiento periodontal en una población adulta en Cali, 2003.

12. Giraldo, S. J., Mossos, R., Muñoz, M. M., Perea, C. L., & Prado, C. (2012). Prevalencia de caries y enfermedad periodontal en escolares del sector público de Cali, 2005.
13. Bascones-Martínez, A., Muñoz-Corcuera, M., & Bascones-Ilundain, C. (2015). Reacciones adversas a medicamentos en la cavidad oral. *Medicina Clínica*, 144(3), 126-131.
14. H L. Present day status and direction for future research on the etiology and prevention of periodontal disease. *J Periodontol* 1969;40:678-82
15. SP YWK. Mucosa! sensitivity to chlorhexidine mouthwash. *Singapore Dent J* 1988;13:39-40.
16. AA F. Contact stomatitis, glossitis, and cheilitis. *Otolaryngol Clin North Am* 1974;7:827-43
17. Kowitz G, Lucatoro, F. and Bennett, W. Effects of dentifrices on soft tissues of the oral cavity. *J Oral Med.* 1973;28:105-9
18. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews.* 1999;12(4):564-82
19. Kakuko Yasunaka FA, Ariaki Nagayama, Hikaru Okabe, Lucio Lozada-Pérez, Edith López-Villafranco, Elizabeth Estrada Muñiz, Abigail Aguilar, Ricardo Reyes-Chilpa. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. *Journal of Ethnopharmacology* 97. 2005:293–9
20. More G, Tshikalange TE, Lall N, Botha F, Meyer JJM. Antimicrobial activity of medicinal plants against oral microorganisms. *Journal of ethnopharmacology.* 2008;119(3):473-7
21. Meena O, Brahadur V. Breeding potential of indeterminate tomato (*solanum lycopersicum* L.) accessions using d2 analysis. *Sabrao Journal of Breeding and Genetics.* 2015 January; 47 (1) 49-59.
22. Luyo, A. G. P. (2014). La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Revista estomatológica herediana*, 15(1).
23. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. En: *Periodontol* 2000. Febrero 2011. Vol. 55, no. 1, p. 16-

24. Zhu Y, Dashper SG, Chen YY y col. Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola synergistic polymicrobial biofilm development. En: PloS one. 2013. Vol.8, no.8, p.:e71727
25. Thorstensson H, Johansson B. Why do some people lose teeth across their lifespan whereas others retain a functional dentition into very old age? En: Gerodontology. Marzo 2010. Vol. 27, no. 1, p. 19-25.
26. Bowen WH, Koo H. Biology of Streptococcus mutans-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. En: Caries Res. Abril 2011. Vol. 45, no. 1, p. 69-86
27. Raoult D, Foti B, Aboudharam G. Historical and geographical parallelism between the incidence of dental caries, Streptococcus mutans and sugar intake. En: European journal of epidemiology. Agosto 2013. Vol. 28, no. 8, p. 709-10
28. Yoshida A, Ansai T, Takehara T, Kuramitsu HK. LuxS-based signaling affects Streptococcus mutans biofilm formation. En: Applied and environmental microbiology. Mayo 2005. Vol. 71, no. 5, p. 2372-80
29. Carinci F, Scapoli L, Girardi A, Cura F, Lauritano D, Nardi GM, et al. Oral microflora and periodontal disease: new technology for diagnosis in dentistry. En: Annali di stomatologia. 2013. Vol. 4, no. 2, p. 170-3
- 30.¹ Ishnava KB, Chauhan JB, Barad MB. Anticariogenic and phytochemical evaluation of Eucalyptus globules Labill. Saudi journal of biological sciences. Enero 2013. Vol. 20, no. 1, p. 69-74.
31. Labrecque J, Bodet C, Chandad F, Grenier D. Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of Porphyromonas gingivalis. En: The Journal of antimicrobial chemotherapy. Vol. 58, no. 2, p. 439-43.
32. Casierra-Posada, F., & Aguilar-Avenidaño, Ó. E. (2008). Calidad en frutos de tomate (Solanum lycopersicum L.) cosechados en diferentes estados de madurez. *Agronomía Colombiana*, 26(2), 300-307.
33. Bonilla-Barrientos, O., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Cruz-Izquierdo, S., Reyes-López, D., Hernández-Leal, E., & Hernández-Bautista, A. (2014).

Diversidad agronómica y morfológica de tomates arriñonados y tipo pimiento de uso local en Puebla y Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 129-139.

34. Chopra, M., O'Neill, M., Keogh, N., Wortley, G., Southon, S. & Thurnham, D. (2000) Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clinical Chemistry* 46, 1818–1829
35. Mayne, S. (1996) Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *FASEB Journal* 10, 690–701.
36. Beck, J., Offenbacher, S., Williams, R., Gibbs, P. & Garcia, R. (1998) Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease. *Annals of Periodontology* 3, 127–141.
37. Arbes, S. Jr., Slade, G. & Beck, JD. (1999b) Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data. *Journal of Dental Research* 78, 1777– 1782
38. Loos, B. G., Craandijk, J., Hoek, F. J., Wertheim-van Dillen, P. M. & van der Velden, U. (2000) Evaluation of systemic markers related to cardiovascular disease in peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of Periodontology* 71, 1528–1534.
39. Grossi, S. & Genco, R. (1998) Periodontal disease and diabetes mellitus: a two way relationship. *Annals of Periodontology* 3, 51–61.
40. Wu, T., Trevisan, M., Genco, R., Falkner, K., Dorn, J. & Sempos, C. (2000a) Examination of the relationship between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *American Journal of Epidemiology* 151, 273–282
41. Fowler, E., Breault, L. & Cuenin, M. (2001) Periodontal disease and its association with systemic disease. *Military Medicine* 166, 85–89.
42. Taylor, G. (2001) Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Annals of Periodontology* 6, 99–112.

43. Kinane, D. & Marshall, G. (2001) Periodontal manifestations of systemic disease. *Australian Dental Journal* 46, 45–48.
44. Willcox, Joye K., George L. Catignani, and Sheryl Lazarus. "Tomatoes and cardiovascular health." (2003): 1-18.
45. Luna-Guevara, M. L., & Delgado-Alvarado, A. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes en frutos y productos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Avances en Investigación Agropecuaria*, 18(1), 51-66.
46. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of oral biology*. 2005 Jul;50(7):645-51
47. Pimentel Ramirez, E., Castillo Andamayo, D., Del Solar, Q., Maurtua Torres, D., Villegas Vílchez, L., & Díaz Santisteban, C. (2015). Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Revista Estomatológica Herediana*, 25(4), 268-277.
48. Parente LM, Lino Junior Rde S, Tresvenzol LM, Vinaud MC, de Paula JR, Paulo NM. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2012;2012:375671.
49. Murali J, Bahaumik A, Sravan P. Phytochemical Analysis and Antimicrobial Studies of Various Extracts of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Sch. Acad. J. Biosci.*, 2013; 1(2):34-38
50. Fernandez V, Camara M, Quintela J. Ingredientes bioactivos de tomate: el licopeno.. *NutrClinDietHosp* N° 3. Vol. XXVII/167
51. Wonyoung L, Dong L. Lycopene-Induced Hydroxyl Radical Causes Oxidative DNA Damage in *Escherichia coli*. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2014), 24(9), 1232–1237.

ANEXOS

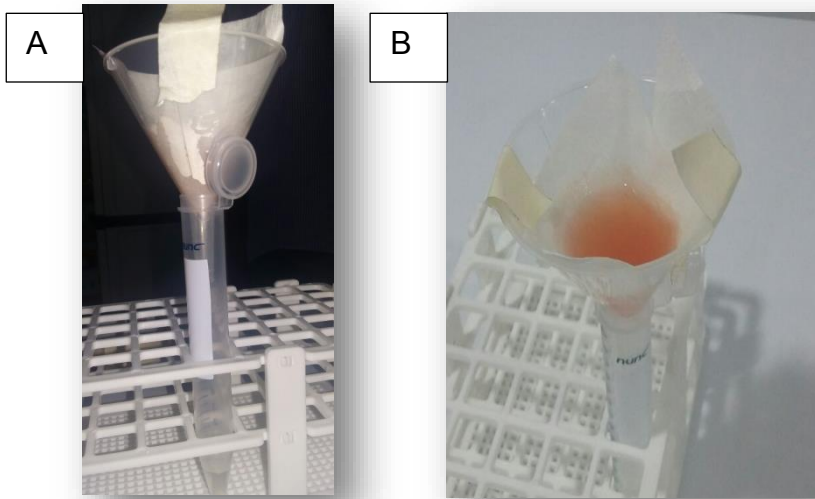


FIGURA A Y B: Proceso de filtrado del extracto liofilizado de *Solanum lycopersicum*



FIGURA C: Disoluciones del extracto de *Solanum lycopersicum*



FIGURA D: Recolección de bacterias de las cajas de Petri

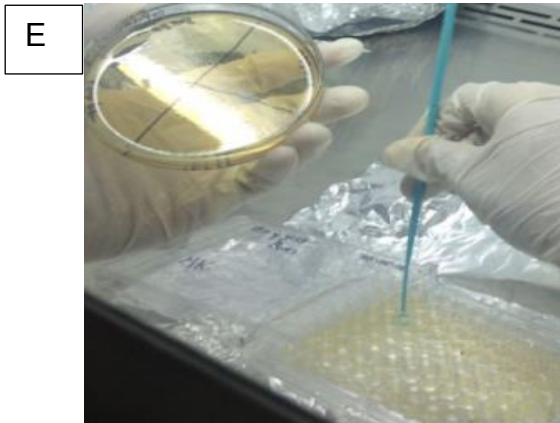


FIGURA E: Proceso de extracción del extracto con bacteria a diferentes concentraciones para prueba de MCB



FIGURA F: Pulpa de *Solanum lycopersicum* antes de ser liofilizada.