



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS *LACTOBACILLUS PLANTARUM* SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS FORMADORAS DE BIOPELÍCULAS ORALES EN EL ALTIPLANO DEL PERÚ

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
Ciencias de la Salud	Medicina de Altura	Salud Pública

3. Duración del proyecto (meses)

12 meses

4. Tipo de proyecto

Individual	<input type="radio"/>
Multidisciplinario	<input checked="" type="radio"/>
Director de tesis pregrado	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

Apellidos y Nombres	Cervantes Alagón Sheyla Lenna
Escuela Profesional	Odontología
Celular	951775222
Correo Electrónico	slcervantes@unap.edu.pe

Apellidos y Nombres	Padilla Cáceres Tania Carola
Escuela Profesional	Odontología
Celular	958199952
Correo Electrónico	tpadilla@unap.edu.pe

Apellidos y Nombres	Vicky Cristina Gonzales Alcos
Escuela Profesional	Biología
Celular	996003547
Correo Electrónico	vcgonzales@unap.edu.pe

Apellidos y Nombres	Juan Pablo Huarachi Valencia
Escuela Profesional	Biología
Celular	984777842



- I. Título (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS *LACTOBACILLUS PLANTARUM* SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS FORMADORAS DE BIOPELÍCULAS ORALES EN EL ALTIPLANO DEL PERÚ

- II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

Objetivo: Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus Plantarum* en las cepas del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* en el departamento de Puno durante el 2023 **Metodología** Será de tipo experimental, prospectivo y longitudinal. La muestra estará conformada por cepas q serán cultivadas en 30 placas Petri, con 6 discos de difusión (repeticiones) es decir 180 discos, de las cuales se dividieron en 5 grupos por bacteria, según a la concentraciones 25%, 50%, 75%, 100% del fermento del *Lactobacillus Plantarum* de las cuales se obtendrá el efecto inhibitorio, se utilizará el método de Mac farlan para la dilución de la carga bacteriana al 0.5 de turbidez y el método de Kirby Bauer para ver la sensibilidad del halo de inhibición, se realizará en el Laboratorio Microbiología y Parasitología del área de biomédicas de la Universidad Nacional del Altiplano Puno. La técnica a utilizar en esta investigación será observación directa y la medición del halo inhibitorio en 5 concentraciones diferentes. Se adjuntará la documentación certificación de cepas, permisos y otros. Las mediciones de los halos serán realizadas por los investigadores entrenados, la calibración se realizará utilizando el coeficiente KAPPA hasta que el valor supere 0,8.

El análisis de datos se realizará con la prueba estadística de t para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA para determinar la significancia y las prueba Tukey para la comparación de los principios activos.

Resultados Se espera que exista efectividad inhibitoria in vitro del fermento *Lactobacillus Plantarum* que es una bacteria con propiedades probióticas a diferencia de otros antibacterianos de origen natural ampliamente estudiados sobre el *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* bacterias iniciadoras en la formación de la biopelícula dental.

- III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Lactobacillus Plantarum, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sanguinis*, probióticos, biopelícula oral.

- IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

La caries dental y la enfermedad periodontal son en nuestro país y región las enfermedades bucales más prevalentes constituyendo un problema de salud pública, causadas por un desequilibrio en las poblaciones bacterianas que están presentes de forma natural, estas bacterias también ayudan a mantener el estado normal de la cavidad oral (1).

Las Biopelículas orales están formadas por una serie de microorganismos aglutinados por una sustancia microbiana que los une y los adhiere a la superficie del diente, aumenta el riesgo de caries y enfermedad periodontal (1,2).

Los probióticos son microorganismos vivos, las cuales, administradas en cantidades adecuadas, brindan un efecto provechoso en la salud del huésped. Los microorganismos probióticos pueden ocasionar beneficios en la salud del huésped. El efecto del consumo con probióticos ha sido estudiado ampliamente para una diversidad de cuidados sistémicos y desórdenes médicos. Por ejemplo, los beneficios potenciales de los probióticos han sido estudiados en desórdenes gastro-intestinales ginecológicos y entre otras. Recientemente hay un interés creciente en el control probiótico contra las infecciones orales (3).

Los estudios de los productos probióticos orales se han desarrollado en la prevención de la caries, especialmente en la posibilidad de disminuir el número de bacterias colonizadoras, cuando se usan productos conteniendo de estas cepas de probióticas entre las cuales podemos mencionar al *Lactobacillus Plantarum*, esta es una bacteria usada en la conservación y producción de lácteos, al producir peróxido, bacteriocinas e inhiben y alteran el crecimiento de microorganismos cariogénicos (2,3).

Mediante el presente estudio se buscará determinar la efectividad antimicrobiana del fermento con un grupo experimental del *Lactobacillus Plantarum* en diferentes porcentajes de concentración (25%, 50%, 75, y 100%) en comparación con un grupo control positivo clorhexidina al 0.12 %, con el resultado se podrá aportar un mayor conocimiento en el área de salud bucal y mejorar los conocimientos sobre el beneficio de dicho fermento, para la inhibición de patógenos *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sanguinis*, en la cavidad bucodental(4).

- V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

Zhang Q., Qin S., Huang Y., Xu X., Zhao J., Zhang H., Chen. (2019). Jianguo, China. Inhibitory and preventive effects of *Lactobacillus plantarum* FB-T9 on dental caries in rats. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus Plantarum* FB-T9 sobre la formación de biopelículas de *Streptococcus Mutans* in vitro y sobre la prevención y el tratamiento de la caries dental en ratas.

En un estudio in vivo de 70 días experimento, FB-T9 redujo significativamente los niveles de *Streptococcus Mutans* en las superficies dentales de las ratas en más de 2 órdenes de magnitud de los niveles en el grupo modelo de caries dental ($p < 0,05$). Además, FB-T9 redujo significativamente las puntuaciones de caries (método de



puntuación de Keyes modificado) tanto en el grupo de prevención como en el de tratamiento ($p < 0,05$) y tuvo un gran potencial de colonización en la cavidad oral. Estos resultados indican la utilidad potencial de *L. Plantarum* FB-T9 como probiótico para la prevención y tratamiento de caries (5).

Wasfi R., abd El-Rahman M., Zafer M., Ashour H. (2017). Giza, Egipto. Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. El objetivo de este estudio fue ver el probiótico *Lactobacillus* sp. Inhibe el crecimiento, la formación de biopelículas y la expresión genética de *Streptococcus Mutans* que induce caries. Materiales y métodos: La actividad antimicrobiana de *Lactobacillus* sp. sobre *Streptococcus Mutans* se desarrolló mediante un método de difusión en agar adaptado del utilizado por Cadirci y Citak. *Streptococcus Mutans* se incubó en infusión cerebro-corazón (BHI) a 37 °C durante 24 horas y lo mismo ocurrió con el *Lactobacillus* sp. Resultando que la familia de los *Lactobacillus* sp. Mostro un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento del *Streptococcus Mutans*; En conclusión, *Lactobacillus* sp. los probióticos han demostrado ser eficaces en el tratamiento de ciertos trastornos gastro-intestinales. *Lactobacillus* sp. los probióticos posiblemente podrían controlar la caries dental usando mecanismos similares que pueden jugar contra las estrategias de invasión de *Streptococcus Mutans*. Esto se debe a que la familia de los *Lactobacillus* sp. demostraron ser factibles de producir ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas e inhibidores de adhesión(6) .

Srivastava N., Ellepolla K., Venkiteswaran N., Ann L., Ohshima T., Jayampath C. (2020). Singapur, Singapur. *Lactobacillus Plantarum* 108 Inhibits *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Mixed-Species Biofilm Formation. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de los componentes secretores de *Lactobacillus Plantarum* 108, una cepa probiótica potencialmente prometedora, frente a biopelículas de especies únicas y mixtas de *S. Mutans* y *C. Albicans*. Sobrenadante de *L. Plantarum* 108 inhibido Biopelículas de una sola especie de *S. Mutans* y *C. Albicans* como se muestra en el ensayo de reducción de XTT, el ensayo de cristal violeta y el recuento de unidades formadoras de colonias. El sobrenadante probiótico inhibió significativamente la formación de biopelículas de especies mixtas de *S. Mutans* y *C. Albicans*. Las biopelículas de especies mixtas preformadas también se redujeron con éxito. Los datos demuestran capacidad del sobrenadante de *L. Plantarum* 108 para inhibir las biopelículas de especies mixtas de *S. Mutans* y *C. Albicans* y puede prevenir biopelículas de especies mixtas bacterianas y fúngicas asociadas con la caries dental. Concluyendo que el presente estudio demostró la capacidad del sobrenadante de *L. Plantarum* 108 para inhibir la formación de biopelículas de especies únicas y mixtas de *S. Mutans* y *C. Albicans*. (7).

Bum K., Eun J., Jin P., Heui C., Hyun S. (2018). Seoul, Korea del sur. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. En este estudio se demostro que el ácido lipoteicoico (Lp.LTA) de *Lactobacillus Plantarum* inhibía la formación de biopelículas de *S. Mutans* en placas de poliestireno, discos de hidroxiapatita y láminas de dentina sin afectar el crecimiento bacteriano. Lp.LTA interfiere con la descomposición de sacarosa de *S. Mutans* necesaria para la producción de exopolisacárido, que es un componente principal de la biopelícula. Resultando Los sobrenadantes de cultivo de *Lactobacillus* tales como *L. plantarum*, *Lactobacillus helveticus* y *L. acidophilus*. Los *Lactobacillus Plantarum* inhibió *S. Mutans* biopelícula de una manera dependiente de la dosis. Concluyendo que demostramos que LTA liberado de *L. Plantarum* inhibió la formación de biopelículas de *S. Mutans*, un patógeno representativo que da principio de la caries dental (8).



Zhang G., Lu M., Liu R.; Tian Y., Ha V., Li Y., liu B., Kushmaro A., Li Y., Sol Q. (2020). Beersheba, Israel. Inhibition of *Streptococcus mutans* Biofilm Formation and Virulence by *Lactobacillus plantarum* K41 Isolated From Traditional Sichuan Pickles. El objetivo de este estudio fue examinar las cepas de *Lactobacillus* que se encuentran en los encurtidos tradicionales de Sichuan y evaluar sus propiedades antagónicas frente a *S. Mutans* in vitro e in vivo. En el estudio actual, analizamos 54 cepas de *Lactobacillus* aisladas de pepinillos y encontramos que la cepa *L. Plantarum* K41 mostró el mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *S. Mutans*, así como sobre la formación de exopolisacáridos (EPS) y biopelículas in vitro. La microscopía electrónica de barrido (SEM) y el microscopio de barrido láser con focal (CLSM) revelaron la reducción tanto del EPS como de la estructura similar a una red en el biofilm de *S. Mutans* cuando estas bacterias se cultivaron conjuntamente con la cepa *L. Plantarum* K41. Además, cuando las ratas fueron tratadas con la cepa *L. Plantarum* K41, hubo una reducción significativa en la incidencia y severidad de la caries dental. Debido a su origen en un ambiente de alta salinidad, K41 mostró una alta tolerancia a ácidos y sales. Esto puede dar a esta cepa una ventaja en condiciones orales duras. Los resultados mostraron que *L. Plantarum* K41 aislado de los encurtidos tradicionales de Sichuan inhibió eficazmente la formación de biopelículas de *S. Mutans* y, por lo tanto, posee un efecto inhibitorio potencial sobre la caries dental in vivo (9).

Zhang Q., Qin S., Xu X., Zhao J., Zhang H., Liu Z., Chen W. (2020). Jiangsu, China. Inhibitory Effect of *Lactobacillus plantarum* CCFM8724 towards *Streptococcus mutans*- and *Candida albicans*-Induced Caries in Rats. El propósito de este estudio fue explorar el efecto de *Lactobacillus Plantarum* CCFM8724 (CCFM8724) en el tratamiento y prevención de la caries dental inducida por *S. Mutans* y *C. Albicans* in vivo. Las ratas se dividieron en 6 grupos: el grupo de control y el grupo modelo, 2 grupos de tratamiento y 2 grupos de prevención (clorhexidina al 0,02 % o CCFM8724). La fluctuación de la colonización microbiana y el cambio de la flora bacteriana en la cavidad bucal de la rata después de la siembra de *L. Plantarum* CCFM8724 fueron investigados por unidades formadoras de colonias (UFC) y análisis de microflora. La caries de las ratas se evaluó mediante microtomografía computarizada (micro-CT) y el método de puntuación de Keyes. Los resultados mostraron que *L. Plantarum* CCFM8724 en los grupos de tratamiento y prevención podría disminuir significativamente la población de *S. Mutans* y *C. Albicans* en la cavidad oral de las ratas, la pérdida de minerales del esmalte, y las puntuaciones de caries. Además, *L. Plantarum* CCFM8724 exhibió mejores efectos que la clorhexidina. Concluyendo que demostró que *L. Plantarum* CCFM8724 es un probiótico oral potencial en el tratamiento y prevención de caries in vivo y puede tener la perspectiva de aplicación en productos de prevención de caries dental (10).

Karimi N., Jabbari V., Nazemi A., Ganbarov K., Karimi N., Tanomand A., karimi S., Abbasi A., Yousefi B., Khodadadi E., Kafil. (2020). Tabris, Iran. Thymol, cardamom and *Lactobacillus plantarum* nanoparticles as a functional candy with high protection against *Streptococcus mutans* and tooth decay. El objetivo de este estudio fue identificar los *lactobacilos* orales en periodontitis crónica y sujetos periodontalmente sanos, y determinar su actividad antimicrobiana contra patógenos orales putativos. Se recolectaron un total de 238 aislamientos de *Lactobacillus* de la saliva y sitios subgingivales de 20 periodontitis crónica y 15 sujetos sanos. En total, se identificaron 115 cepas mediante análisis de restricción de ADN ribosómico amplificado rápido. Se evaluó la actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Identificaron *lactobacilos* pertenecientes a 10



especies. Las cepas más prevalentes en personas sanas fueron *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus fermentum* y en pacientes con periodontitis crónica, *Lactobacillus plantarum*. Los homofermentadores obligados, particularmente *L. gasseri*, fueron menos prevalentes en pacientes con periodontitis crónica en comparación con sujetos sanos (8 % frente a 64 % para *L. gasseri*, $P < 0,01$). Sesenta y nueve por ciento de los lactobacilos probados inhibieron *Streptococcus mutans*, 88% *A. actinomycetemcomitans*, 82% *P. gingivalis* y 65% *P. intermedia*. La actividad antimicrobiana más intensa se asoció con *Lactobacillus paracasei*, *L. plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus salivarius*. Las cepas de pacientes periodontalmente sanos mostraron una menor actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* que las cepas de pacientes con periodontitis crónica. Concluyendo Tanto los lactobacilos orales homofermentadores como los heterofermentadores suprimen el crecimiento de los patógenos periodontales, pero las propiedades antimicrobianas son específicas de la cepa, la especie y el origen (11).

Zeng Y., Fadaak A., Alomeir N., Tong T., Rustchenko E., Qing S., Bao J., Gilbert C., Xiao X. (2022). Rochester, NY, United States. *Lactobacillus plantarum* Disrupts *S. mutans*–*C. albicans* Cross-Kingdom Biofilms. En este estudio evaluaron el efecto de cuatro cepas probióticas de *Lactobacillus* (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 2836, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 y *Lactobacillus salivarius* ATCC 11741) en *S. mutans* y *C. albicans* utilizando un modelo completo de biopelícula multiespecie que simulaba condiciones clínicas de alto riesgo de caries. El análisis del transcriptoma (secuenciación de ARN) reveló además la interrupción de *S. mutans* y *C. albicans* interacciones entre reinos con *L. plantarum* añadido. Los genes de *S. mutans* y *C. albicans* implicados en las vías metabólicas (p. ej., formación de EPS, metabolismo de carbohidratos, biosíntesis de glicanos y metabolismo) se redujeron significativamente. Más significativamente, los genes relacionados con la resistencia de *C. albicans* a la medicación antifúngica (*ERG4*), la remodelación de quitina de la pared celular fúngica (*CHT2*) y la resistencia al estrés oxidativo (*CAT1*) también se redujeron significativamente. Por el contrario, los genes *plnD*, *plnG* y *plnN* de *Lactobacillus* que contribuyen a la producción de péptido antimicrobiano plantaricina se regularon significativamente. Los hallazgos de nuestro nuevo estudio respaldan una evaluación adicional del papel potencial del probiótico *L. plantarum* para el control de biopelículas cariogénicas. Resultando que *L. plantarum* 8014 y 14917 inhibieron *S. mutans* en las biopelículas a un nivel no detectable (<20 CFU/ml) tan pronto como a las 48 h, y las biopelículas tratadas siguieron siendo *S. mutans* no detectables (<20 CFU/ml) a las 72 horas (12).

Lee D., Im J., Hyun P., Jeong S., Yeong S., Park M., Yoon S., Jaewoong P., Hyun S. (2021). Seoul, Korea del sur. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acids Possess Strain-Specific Regulatory Effects on the Biofilm Formation of Dental Pathogenic Bacteria. En el presente estudio, aislaron Lp.LTA de cuatro cepas diferentes de *L. plantarum* (LRCC 5193, 5194, 5195 y 5310) y comparamos sus efectos anti-biofilm en los patógenos dentales, incluido *S. mutans*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus gordonii*. Las bacterias se cultivaron en caldos MRS (Difco Laboratories) durante 48h a 37°C en una botella tapada sin agitación. Se utilizó un total de 12 cepas de bacterias patógenas dentales, incluido cuatro cepas de *E. faecalis*, *S. gordonii* y *S. mutans*, para determinar el efecto regulador de Lp. LTA en la formación de biopelículas. Todas las bacterias patógenas dentales se cultivaron en medio Todd-Hewitt (Difco Laboratories) suplemento con extracto de levadura al 1%(Difco Laboratories; THY) a 37°C con agitación o estática en condiciones aeróbicas. Resultando que la evaluación del efecto de Lp.LTA en la formación de biopelículas de *S. mutans* y descubrimos que las formaciones de



biopelículas de cuatro cepas de *S. mutans* se inhibieron de manera efectiva con 30 µg/ml de tratamiento con LRCC 5310 Lp.LTA. Además, LRCC 5310 Lp.LTA fue el más eficaz para controlar la formación de biopelículas de patógenos dentales y su actividad antibiopelícula se debe a la disminución del número de bacterias dentro de la biopelícula (13).

Kim A., Ahn K., Yun C., Yoo Y., Kum K., Han S. (2019). Seoul, Korea del sur. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acid Inhibits Oral Multispecies Biofilm. En este estudio, investigaron si el ácido lipoteicoico (Lp.LTA) de *Lactobacillus plantarum* podría inhibir la formación de biopelículas bacterianas patógenas orales multiespecíficas. **Metodos** Se cultivaron *Actinomyces*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* para formar una biopelícula multiespecie oral en presencia o ausencia de Lp.LTA en placas de cultivo o cortes de dentina humana. El biofilm preformado se trató con o sin Lp.LTA, seguido de un tratamiento adicional con medicamentos intracanal como hidróxido de calcio o digluconato de clorhexidina. Se realizaron microscopía con focal y ensayo de cristal violeta para determinar la formación de biopelículas. La biopelícula en cortes de dentina humana se visualizó con un microscopio electrónico de barrido. Resultando Lp.LTA redujo la formación de biopelículas de bacterias multiespecies en las placas de cultivo de forma dependiente de la dosis en comparación con el grupo de control sin tratamiento. Lp.LTA también inhibió la formación de biopelículas multiespecíficas en los cortes de dentina de forma dependiente de la dosis. Curiosamente, se demostró que Lp.LTA reduce el biofilm multiespecies preformado en comparación con el grupo sin tratamiento. Además, Lp.LTA potenció la eficacia de los medicamentos intracanal en la eliminación de biopelículas multiespecíficas preformadas (14).

Gönczi N., Strang O., Bagi Z., Rakhely G., Kovács K. (2021). Szeged, Hungary. Interactions between probiotic and oral pathogenic strains. En este estudio se investigó las interacciones individuales entre 8 cepas patógenas y 8 probióticas y un producto probiótico comercialmente disponible. Casi todos los patógenos, a saber, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii*, *Enterococcus faecalis* y *Prevotella buccae* son patógenos frecuentes en la cavidad bucal. Las cepas probióticas utilizadas fueron *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Bifidobacterium thermophilum* y dos *Streptococcus dentisani* aislamientos. Utilizando un método de difusión en agar modificado, investigamos la capacidad de las bacterias probióticas para prevenir el crecimiento de las patógenas con el fin de identificar candidatos para futuros tratamientos terapéuticos. Los resultados indicaron una producción exitosa de bacteriocinas, es decir, inhibición del crecimiento, contra cada bacteria patógena por al menos 5 cepas probióticas (15).

Dadgar S., Heydarian A., Sobouti F., Goli H, Rakhhan V, Heidari M., 2021, Tehran, Iran. Effects of probiotic and fluoride mouthrinses on *Streptococcus mutans* in dental plaque around orthodontic brackets: A preliminary explorative randomized placebo controlled clinical trial. El estudio fue comparar el efecto del enjuague bucal probiótico experimental *Lactobacillus plantarum* versus enjuagues bucales con fluoruro de sodio y placebo en el número de *S. mutans* presentes en la placa dental alrededor de los brackets de ortodoncia en pacientes con ortodoncia fija. Participan un total de 38 pacientes, 12 pacientes en el grupo de fluoruro, 13 en el de probiótico y 12 en el grupo de placebo. Se les dio enjuagues bucales para usar dos veces al día durante 2 semanas. El muestreo de placa se realizó mediante la técnica de 4 pases en los tres grupos en dos etapas: antes de la intervención y después de 2



semanas de uso del enjuague bucal. Luego se informó el número de bacterias presentes en la placa dental en base al número de colonias cultivadas en medio de agar. Los datos se analizaron mediante las pruebas de Kruskal-Wallis y Wilcoxon ($\alpha = 0,05$). Resultando después de la intervención, el número de *S. mutans* presentes en la placa dental siguió un aumento en los grupos de placebo ($P = 0,005$) y probiótico ($P = 0,158$) y disminuyó en el grupo de fluoruro ($P = 0,025$). Conclusión El enjuague bucal probiótico *L. plantarum* fue ineficaz en la reducción de *S. mutans* en la placa dental. Sin embargo, el enjuague bucal con flúor es considerablemente efectivo contra *S. mutans* y, por lo tanto, se recomienda (16).

Lin X., Chen X., Tu Y., Wang S., Chen H. (2017). Zhejiang, China. Effect of Probiotic Lactobacilli on the Growth of Streptococcus Mutans and Multispecies Biofilms Isolated from Children with Active Caries. El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de los lactobacilos probióticos en *Streptococcus Mutans* (MS) y biopelículas multiespecies aisladas de niños con caries severa. Materiales y métodos: Veinte niños con caries activa (DMFS ≥ 6) fueron seleccionados como grupo experimental y se aisló *Streptococcus Mutans* (MS) de su saliva. Después de la identificación, las cepas de MS se mezclaron con lactobacilos a 37 °C, después de lo cual se contaron las colonias de MS viables. Al mismo tiempo, las placas dentales de los niños se mezclaron con lactobacilos in vitro para formar biopelículas, y se enumeró la población de nueve cepas comunes en las biopelículas después de 24 horas de crecimiento. Resultando que *Lactobacillus casei* Shirota, *L. casei* LC01, *L. plantarum* ST-III y *L. paracasei* LPC37 tuvieron fuertes efectos inhibidores en la mayoría de las EM aisladas de niños con caries activa, con una tasa de inhibición que alcanzó aproximadamente el 70–90 % ($p < 0,05$). *L. casei* Shirota, *L. casei* LC01, *L. plantarum* ST-III, *L. paracasei* LPC37 también redujeron significativamente el número de MS, *Streptococcus* spp., *S. sanguinis* y bacterias totales en biopelículas mixtas en comparación con el grupo control ($p < 0,05$). Concluyeron que las cuatro cepas de lactobacilos fueron capaces de inhibir el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y tuvieron efectos sobre la composición de las biopelículas bacterianas in vitro. La ingestión de probióticos puede ser un método prometedor para la prevención de caries (17).

Teanpaisan R., Piwat S., Dahèn G. (2011). Songkla, Tailandia. Inhibitory effect of oral Lactobacillus against oral pathogens. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus* oral contra patógenos orales putativos. Un total de 357 cepas que comprenden 10 especies de *Lactobacillus* oral, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, Se utilizaron como cepas productoras *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus oris*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus vaginalis*. Se evaluó el efecto inhibidor frente a un panel de indicadores, patógenos relacionados con la periodontitis y la caries. La mayoría *Lactobacillus* pudo inhibir el crecimiento de patógenos relacionados con la periodontitis y la caries. La actividad inhibitoria más fuerte se asoció con *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. casei* y *L. salivario*. *Lactobacillus* SD1–SD6, que representa las seis especies con un fuerte efecto inhibidor, inhibió el crecimiento de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 en el modelo de biopelícula. Además, se demostró que el crecimiento de *S. mutans* fue inhibida en una mezcla con *L. paracasei* SD1. La inhibición se potenció en condiciones ácidas y glucosa al 5%. Los resultados han demostrado que *Lactobacillus* SD1–SD6 oral mostró un fuerte efecto inhibidor contra *S. mutans* y *Streptococcus sobrinus*, así como, patógenos periodontales Gram-negativos *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (18).

Kaktcham P., Zambou N., Tchouanguiep F., El-soda M., Choudhary M. (2011).



Dschang, Camerun. Antimicrobial and Safety Properties of *Lactobacilli* Isolated from two Cameroonian Traditional Fermented Foods. En el presente estudio se caracterizaron e identificaron lactobacilos con actividad antagónica aislados de "Kossam" y "Sha'a". También se evaluó la producción de bacteriocinas, así como algunas propiedades de seguridad, como la susceptibilidad a los antibióticos, la hemólisis y las actividades de gelatinasa. se probaron su potencial bacteriocinogénico y sus propiedades de seguridad. Estos aislamientos fueron identificados preliminarmente como *Lactobacillus plantarum* (62%), *Lactobacillus rhamnosus* (24%), *Lactobacillus fermentum* (10%) y *Lactobacillus coprophilus*. (4%) basado en características fenotípicas y huellas dactilares genómicas rep-PCR. Doce (57,1%) de las 21 cepas analizadas resultaron ser productoras de bacteriocinas, como lo revela la sensibilidad de sus sustancias antimicrobianas a las enzimas proteolíticas (tripsina, proteinasa K) y la inhibición de otras *Lactobacillus* spp. Estas cepas bacteriocinogénicas no mostraron actividades hemolíticas y gelatinasa positivas y demostraron ser sensibles a penicilina G, ampicilina, tetraciclina, eritromicina, amoxicilina, cloranfenicol, cotrimoxazol y doxiciclina, pero resistentes a ciprofloxacino y gentamicina. Las bacteriocinas mostraron una amplia actividad inhibitoria frente a bacterias patógenas Gram-positivas y Gram-negativas, varias de las cuales están catalogadas como especialmente peligrosas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), así como frente a cepas multirresistentes. Estos incluyen *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovare Typhi, *Bacillus cereus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Shigella flexneri*. Estas cepas de *Lactobacillus* son candidatas prometedoras para su uso como cultivos protectores en la fermentación de alimentos (19).

Hasslöf P., Hedberg M., Twetman S., Blinks C. (2011). Turku, Finlandia. Growthinhibition of oral *mutans streptococci* and candida by commercial probiotic *lactobacilli* - an in vitro study. El objetivo del estudio fue investigar la capacidad de una selección de cepas de *lactobacilos*, utilizadas en productos probióticos disponibles comercialmente, para inhibir el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *C. albicans* in vitro. Métodos se analizó la inhibición del crecimiento de ocho cepas de *lactobacilos* probióticos en tres cepas de referencia y dos aislamientos clínicos de *Streptococcus Mutans*, así como en dos cepas de referencia y tres aislamientos clínicos de *Cándida albicans* con un método de superposición de agar. Resultados concentraciones que oscilan entre 10^9 y 10^5 UFC/ml, todas las cepas de *lactobacilos* inhiben completamente el crecimiento de los *Streptococcus Mutans* con la excepción de *L. acidophilus* La5 que ejecuta solo una ligera inhibición de algunas cepas a concentraciones correspondientes a 10^7 y 10^5 UFC/ml. En la concentración celular más baja (10^3 CFU/ml), solo *L. plantarum* 299v y *L. plantarum* 931 mostraron una inhibición total del crecimiento, mientras que *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19 observaron una ligera inhibición para las cinco cepas de *Streptococcus Mutans*, *L. reuteri* PTA 5289 y *L. reuteri* ATCC 55730. Todas las cepas de lactobacilos probadas redujeron el crecimiento de *Candida*, pero el efecto fue generalmente más débil que para los *Streptococcus Mutans*. Las dos cepas de *L. plantarum* y *L. reuteri* ATCC 55730 mostraron la mayor inhibición de *Cándida albicans*. No se observaron diferencias significativas entre las cepas de referencia y los aislados clínicos. Conclusión las cepas probióticas seleccionadas mostraron una capacidad significativa, pero algo variable para inhibir el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y *Cándida albicans* in vitro(20,21).

VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)



Hipótesis de investigación: El *Lactobacillus Plantarum* posee efecto inhibitorio sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y el *Streptococcus sanguinis*.

Hipótesis nula: El *Lactobacillus Plantarum*. no posee efecto inhibitorio sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y el *Streptococcus sanguinis*.

VII. Objetivo general

Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus Plantarum* sobre las bacterias patógenas formadoras de Biopelículas orales en el Altiplano del Perú.

VIII. Objetivos específicos

-Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus Plantarum* a concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* a las 24 horas.

-Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus Plantarum* a concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* a las 48 horas.

-Comparar la diferencia del efecto inhibitorio de los probióticos del *Lactobacillus Plantarum*. a concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* a las 24 y 48 horas.

-Comparar la diferencia del efecto inhibitorio de los probióticos del *Lactobacillus Plantarum* a concentraciones del 25%, 50%, 75%, y 100% sobre las cepas del *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* con el control positivo y el control negativo a las 24 y 48 horas.

IX. Metodología de investigación (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

Tipo y diseño de la investigación

-Según el nivel de investigación: Explicativo por que busca el porqué de los hechos mediante la relación de causa – efecto.

-Según el diseño de estudio: Experimental debido a que el manejo de la variable independiente de forma intencional.

-Según la cronología de las observaciones: Longitudinales por que se realizó más de una medición de la muestra.

- Según el número de mediciones: Prospectivo porque la recolección se realizó una vez aceptada el proyecto.

Población

Con las cepas *Lactobacillus Plantarum*, *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* certificadas.



Muestra

Según el tipo de muestreo que es no probabilístico por conveniencia y los criterios de inclusión y exclusión, las cepas serán cultivadas en 30 placas Petri, con 6 discos de difusión (repeticiones), es decir 180 discos, de las cuales se dividieron en 5 grupos por bacteria, según a las concentraciones 25%, 50%, 75%, 100% y el control positivo (Clorhexidina al 0.12%), 30 discos y pozos por grupo.

10.4 Caracterización de la muestra

a. Criterios de inclusión

- Placas con siembra adecuada de Cepas *Lactobacillus Plantarum*, *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*
- Placas que después del proceso de incubación no presenten contaminación.
- Placas que después del proceso de incubación presenten halos de inhibición en óptimas condiciones.

b. Criterios de exclusión

- Presencia de otros microorganismos en las placas Petri.
- Placas que presenten defectos por manejo de laboratorio.

Procedimientos

1. Preparación de las cepas del *Lactobacillus Plantarum* en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% y, mediante el método convencional de maceración con solución alcohólica, que consiste en poner en contacto la matriz sólida con el solvente en un tiempo determinado (4).
2. Preparación del medio de cultivo para el aislamiento de las cepas *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* de en laboratorio, se recolectó la muestra y se distribuyeron los microorganismos en el agar sangre para que pudieran desarrollarse y multiplicarse, se repitió el proceso en 5 cajas Petri. Una vez realizada la siembra se incubó a 37°C por 24 horas en anaerobiosis y 24 horas en aerobiosis, luego de este tiempo se observaron los resultados y se seleccionaron las placas que presentaron mayor desarrollo de colonias, utilizando el método de McFarland, para determinar la turbidez en la preparación de suspensiones de microorganismos con un estándar de 0.5 que se aplica en la preparación de inóculos bacterianos en pruebas de sensibilidad (4,5).
3. Preparación del caldo nutritivo para la replicación con Trypticase soya para el desarrollo y almacenamiento de las cepas, y luego ponerlas en la incubadora a 37°C por 24 horas para que los microorganismos colectados se desarrollen en mayor cantidad y puedan multiplicarse.
4. Observación y recolección de la cepa para que se desarrollen las bacterias adecuadas y alcancen la pureza requerida. Después de la siembra en el medio de cultivo selectivo, se volvió a observar microscópicamente y se determinó una cepa de *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis* (5, 6,7).
5. Preparación del medio de cultivo agar sangre selectivo, se hizo una distribución en 5 cajas Petri esterilizadas en frío, cuando solidificó el medio de cultivo, se sembró en las cajas Petri la muestra que estaba en el caldo de cultivo. Después de la siembra, las cajas de Petri se almacenaron en una caja anaeróbica y la cepa se incubó durante 24 horas a 37 °C en anaerobiosis y 24 horas en aerobiosis.
6. Preparación de agar sangre Mueller Hinton al 5%, una vez autoclavado el medio de cultivo, se dejó enfriar y se distribuyó en 40 cajas Petri. Se dejó gelificar a temperatura ambiente. Luego del proceso de gelificación, las cepas fueron sembradas por el método de agotamiento, realizando líneas en forma de estrías en tres direcciones diferentes para lograr una distribución uniforme. Diez minutos después de la siembra se aplicó el método de difusión en discos y pocillos en agar



modificado, los pocillos se hicieron en agar con sacabocados y se distribuyeron discos de papel filtro estéril No. 40 en cada uno de los pocillos, haciendo un total de 6 discos por cada uno. Caja Petri, distribuidas con una distancia mínima de 20 mm entre cada pocillo (el diámetro de los discos según normas INS era de 6 mm), las cajas Petri se agruparon en grupos de 5 (12,5%, 25%, 50%, 75% y 100%). En cada uno de los platos se distribuyeron discos de papel filtro y en el centro de ellos se inoculó el extracto de ambas plantas con clorhexidina al 0,12% como control positivo (9-11).

7. Luego del proceso de inoculación de los extractos, las placas testigo se colocaron en una caja anaerobia y se almacenaron en la incubadora a una temperatura de 37°C durante 24 horas, procediéndose posteriormente a la recolección de datos. A las 24 horas y tras la recogida de datos, se dejó incubar 24 horas más para realizar el control de 48 horas.

8. Luego del proceso de inoculación del *Lactobacillus Plantarum*, las placas testigo se colocaron en una caja anaerobia y se almacenaron en la incubadora a una temperatura de 37°C durante 24 horas, procediéndose posteriormente a la recolección de datos. A las 24 horas y tras la recogida de datos, se dejó incubar 24 horas más para realizar el control de 48 horas. Luego se aplica el método de Kirby Bauer para observar la sensibilidad del halo de inhibición, sirve para verificar la susceptibilidad a los antibióticos entre especies bacterianas en base a diferentes estructuras celulares y su resistencia (11).

Consideraciones éticas

Los procedimientos realizados fueron ejecutados según las directrices de la Ley General de Salud del Perú (Ley 26842) y Ley de bioseguridad N° 27104 de la normativa sanitaria del Perú.

Análisis estadístico

El análisis de datos se realizará con la prueba estadística de t para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA para determinar la significancia y las prueba Tukey para la comparación de los principios activos.

X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

1. Calle Sánchez MJ, Baldeón Gutiérrez RE, Curto Manrique J, Céspedes Martínez DI, Góngora León IA, Molina Arredondo KE, et al. Teorías de caries dental y su evolución a través del tiempo: Revisión de literatura. Rev Científica Odontológica [Internet]. 2018;06(01):98–105. Available from: doi: <https://doi.org/10.21142/2523-2754-0601-2018-98-105>
2. Cona T. E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev Chil Infectol. 2002;19(SUPPL. 2):77–81.
3. Cui T, Luo W, Xu L, Yang B, Zhao W, Cang H. Progress of antimicrobial discovery against the major cariogenic pathogen streptococcus mutans. Curr Issues Mol Biol [Internet]. 2019;32:601–44. Available from: <https://dx.doi.org/10.21775/cimb.032.601>
4. De Freitas MTM, Soares TT, Aragão MGB, Lima RA, Duarte S, Zanin ICJ. Effect of Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy on Mono- and Multi-Species



- Cariogenic Biofilms: A Literature Review. *Photomed Laser Surg* [Internet]. 2017;35(5):239–45. Available from: <https://doi.org/10.1089/pho.2016.4108>
5. Zhang Q, Qin S, Huang Y, Xu X, Zhao J, Zhang H, et al. Inhibitory and preventive effects of *Lactobacillus plantarum* FB-T9 on dental caries in rats. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2020;12(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1703883>
 6. Wasfi R, Abd El-Rahman OA, Zafer MM, Ashour HM. Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. *J Cell Mol Med*. 2018;22(3):1972-83.
 7. Srivastava N, Ellepola K, Venkiteswaran N, Chai LYA, Ohshima T, Seneviratne CJ. *Lactobacillus plantarum* 108 inhibits *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* mixed-species biofilm formation. *Antibiotics*. 2020;9(8):1-20.
 8. Ahn KB, Baik JE, Park OJ, Yun CH, Han SH. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*. 2018;13(2):1-16.
 9. Zhang G, Lu M, Liu R, Tian Y, Vu VH, Li Y, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* Biofilm Formation and Virulence by *Lactobacillus plantarum* K41 Isolated From Traditional Sichuan Pickles. *Front Microbiol*. 2020;11(April):1-12.
 10. Zhang Q, Qin S, Xu X, Zhao J, Zhang H, Liu Z, et al. Inhibitory Effect of *Lactobacillus plantarum* CCFM8724 towards *Streptococcus mutans* - And *Candida albicans* -Induced Caries in Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
 11. Akhlaghi N, Sadeghi M, Fazeli F, Akhlaghi S, Mehnati M, Sadeghi M. The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus plantarum*: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2019;16(5):346-53.
 12. Zeng Y, Fadaak A, Alomeir N, Wu TT, Rustchenko E, Qing S, et al. *Lactobacillus plantarum* Disrupts *S. mutans*–*C. albicans* Cross-Kingdom Biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12(March):1-12.
 13. Lee D, Im J, Park DH, Jeong S, Park M, Yoon S, et al. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acids Possess Strain-Specific Regulatory Effects on the Biofilm Formation of Dental Pathogenic Bacteria. *Front Microbiol*. 2021;12(November).
 14. Kim AR, Ahn KB, Yun CH, Park OJ, Perinpanayagam H, Yoo YJ, et al. *Lactobacillus plantarum* Lipoteichoic Acid Inhibits Oral Multispecies Biofilm. *J Endod* [Internet]. 2019;45(3):310-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.12.007>
 15. Gönczi NN, Strang O, Bagi Z, Rákhely G, Kovács KL. Interactions between probiotic and oral pathogenic strains. *Biol Futur* [Internet]. 2021;72(4):461-71. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s42977-021-00091-3>
 16. Dadgar S, Heydarian A, Sobouti F, Goli H, Rakhshan V, Heidari M. Effects of probiotic and fluoride mouthrinses on *Streptococcus mutans* in dental plaque around orthodontic brackets: A preliminary explorative randomized placebo-controlled clinical trial. *Dent Res J (Isfahan)* [Internet]. 2021;18:74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34760065> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8543094>
 17. Lin X, Chen X, Tu Y, Wang S, Chen H. Effect of probiotic lactobacilli on the growth of *Streptococcus mutans* and multispecies biofilms isolated from children with active caries. *Med Sci Monit*. 2017;23:4175-81.
 18. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 2011;53(4):452-9.
 19. Kaktcham PM, Zambou NF, Tchouanguép FM, El-Soda M, Choudhary MI. Antimicrobial and safety properties of lactobacilli isolated from two Cameroonian traditional fermented foods. *Sci Pharm*. 2012;80(1):189-203.



20. Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-blicks C. <2010. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by probiotic.pdf>. BMC Oral Health. 2010;18(2010):2-7.
21. Karimi N, Jabbari V, Nazemi A, Ganbarov K, Karimi N, Tanomand A, et al. Thymol, cardamom and Lactobacillus plantarum nanoparticles as a functional candy with high protection against Streptococcus mutans and tooth decay. Microb Pathog [Internet]. 2020;148(July):104481. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104481>

XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

En relación a la utilización de los resultados y contribuciones del trabajo de investigación, significará una referencia sustancial en el ámbito científico de nuestra población para promover el consumo del producto natural probiótico que contenga el fermento para disminuir las bacterias iniciadoras en la formación de la biopelícula dental que condicionan la caries dental y enfermedad periodontal.

Así como fomentar la industrialización de insumos para el cuidado bucal que contengan estos principios activos, como pastas dentales o enjuagues bucales con insumos de la región, considerando que los productos de origen natural tienen menores efectos adversos que repercutan salud general.

XII. Impactos esperados

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

La investigación está orientado a descubrir nuevos conocimientos relacionados a el efecto inhibitorio de microorganismos que se encuentran en insumos de consumo cotidiano de la población de modo que sirva de aporte científico y tecnológico, para la elaboración de nuevas investigaciones sobre el tema mencionado, además busca incrementar nuevas teorías y conocimientos, que permitan para su publicación y difusión a la comunidad científica.

ii. Impactos económicos

La investigación espera el movimiento de recursos económicos por los investigadores, así como la pronta industrialización de estos principios activos para uso odontológico y de la población.

iii. Impactos sociales

La investigación a realizarse tendrá un alto de impacto social, tanto en la sociedad como en los estudiantes para determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus Plantarum* sobre las bacterias patógenas formadoras de Biopelículas orales en el Altiplano del Perú, considerando que



reportes del MINSA, demuestran que la caries dental y enfermedad periodontal son las enfermedades más prevalentes en nuestra población, siendo un problema en la salud pública en la región.

iv. Impactos ambientales

Con la proyección de los resultados obtenidos, se hará réplica en otras instituciones, comparando y analizando resultados si las condiciones medio ambientales de altura geográfica cumplen un papel importante en la proliferación bacteriana.

XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

Recursos humanos: Investigadores, laboratorista, estadístico, personal de salud
Recursos materiales y servicios: piezas dentarias deciduas y permanentes, laboratorio para espectrofotómetro de absorción atómica, laptop, internet, USB, celulares, IBM SPSS, Microsoft Excel, Laboratorio acreditado para desarrollo de investigación.

XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)

Laboratorio de Microbiología y Parasitología multifuncional para enseñanza Aprendizaje, investigación y Responsabilidad Social de la Facultad de Medicina Humana de la UNA- Puno y Laboratorio de la Facultad Acreditada de Facultad de Biología de la UNA- Puno.

XV. Cronograma de actividades

Actividad	Trimestres												
	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	
Elaborar proyecto de investigación	x												
Recopilación de información bibliográfica	x												
Sistematización de la información	x	x	x										
Aplicación de instrumentos				x	x	x							
Análisis de resultados							x	x	x				
Redacción del informe final										x	x	x	
Publicación de artículo científico													x

XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
CEPAS DE LABORATORIO				
Cepas certificadas <i>Lactobacillus Plantarum</i>	cepas	1500	1FCO	1500.00
Cepas certificadas <i>Actinomyces viscosus</i>	cepas	1500	1FCO	1500.00
Cepas certificadas	cepas	1500	1FCO	1500.00



<i>Streptococcus sanguinis</i>				
BIENES				
Impresos	Hojas	0.60	500	300.00
Material de escritorio hojas	Paquetes hojas	18	500	180.00
Material de impresión	Cartuchos tinta	150	4	600.00
Material de laboratorio	placas	100	20	2000.00
Material de Laboratorio	Prob, tubos	50	20	1000.00
Material de laboratorio	Papel filtro	70	1	70.00
Material para laboratorio varios	varios	500	1	500.00
SERV				
Taller de Estadística	sesiones	200.00	04	800.00
Internet	mensual	80.00	12	1200.00
Llamadas Telefónicas	llamadas	0.50	120	160.00
Viáticos investigadores	unidad	50	12	600.00
Viáticos colaboradores	unidad	100	5	500.00
Publicación del artículo	unidad	9000.00	1	9000.00
Transporte muestras de estudio	unidad	300.00	2	600.00
Transporte	pasajes	2.00	120	340.00
Otros gastos	unidad	3000.00	1	3000.00
TOTAL				25,350.00