



Los alumnos deben llenar esta hoja y entregarla al supervisor junto con la versión final de su monografía.

Número de convocatoria del alumno	0	0		
Nombre y apellido(s) del alumno				
Número del colegio	0	0		
Nombre del colegio				
Convocatoria de exámenes (mayo o noviembre)	Mayo		Año	2015

Asignatura del Programa del Diploma en la que se ha inscrito la monografía: Biología  
(En el caso de una monografía en lenguas, señale si se trata del Grupo 1 o el Grupo 2.)

Título de la monografía: Factores que afectan el crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de Agar

**Declaración del alumno**

La monografía no se evaluará si la declaración no está firmada por el alumno.

Confirmando que soy el autor de este trabajo y que no he recibido más ayuda que la permitida por el Bachillerato Internacional.

He citado debidamente las palabras, ideas o gráficos de otra persona, se hayan expresado estos de forma escrita, oral o visual.

Sé que el máximo de palabras permitido para las monografías es 4.000, y que a los examinadores no se les pide que lean monografías que superen ese límite.

Esta es la versión final de mi monografía.

Firma del alumno: \_\_\_\_\_

## Informe del supervisor

Los supervisores deben llenar esta página y luego entregar esta portada junto con la versión final de la monografía al coordinador del Programa del Diploma del IB. Si el supervisor no firma este informe, la monografía no se evaluará y puede que sea devuelta al colegio.

Nombre y apellido(s) del supervisor [MAYÚSCULAS]: \_\_\_\_\_

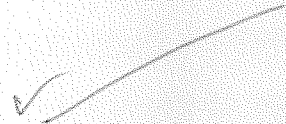
## Comentarios

Si lo considera adecuado, escriba algunos comentarios sobre el contexto en que el alumno desarrolló la investigación, las dificultades que encontró y cómo las ha superado (ver página 13 de la guía para la monografía). La entrevista final con el alumno puede ofrecer información útil. Estos comentarios pueden ayudar al examinador a conceder un nivel de logro para el criterio K (valoración global). No escriba comentarios sobre circunstancias adversas personales que puedan haber afectado al alumno. En el caso en que el número de horas dedicadas a la discusión de la monografía con el alumno sea cero, debe explicarse este hecho indicando cómo se ha podido garantizar la autoría original del alumno. Puede adjuntar una hoja adicional si necesita más espacio para escribir sus comentarios.

La biología es una pasión para el estudiante, por lo cual su actitud fue positiva, mostro interés desde el principio, trabajo con mucho interés y a través de este trabajo mejoro su habilidad para resolver problemas.

El enfoque y el problema de investigación se escogieron adecuadamente, el tema es original, aunque tubo que resolver muchas situaciones para poder definir el metodo. Trabajo con constancia como se puede notar en su metodología.

Recopilo información de varias fuentes para poder entender con claridad la investigación que suministra en su monografía y poderle dar una valoración global importante al tema que escogió.



He leído la versión final de la monografía, la cual será entregada al examinador.

A mi leal saber y entender, la monografía es el trabajo auténtico del alumno.

He dedicado  horas a \_\_\_\_\_ o su progreso en la realización de la monografía.

Firma del supervisor:

Fecha: Feb 27, 15

**Formulario de evaluación (para uso exclusivo del examinador)**

Número de convocatoria del alumno		
-----------------------------------	--	--

Criterios de evaluación		Nivel de logro		
		Primer examinador	Máximo	Segundo examinador
A	Formulación del problema de investigación	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="1"/>	2	
B	Introducción	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	2	
C	Investigación	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
D	Conocimiento y comprensión del tema	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="1"/>	4	
E	Argumento razonado	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
F	Aplicación de habilidades de análisis y evaluación apropiadas para la asignatura	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
G	Uso de un lenguaje apropiado para la asignatura	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
H	Conclusión	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="1"/>	2	
I	Presentación formal	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
J	Resumen	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="0"/>	2	
K	Valoración global	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text" value="2"/>	4	
Total (máximo 36)		<input style="width: 60px; height: 25px;" type="text" value="17"/>		<input style="width: 60px; height: 25px;" type="text"/>

Nombre y apellido(s) del primer examinador:             
[MAYÚSCULAS]

Número de examinador: \_\_\_\_\_

Nombre y apellido(s) del Segundo examinador  
[MAYÚSCULAS]

Número de examinador: \_\_\_\_\_



**Monografía**

**Tema de Investigación**

Factores que afectan el crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de Agar.

? **Pregunta de Investigación**

Determinar los efectos de diferentes ondas de luz sobre el crecimiento de una cepa de ***Streptococcus mutans*** en un método de cultivo **SULBAC.**

**Materia: Biología Nivel Medio**

✓  
**Número**

---

---

## **Abstracto**

La bacteria *Streptococcus mutans* es, la bacteria responsable del proceso cariogénico, el cual destruye el tejido duro de la cavidad oral, mediante procesos metabólicos, produciendo Ácido Láctico el cual corroe los dientes. Ya que esta problemática afecta a al menos 6 de cada 10 colombianos, este proyecto [se buscara un tratamiento alternativo al tratamiento corriente, puesto que el tratamiento profiláctico normal, es invasivo y doloroso y de esta manera lograr un cambio en la salud oral de los ciudadanos Colombianos y del mundo, con un tratamiento más accesible que el tradicional,] *300 RP*

Para esto se usaran 3 tipos de luces con longitudes de ondas diferentes y características electromagnéticas diferentes, con las cuales se buscara ver si estas tienen algún efecto sobre el proceso reproductivo de la bacteria responsable, para esto se usó como medio de cultivo de la bacteria un Agar selectivo llamado Agar Mitis Salivarius, el cual es ampliamente usado en el área de la microbiología para cultivar este tipo de bacteria pues le provee los azúcares necesarios para crecer y desarrollarse, luego se seleccionan los 3 tipos de luces mientras, la bacteria incuba por un periodo de 3 días, las longitudes de Onda a utilizar fueron la Luz UV , un Laser de 532 nm ,y Luz normal proveniente de una bombilla de 40 watts, para evitar que el frío del ambiente influyera en el experimento, se propuso utilizar 2 peceras de vidrio recubiertas de papel aluminio para evitar intercambios de calor bruscos con el ambiente, y el 3 medio es una caja de Poliestireno Expandido, que también servirá para aislar los cultivos dentro de cambios de temperatura, mientras que los cultivos de control serán introducidos en un recipiente cerrado sin acceso a luz , que provea condiciones de luz, temperatura y humedad constantes. Para medir el crecimiento de los cultivos se utilizó una grilla de 5mm x 5mm y al cabo de 4 días se registraron los datos, y se repitió nuevamente para luego analizar la variación por medio de la prueba T y por medio de la tasa o porcentaje de crecimiento en cada medio. Finalmente se demostró que las propiedades de la radiación electromagnética de la Luz UV, fueron las responsables de que el medio de cultivo perdiera su capacidad de reproducirse, logrando así que la hipótesis planteada fuera validada, y que se pueda investigar acerca de nuevos tratamiento profilácticos con el uso de la Radiación proveniente de la luz UV. *control?*

*control.*

*J=0*

Tabla de Contenido

Titulo	Página
Abstracto	2
Introducción	4
Radiación Electromagnética	7
Luz Ultravioleta	8
Láser 532nm y Luz Blanca	9
Propósito	10
Hipótesis	10
Materiales Generales	11
Materiales Medio De Cultivo	12
Método	13
Variables	16
Datos Brutos	29
Análisis De Datos	19
Conclusión	28
Apéndice	29
Bibliografía	31
ANEXOS	33

*no completa*

*Met.*

*I*

## **Introducción**

Las bacterias cariogénicas han sido un problema del humano desde sus inicios, pero sus efectos a la salud han sido controlados con nuevos hábitos higiénicos, evitando así la desmineralización de los dientes, aunque sigue siendo un problema global, pues se presenta con mayores efectos en la población con difícil acceso a tratamientos profilácticos y odontológicos de control.

La bacteria *Streptococcus mutans*, es una bacteria cariogénica, del orden **Lactobacillales**, esto quiere decir que se encuentra en una rama de las bacterias Gram positivas que producen caries, la cual es considerada una de las infecciones bacterianas más comunes en el ser humano, pero dado que no son letales, no tienen la prioridad necesaria. Las bacterias de este orden producen Ácido Láctico, como mayor metabolito como producto de los azúcares<sup>1</sup>, esto como un producto secundario de Glicolisis. Esta bacteria se adhiere al esmalte dental mediante la enzima Glucosyl Transferase, que convierte la sacarosa, en Glucan un producto que permite que las bacterias se adhieran entre sí, y también se adhieran al esmalte dental como se muestra en el siguiente proceso en la Imagen N°1. Esta bacteria se ubica en la cavidad oral del individuo, pues es ahí donde logra extraer azúcares, para la obtención de energía, necesariamente la dieta del individuo deberá contener al menos un tipo de carbohidrato simples como Fructosa, Glucosa o Ribosa, permitiendo así realizar el proceso de energía, donde como producto se obtiene una solución ácida y un polisacárido que permite la adherencia al esmalte dental.

El proceso cariogénico, es un proceso destructivo, especializado en los tejidos duros del diente, constituidos principalmente por calcio, esta destrucción dental, normalmente es asintomática en la mayoría de sus casos, aunque se pueden presentar indicios cuando el proceso cariogénico este en una etapa avanzada, entre ellos podemos, advertir señales como dolor dental, e hipersensibilidad al ingerir ciertos alimentos. Dependiendo del grado de afectación que lleve la carie, se tienen 4 fases de tratamientos, para fase 1 y 2 se usa un obturador dental o "empaste", de manera que la zona afectada se retira el tejido comprometido y encima se coloca un obturador de resina o una amalgama de plata y mercurio. Para la fase 3 se procede a una endodoncia, ya que la caries ha atacado la pulpa dental, y se procede a extraer los nervios dentro de las estructuras dentales afectadas para su posterior desinfección y relleno, cuando la caries ha afectado más que el diente, se procede a realizar un absceso dental, extrayendo

completamente el diente y desinfectando la zona para luego insertar un implante dental.<sup>2</sup>

El proceso cariogénico consta de fases de destrucción dental, en la primer fase, la bacteria ***Streptococcus mutans***, comienza el proceso cariogénico, al crear una enzima, capaz de permitirle a la bacteria adherirse al esmalte dental y corroer el esmalte, normalmente este proceso es indoloro y solo es detectable por parte de un odontólogo. Posteriormente, la caries llega hasta la dentina o comúnmente conocido como marfil y comienza su destrucción, en este proceso la caries produce dolor ya que los nervios dentales están más expuestos. Si este proceso no es detenido oportunamente, la caries alcanzara la tercera fase donde produce una infección en los nervios dentales, que de no ser tratada, esta alcanzara la última fase en la cual destruye los ligamentos periodontales, el hueso y la encía, lo que conlleva a una infección más dolorosa y compleja. Este proceso destructivo se puede identificar en la **Imagen N°2**

*estudio niñal?*  
En Colombia, existe un gran aumento significativo pues según estadísticas se sabe que al menos 6 de cada 10 colombianos han tenido caries y el 68% de niñas y niños sin acceso a control preventivo tienen caries según un estudio de la empresa **Colgate®**<sup>3</sup>

Debido a estas estadísticas y al interés por estudiar métodos de control y prevención de caries se buscara en este trabajo, determinar los efectos de las Ondas de luz en el crecimiento de una cepa de ***Streptococcus mutans***, pues este problema abarca a la gran mayoría de la población joven de Colombia, además de este interés por el servicio social, elegí trabajar las caries, puesto que durante mi infancia, me vi afectado por este proceso destructivo y el recuerdo que del dolor que sentí antes y durante la extracción del diente fueron traumáticos, encontré de esta manera una forma de trabajar apasionadamente esta infección, para poder buscar una solución menos invasiva y dolorosa, a aquellos que presentan este tipo de afección, aunque no pretendo que los medios de prevención como el lavado de dientes constante y las revisiones con el odontólogo sean terminadas, si me gustaría lograr demostrar una base para un tratamiento con menos efectos dañinos. Como posible solución a esta problemática, encontré los efectos de las ondas de luz ultravioletas sobre bacterias, pues durante una visita a una facultad de Medicina, encontré que varios elementos, eran esterilizados mediante el uso de **Rayos UV**, por lo que quise comprobar sus efectos sobre esta bacteria, y además poder compararlos con otras ondas de luz que consideraba podrían tener un efecto sobre el crecimiento bacteriano.

*¿factible?*

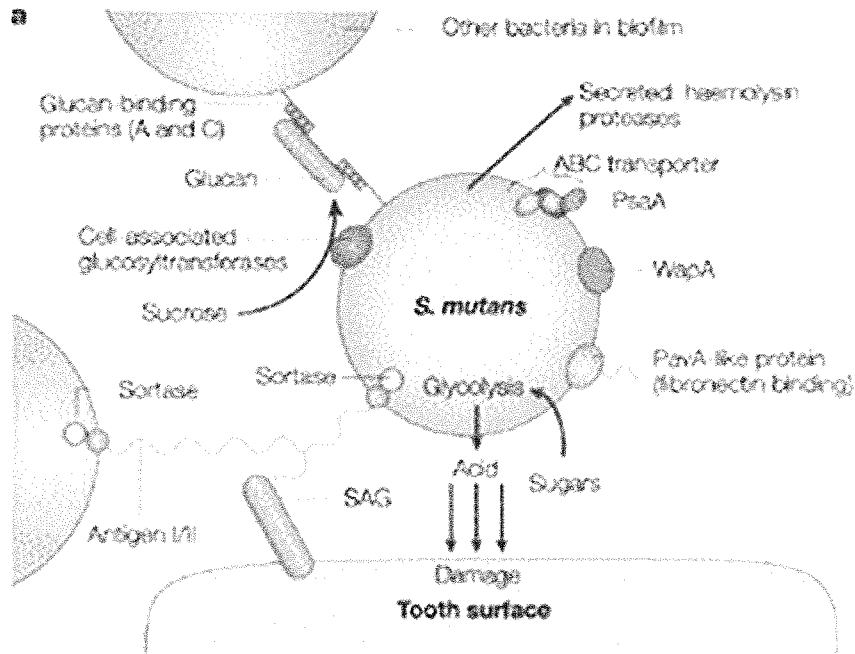
<sup>2</sup> <http://www.listerine.es/problemas-bucales/caries/tratamiento>

<sup>3</sup> <http://www.colgateprofesional.com.co/noticias/Alianza-por-un-Futuro-Libre-de-Caries--Capitulo-Colombia/detalles>



IMAGEN Nº 1 *en el dextro.*

PROCESO CARIOGÉNICO DE LA BACTERIA *STREPTOCOCCUS MUTANS*

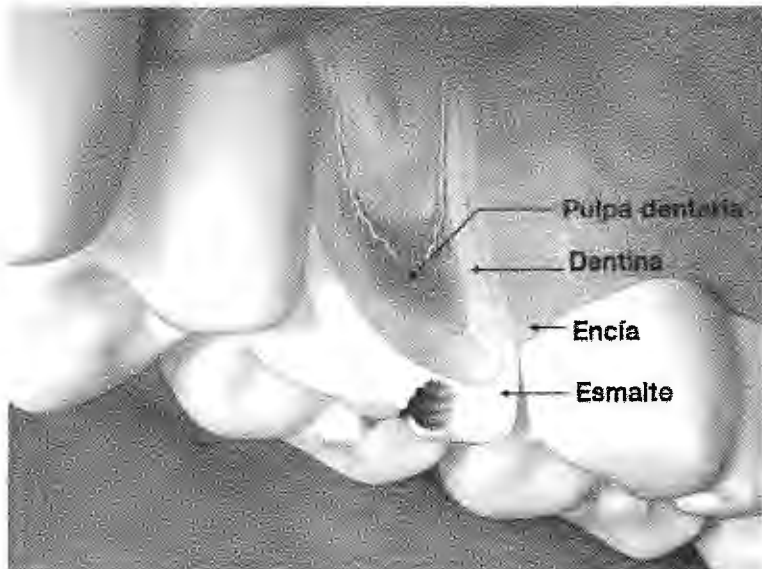


[http://2013.igem.org/wiki/images/3/38/Oral\\_decay.png](http://2013.igem.org/wiki/images/3/38/Oral_decay.png)

(I)

IMAGEN Nº2

PROCESO DESTRUCTIVO DENTAL POR PARTE DE LA CARIES.



[http://www.listerine.es/sites/www.listerine.es/files/images/carie1\\_0.jpg](http://www.listerine.es/sites/www.listerine.es/files/images/carie1_0.jpg)

#### Radiación Electromagnética:

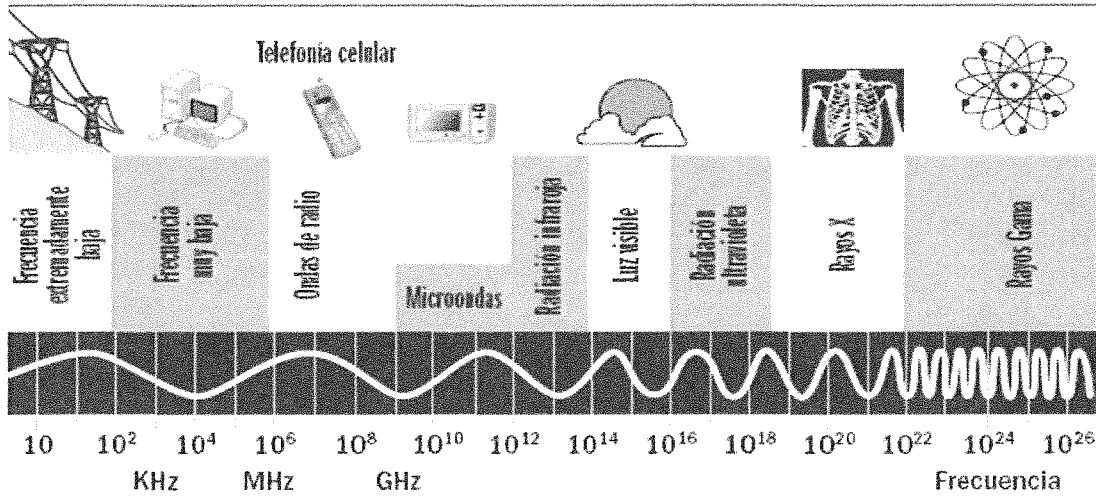
La radiación electromagnética, es una propiedad física de las diferentes ondas, presentes en la naturaleza, y la radiación es el comportamiento de ondas eléctricas y magnéticas, que se mueven en un espacio a la velocidad de la luz<sup>4</sup>, los efectos de esta dependen de la longitud de onda presente.

---

<sup>4</sup> [http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital\\_17516.pdf](http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital_17516.pdf)

IMAGEN N°8

RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA



[http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital\\_17516.pdf](http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital_17516.pdf)

Adjunto esta imagen por que las ondas de Radiación Ultra Violeta presentan una longitud de onda<sup>5</sup> mucho menor, lo que significa que en menor tiempo esta radiación puede transmitir mayor energía, es por esto que mi hipótesis , acerca de que la Luz UV será el medio que más efectos tendrá.

<sup>5</sup> Longitud De Onda( $\lambda$ ): Es la distancia entre dos puntos sucesivos situados en la misma fase de un movimiento ondulatorio: <http://www.fotonostora.com/glosario/longitudonda.htm>

## Luz Ultravioleta (UV)

La luz ultravioleta es una onda de luz que no es visible al ser humano, puesto que su longitud de onda es menor a la onda de luz visible, es un tipo de radiación electromagnética, este tipo de luz tiene una longitud de onda que oscila entre los 380 y los 400 nm<sup>6</sup>, si bien este tipo de luz no es visible puede ser reproducida por leds de luz negra, que producen esta misma longitud de onda, para esto se usará una lámpara de luz negra, que es usada para comprobar la autenticidad de billetes moneda. Se utilizará la luz ultravioleta porque esta es usada a nivel clínico, como un desinfectante, puesto que esta radiación electromagnética produce, como resultado una alteración en el ADN de los microorganismos, impidiendo su posterior reproducción. La desinfección por UV, es un proceso físico donde la radiación electromagnética se transfiere hacia el material genético del microorganismo incapacitando el proceso de reproducción.<sup>7</sup> En las bacterias la luz UV produce efectos letales y mutagénicos en las células procariontas, pues gracias al doble enlace del ADN, las células adquieren un nivel de absorbancia de esta longitud de onda, que deriva en la mutación e inhibición de procesos celulares, que dan como resultado productos raros, conocidos como fotoproductos, entre los fotoproductos más importantes se encuentran los dímeros de Pirimidina entre los efectos más importantes, encontramos la distorsión de la configuración de la doble hélice, provocando una alteración en el emparejamiento normal, de las bases complementarias, llevando a una interferencia en los procesos de replicación y transcripción, afectando sus procesos de reproducción.<sup>8</sup>

---

<sup>6</sup> [http://www.windows2universe.org/physical\\_science/magnetism/em\\_ultraviolet.html&lang=sp](http://www.windows2universe.org/physical_science/magnetism/em_ultraviolet.html&lang=sp)

<sup>7</sup> <http://orbitalingenieria.com.ar/productos/esterilizador-por-rayos-uv/>

<sup>8</sup> [http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/13agfisicos.htm#\\_Toc59451635](http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/13agfisicos.htm#_Toc59451635)

Laser 532 nm y Luz Visible Blanca

Los medios posteriores (Laser 532 nm y Luz Visible Blanca), fueron elegidos como ondas de luz con las que se podría comparar y esperar un resultado sobre el crecimiento de las bacterias, en donde se usa el tratamiento laser por sus efectos bactericidas<sup>9</sup>, es por esto que se tomaron como medios de cultivo secundarios éstos dos tipos de ondas de luz, además de que su producción fuera fácil y permitida por las regulaciones de salud, principalmente, existen procesos de desinfección laser aunque no son muy utilizados comúnmente, puesto que estos tienden a transmitir además de radiación, energía térmica, lo cual resultaría en efectos no deseados, pues además de inhibir la capacidad reproductiva de una bacteria, también la destruyen elevando su temperatura mediante la transferencia de energía térmica, pero si existe un aumento en la temperatura dentro de la cavidad oral, habrían efectos secundarios, pues dentro de la saliva, existen enzimas que ante un incremento de temperatura, se desnaturalizan perdiendo sus propiedades catalíticas, y existen organismos que permiten el buen funcionamiento de la cavidad oral y su mantenimiento mediante fagocitosis, y es por eso que un eventual aumento de temperatura tendría efectos no deseados a corto plazo.

C, D: 532 nm  $\Rightarrow$  laser verde, no tiene efecto bactericida.

<sup>9</sup> <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v24n2/original2.pdf>

## **Propósito**

El propósito de esta investigación es analizar y determinar cómo diferentes longitudes de onda pueden afectar el ciclo reproductivo de una cepa de ***Streptococcus mutans***, la cual es una bacteria cariogénica, esta bacteria sintetiza sacarosa en una solución ácida que produce daño en la dientes<sup>1</sup>, que es un problema creciente en la población colombiana, con este estudio se espera para ver cómo podemos controlar el crecimiento de las bacterias con diferentes ondas luz, como luz visible, Luz Laser de 532 nm y la luz ultravioleta(UV).

es visible.

## **Hipótesis**

Si se expone un cultivo de ***Streptococcus mutans*** a tres ondas de luz como laser de 532nm, luz Ultra Violeta y luz normal, entonces habrá mayor disminución en el crecimiento de la bacteria en el medio UV, puesto que la Luz Ultra Violeta libera radiación electromagnética con una longitud de onda menor, lo que significa que la capacidad de irradiar energía será mayor en lapso menor de tiempo, esto se evidenciara mediante la disminución del conteo visual del cultivo, ya que al someter las muestras a longitudes de onda diferentes, estas inhibirán el proceso reproductivo de la bacteria mediante un exceso de radiación.

C, D - En estos se exponen los fundamentos biológicos que explicarían los posibles resultados esperados.

### **Materiales Generales:**

- ✓ Caja de Petri
- ✓ Agar Mitis Salivarius
- ✓ Asa de aluminio
- ✓ Hisopó
- ✓ Horno de Cultivo
- ✓ 3 recipientes cerrados de 30cm x 30cm
- ✓ Bombillo Luz Ultravioleta (Luz Negra) *-long. de onda?*
- ✓ Laser de 532nm
- ✓ Espejo Convexo de 5 cm
- ✓ LED 40 watts ?
- ✓ Microscopio
- ✓ Lugol
- ✓ Acetona
- ✓ Guantes de Látex
- ✓ Solución desinfectante(Agua Destilada 50ml +Peróxido de Hidrogeno 50ml)
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ Pinzas
- ✓ Muestra de Saliva ? *C = cómo obtenerlo Streptococcus?*
- ✓ Termómetro Digital
- ✓ Calculadora
- ✓ Grilla de 5mmx5mm

### **PREPARACION METODO DE CULTIVO SELECTIVO**

**Materiales Agar Mitis Salivarius**

*para pue?*

- Matraz Erlenmeyer
- Agua destilada con pH neutro
- Estufa
- Peptona
- Sacarosa
- Cristal Violeta
- Bacitracina
- Azul tripan
- Caja de Petri
- Agar Agar

*para pue?*  
*para pue?*

*Tabla 1*

Preparación Medio de Cultivo	
Compuesto	Cantidad (grs) por cada litro
Sacarosa	50
Dextrosa	1
Azul de Trypan	0.075
Violeta Cristal	0.0008
Agar Agar	15
Final pH: 7.0 ± 0.2 at 25°C	

[http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7277\\_PI.pdf](http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7277_PI.pdf)



## Método

Para esto se usara un método de cultivo selectivo (Mitis Salivarius Agar), es decir que impida el crecimiento de bacterias no deseadas, este se preparara en un medio esterilizado para evitar alterar las bacterias presentes, el experimentador por lo tanto deberá utilizar gafas de seguridad, guantes de látex, bata limpia con clorox, y un gorro que impida la caída de residuos foliculares.

Se eligió este método de cultivo puesto que es el más aceptado a nivel científico, para poder crecer muestras de ***Streptococcus mutans***, puesto que contiene en su composición dos tipos de carbohidratos que son usados por esta bacteria para su proceso cariogénico, además su pH es similar al de la cavidad oral promedio, es por esto que el medio de cultivo elegido para este trabajo es el Mitis Salivarius Agar

Primero para el agar se procede a colocar. Los 15 grs de agar en el litro de agua, mientras se calienta la solución, se van agregando los siguientes reactivos, mientras se agregan, la mezcla debe agitarse hasta que no quede ninguna señal de alguno de los reactivos en la solución homogénea.

Próximamente, se procede a cultivar las bacterias, para tomar las muestras se usa una asa de metal desinfectada por fuego, y se raspa la parte inferior de la corona, para mayor seguridad, se tomara la muestra de varios molares, luego de esto, se cultiva las muestras en el agar ya solidificado, inmediatamente se procede a esterilizar el asa nuevamente y a cerrar la caja de Petri, a continuación se introduce la caja de Petri en el horno de cultivo, que estará precalentado a una temperatura similar a la corporal de 37 °C.

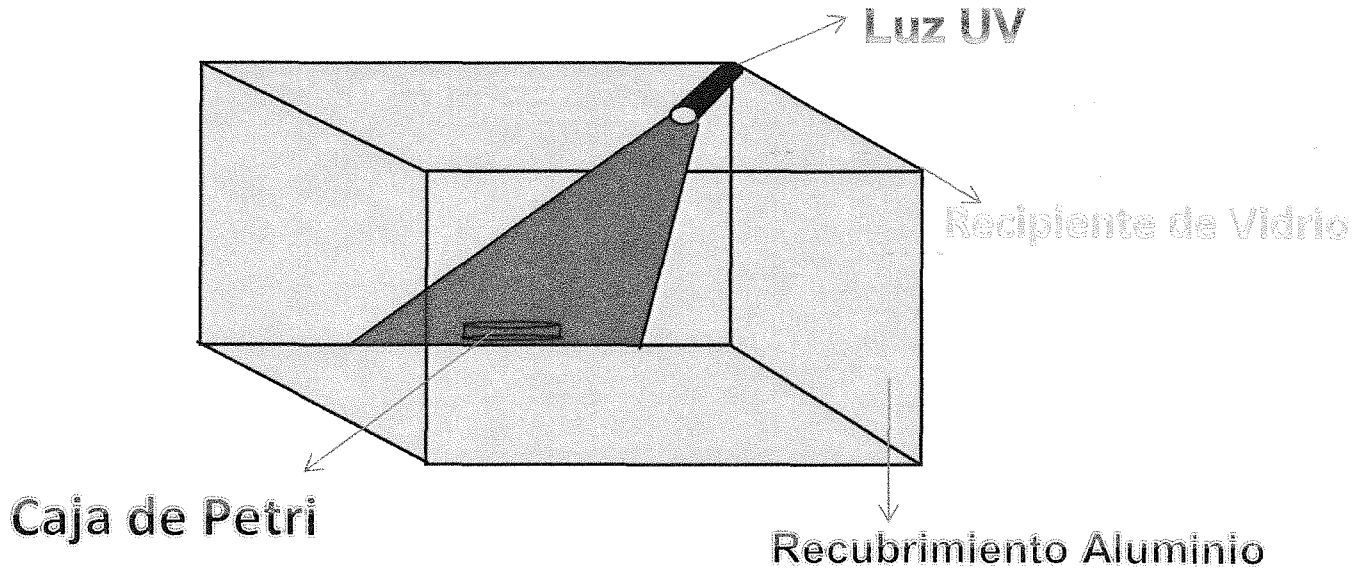
Luego de 4 días, el ***Streptococcus mutans***, ya debería haber formado una colonia, se observan las colonias de 20 cultivos, y se realiza un conteo en cada caja de Petri, cada una debe estar debidamente enumerada y titulada para evitar errores. Luego de que cada cultivo sea contado, se procederá a introducir 4 cajas de Petri en cada medio.

-**Medio de control** : Será una caja herméticamente cerrada, a la cual se agregara 5 ml de agua en un recipiente abierto, que ayudara a mantener una humedad relativa a lo largo del tiempo de experimentación, este recipiente no deberá haber luz entrante.

**Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.**

**-Medio Ultravioleta:** Este medio estará compuesto de igual manera con un recipiente de 5 ml para la humedad relativa, pero a diferencia del anterior este tendrá una luz ultravioleta de una onda de 380 nm, que estará dentro de la caja. Ver Anexo

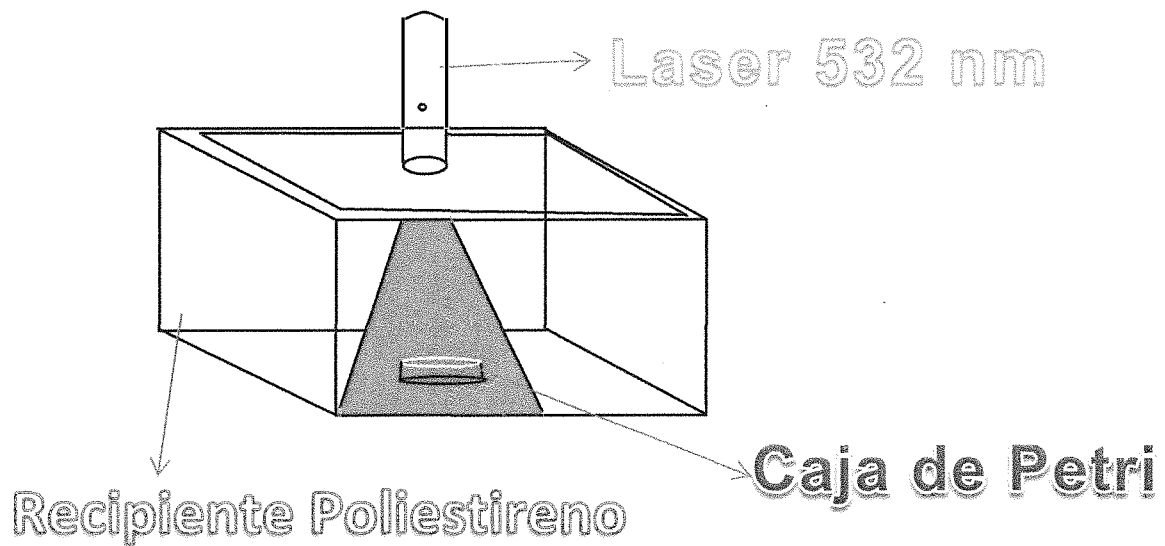
**Ilustración Medio Ultravioleta**



**-Medio Laser:** En este ambiente habrá láser de 532 nm, con el haz de luz ampliado para que se pueda abarcar toda el área de las 4 cajas de Petri.

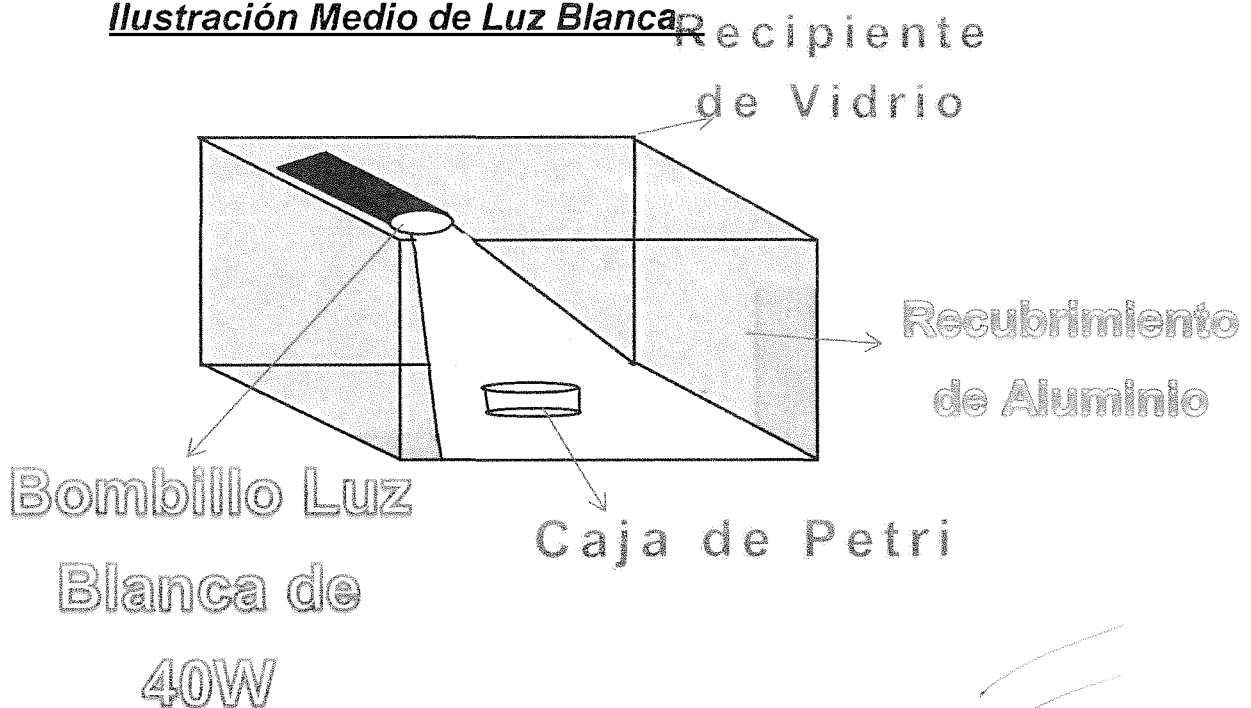
*C = ¿suficiente intensidad?*

Ilustración Medio Laser



**-Luz Normal:** En este medio habrá un bombillo de 60 W de luz blanca, que estará dispuesto detrás de un vidrio para evitar que la temperatura afecte la temperatura normal del cultivo.

Ilustración Medio de Luz Blanca



# Colonias?

Para realizar el conteo, se hará una grilla de cuadrados de 5mm x 5mm, que será de un tamaño total de 20 cm x20 cm, en donde se colocara la caja de Petri encima para medir por medio de cuadrículas la concentración por  $cm^2$ .

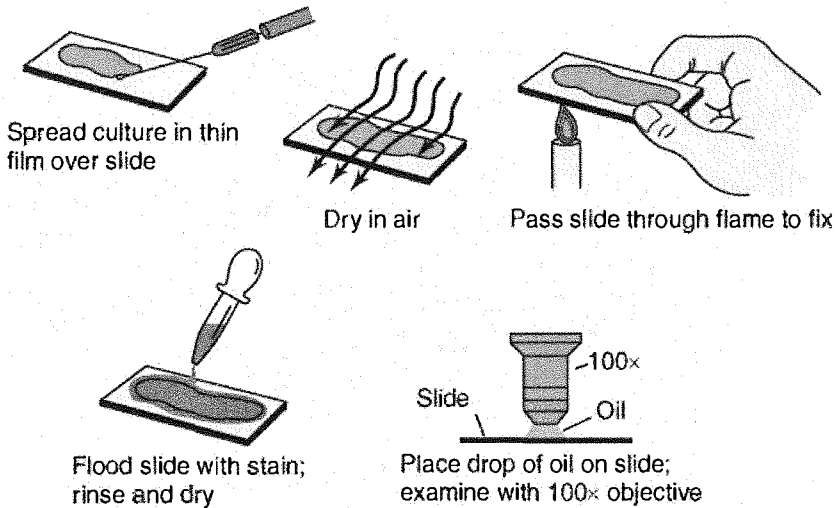
Para que podamos evidenciar las bacterias que cultivamos, se usara el método de tinción Gram, pues según la investigación, la *bacteria Streptococcus mutans*, es una bacteria Gram positiva, para esto usaremos una mezcla de alcohol y acetona, junto a una parte de cristal violeta, y lugol,

Para este proceso de tinción primero se fija la muestra con fuego, luego se tiñe la muestra con Cristal Violeta, luego de reposar por 1 minuto, se introduce el lugol que teñirá las bacterias, se utilizara una solución 50/50 de Alcohol Etílico al 96% y Acetona, esta solución desteñirá las bacterias Gram - , esto nos permitirá ver solo las muestras Gram + que son las que se están observando.

Para Observar los medios de cultivo ir a anexos.

C-¿se cuenta?

### Método de tinción



[http://dc118.4shared.com/doc/A3piqjlq/preview\\_html\\_6bdb4eeb.png](http://dc118.4shared.com/doc/A3piqjlq/preview_html_6bdb4eeb.png)

### Variables

**Independiente:**

- Tipo de luz Usado: Se usaran 4 tipos de luces ,el primero será Luz Ultravioleta(UV) ,y se obtendrá mediante un bombillo de luz negra, el segundo será Luz Laser y se obtendrá mediante el uso de un láser de onda verde de 532nm ,cuya haz de luz será ampliada mediante vidrios convexos, el tercer tipo de luz será luz normal ,la cual se obtendrá mediante un bombillo LED de luz blanca de 60 W, el cuarto tipo de luz será la luz normal ambiental la cual tiene combinaciones de Luz UV,IR y Visible este último se obtendrá mediante el posicionamiento del cultivo a una exposición solar sin ningún tipo de control de luz.

**Dependiente:**

- Cantidad de Bacterias: Esta variable será medida mediante el uso de una cuadrícula en la caja de Petri, de esta forma se verá mediante una tinción Gram positivo, si las bacterias fueron afectadas por las ondas de luz específicamente en su reproducción celular.

**Controlada:**

- Temperatura: La temperatura se controlara en todas las muestras, y será de aproximadamente 37°C, la cual asemeja la temperatura corporal, para evitar que aumente esta por el uso del Bombillo de luz, se usara uno LED que tiene menor liberación de Calor.
- Tipo de luz: Esta variable se controlara ,mediante el uso de un espacio completamente cerrado que no permita la filtración de otras ondas de luz, y solo el tipo de luz deseado será el que este adentro de esta manera se asegura que el experimento sea más fiable y preciso.
- Tiempo de Exposición a las Ondas de Luz: en los tres medios el tiempo de exposición será el mismo para las 5 muestras, se estima exponerlos a tiempos de 8 horas durante 5 días, se iniciara a las 7:30am, y se expondrán a los diferentes tipos de luces todos en ambientes herméticos a la luz, excepto el de control que estará al aire libre. Luego de finalizado el tiempo se introducirán los cultivos en el horno de cultivo hasta el siguiente día.

**Análisis de Datos**

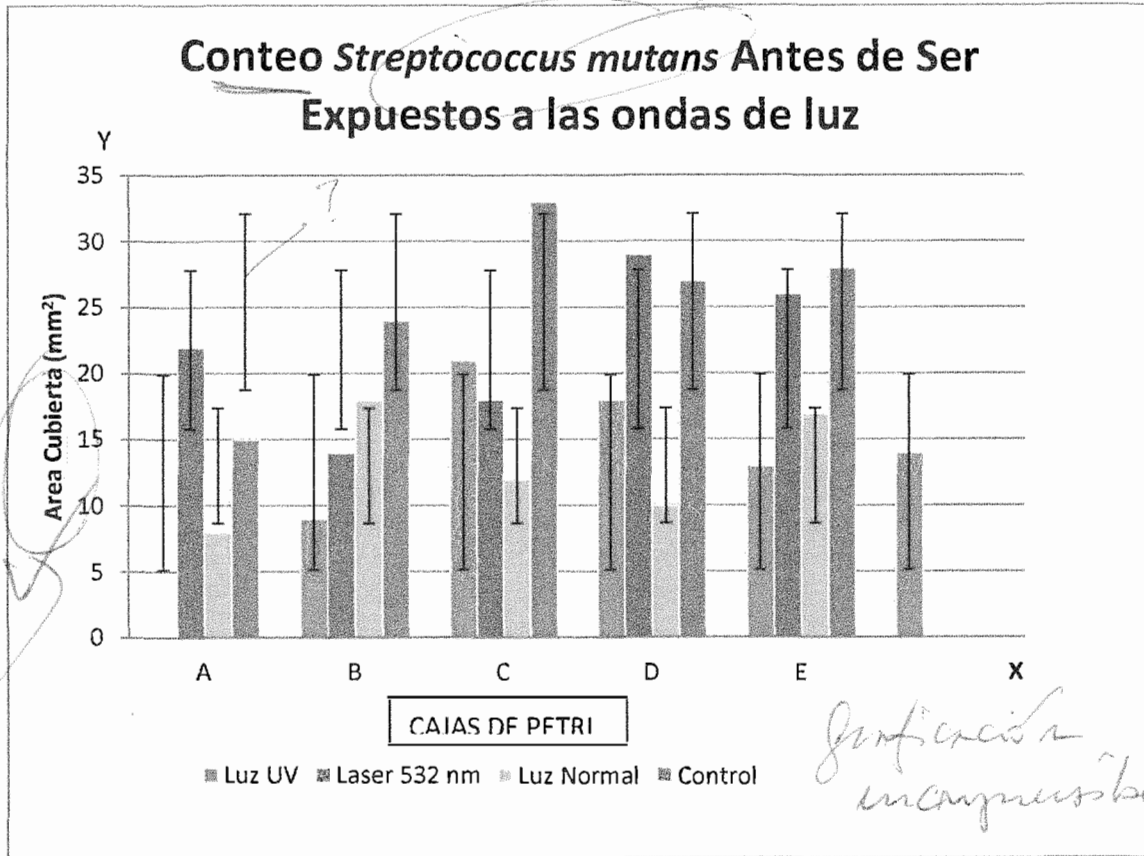
¿influencia  
a su uso  
contra virus?

¿UFC? - (G)

Datos Brutos en Apéndice

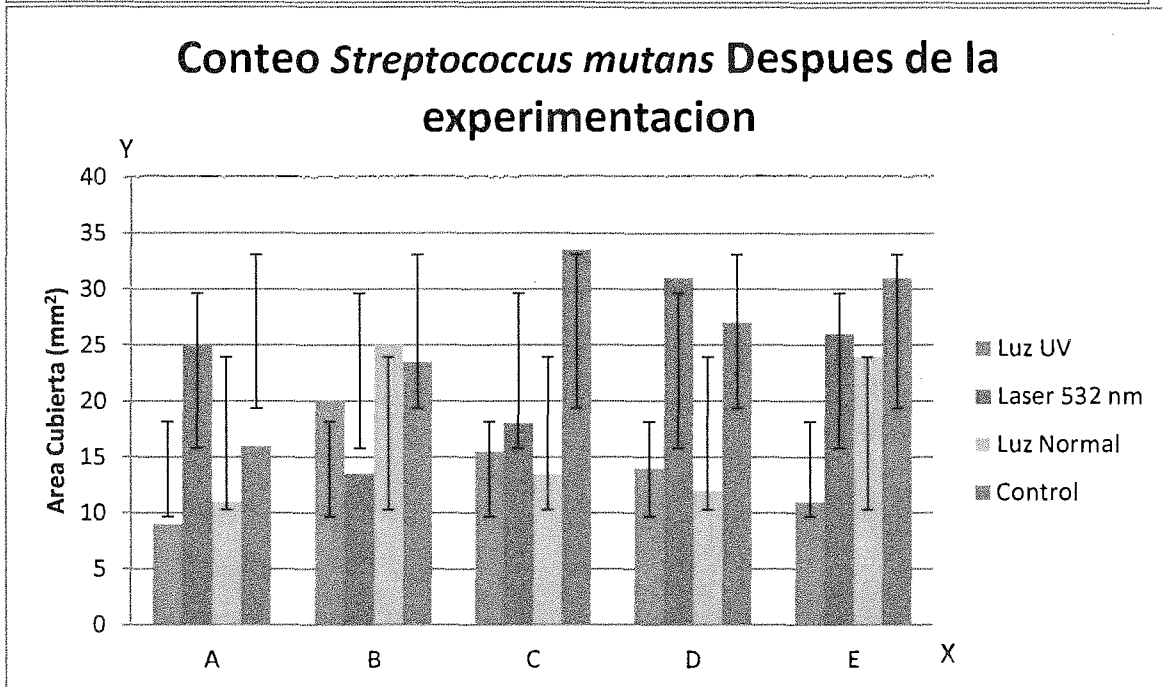
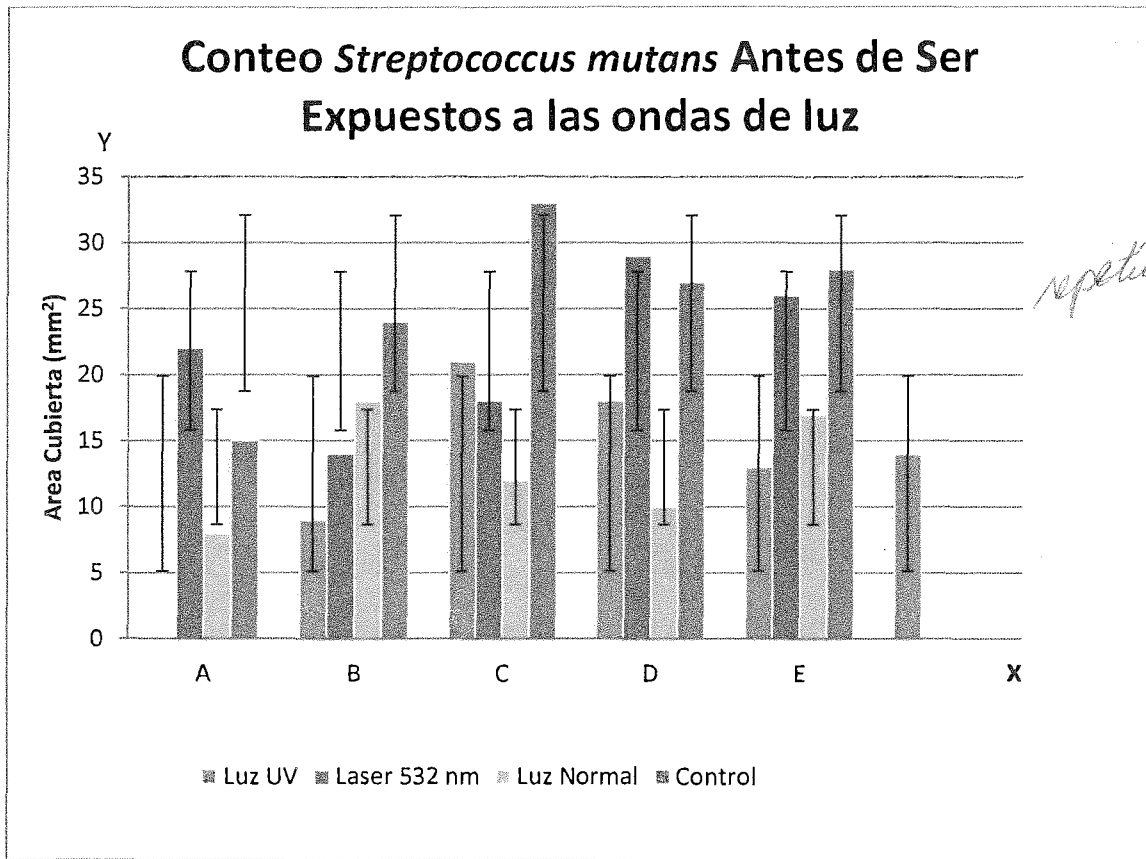
Prueba #1

Grafica#1



¿Cómo se contabiliza?

Grafica#2



En las gráficas, presentadas arriba podemos realizar una comparación del crecimiento por cada muestra en cada medio, en el medio de la Luz UV podemos ver que en la muestra "A" el área cubierta se mantiene igual a la medida antes de

**Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.**

realizar la prueba en el medio UV, mientras las muestras "B", "C" y "E" muestran un aumento con respecto al área ocupada previamente lo que muestra un disminución en la población bacteriana, aunque la muestra "D" mostro un crecimiento a diferencia de la disminución de la población de las otras muestras.

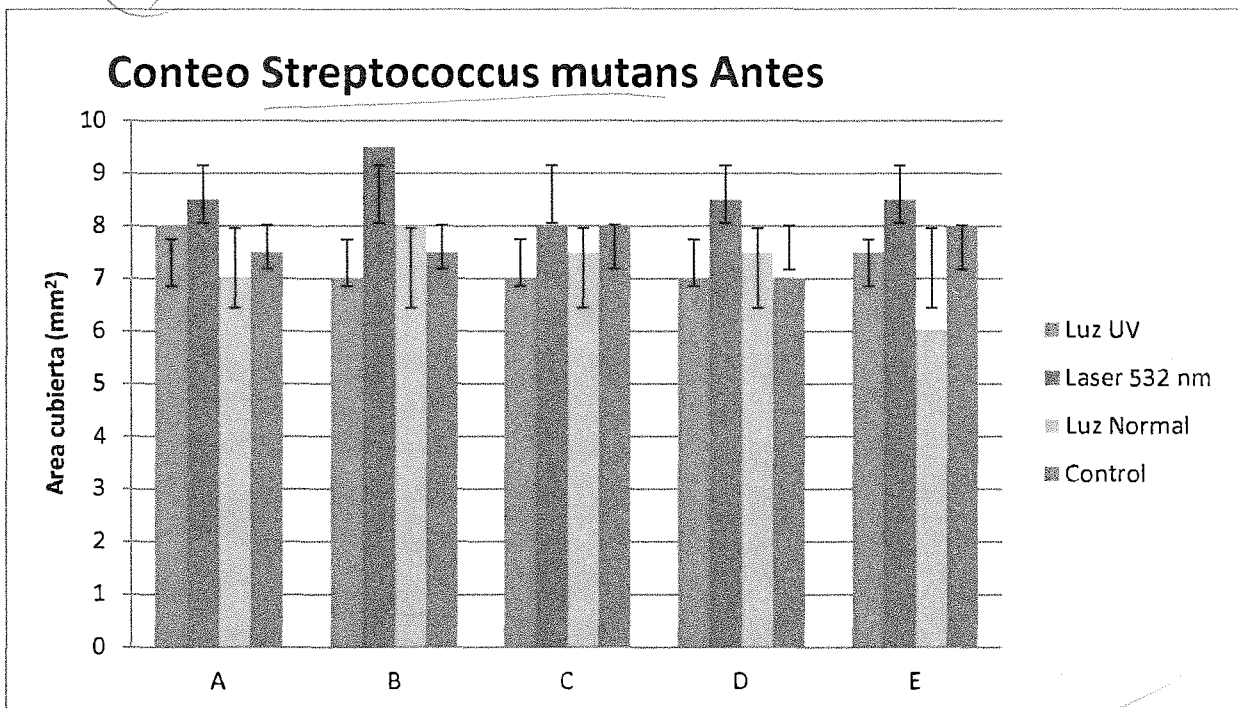
En el medio Laser, las muestras "A" y "D" muestran un claro aumento en el área que abarca la población bacteriana, estas dos muestras eran en las que el láser tenía menor incidencia, aunque la muestra "B" muestra una disminución en su área colonizada, se puede advertir que esta estaba más cerca del haz del láser, y las muestras restantes "C" y "E", no muestran ningún cambio con respecto al área antes de realizarles la prueba con el láser.

En el medio que usaba la luz normal, se puede observar que el 100% de las muestras "A", "B", "C", "D" y "E" tuvieron un aumento significativo en el área abarcada.

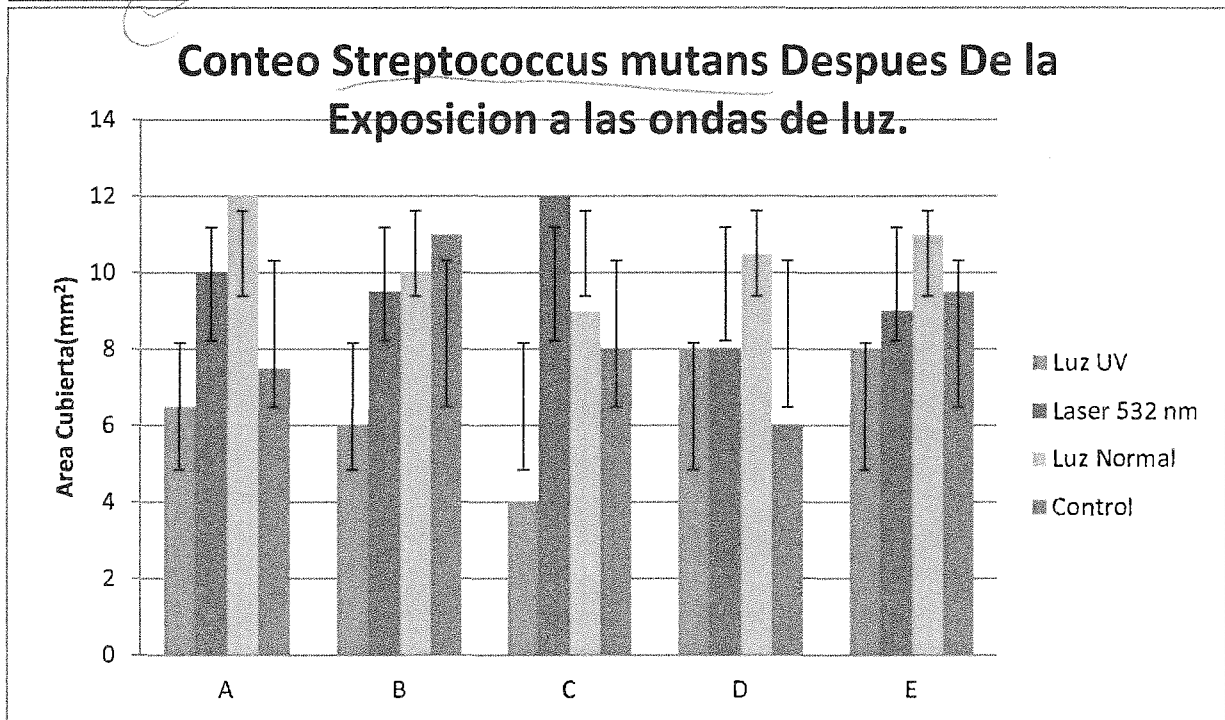
En el medio de control las muestras "A", "C" Y "E", tuvieron un aumento aunque muy leve, en la colonia mientras que la muestra "B" presento una reducción en la población, si bien la muestra "D" mantuvo su área ocupada al igual en las dos prácticas.

**Prueba #2**

**Grafica #3**





**Grafica #3**

*Debe presentarse resultados en un solo gráfico comparativo*

Como podemos ver en las gráficas de la segunda prueba presentadas arriba, podemos observar en el medio de la Luz UV, las muestras "A", "B" y "C" presentan una reducción en la colonia poblacional, mientras que en las muestras "D" y "E" encontramos un empobrecimiento de la colonia.

En el medio Laser encontramos que las muestras "A", "C" y "E" muestran un aumento en el área abarcada mientras que la muestra "B" presenta la misma población que antes de la prueba, donde la muestra "D" tiene una disminución en su población nuevamente fue esta nuestra la que más cerca estaba del haz del láser

En el medio afectado por la luz normal podemos evidenciar que todas las muestras presentaron un crecimiento en su población

En el medio de control las muestras "A" y "C" muestran que no tuvieron ningún cambio luego de la prueba, así como la muestra "D" se observa una depreciación en la colonia luego del experimento, las dos muestras restantes "B" y "E" muestran un claro aumento en su población general.

Promedio:

Prueba #1

$$\text{Promedio} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\sum x = \text{Suma de Todos los Datos}$$

$$n = \text{Cantidad de Datos}$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Error Estándar De Medida

$$SEM = \frac{s}{\sqrt{N}}$$

**Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.**

**Prueba #1**

**Antes De ser expuestos a las ondas de luz.**

*Tabla 1*

Cajas de Petri	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A	9	22	8	15
B	21	14	18	24
C	18	18	12	33
D	13	29	10	27
E	14	26	17	28
Promedio	15	21,8	13	25,4
Estándar D	4.637	6.017	4.359	6.656
SEM	2.074	2.691	1.949	2.977
N	5	5	5	5
Degrees F.	8	8	8	8
P Value	0.7059	0.8318	0.2903	0.8562
Confidence Interval	95%	95%	95%	95%

*dibuen extra proficiado  
(per de los 2 puebles)*

**Después de ser expuestos a las ondas de luz.**

Cajas de	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
----------	----------	----------	----------	----------

**Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.**

Petri	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A	9	25	11	16
B	20	13,5	25	23,5
C	15,5	18	13,5	33,5
D	14	31	12	27
E	11	26	24	31
Promedio	13,9	22,7	17,1	26,2
S	4.249	6.925	6.823	6.861
SEM	1.900	3.097	3.051	3.068
N	5	5	5	5
DF	8	8	8	8
P	0.7059	0.8318	0.2903	0.8562
Confidence Interval	95%	95%	95%	95%

**Prueba #2**

**Después de ser expuestos a las ondas de luz.**

CAJAS SDE PETRI	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A	8	8,5	7	7,5
B	7	9,5	8	7,5
C	7	8	7,5	8
D	7	8,5	7,5	7
E	7,5	8,5	6	8
Promedio	7,3	8,6	7,2	7,6
S	0.447	0.548	0.758	0.418
SEM	0.200	0.245	0.339	0.187
N	5	5	5	5
DF	8	8	8	8
P	0.3281	0.1584	0.0006	0.3886
Confidence Interval	95%	95%	95%	95%

**Después de ser expuestos a las ondas de luz.**

CAJAS DE PETRI	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A	6,5	10	12	7,5
B	6	9,5	10	11
C	4	12	9	8
D	8	8	10,5	6
E	8	9	11	9,5
Promedio	6,5	9,7	10,5	8,4
S	1.658	1.483	1.118	1.917
SEM	0.742	0.663	0.500	0.857
N	5	5	5	5
DF	8	8	8	8
P	0.3281	0.1584	0.0006	0.3886
Confidence Interval	95%	95%	95%	95%

$$\text{Prueba \#1} \rightarrow \frac{13.9\text{mm}^2 \times 100\%}{15\text{mm}^2}$$

$$92.7\% = X$$

En la prueba #1 el medio UV la colonia disminuyo en 7,3%

Prueba #1	UV	Laser	Normal	Control
Cambio (%)	-7,33	4,13	31,5	3,15

Prueba #2	UV	Laser	Normal	Control
Cambio (%)	-11,0	12,8	45,8	10,5

Promedio de Cambio UV

$$\frac{-11\% + -7,33}{2} = -9.17\%$$

**Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.**

Promedio cambio Laser

$$\frac{12.8\% + 4.13\%}{2} = 8.47\%$$

Promedio Cambio Luz Normal

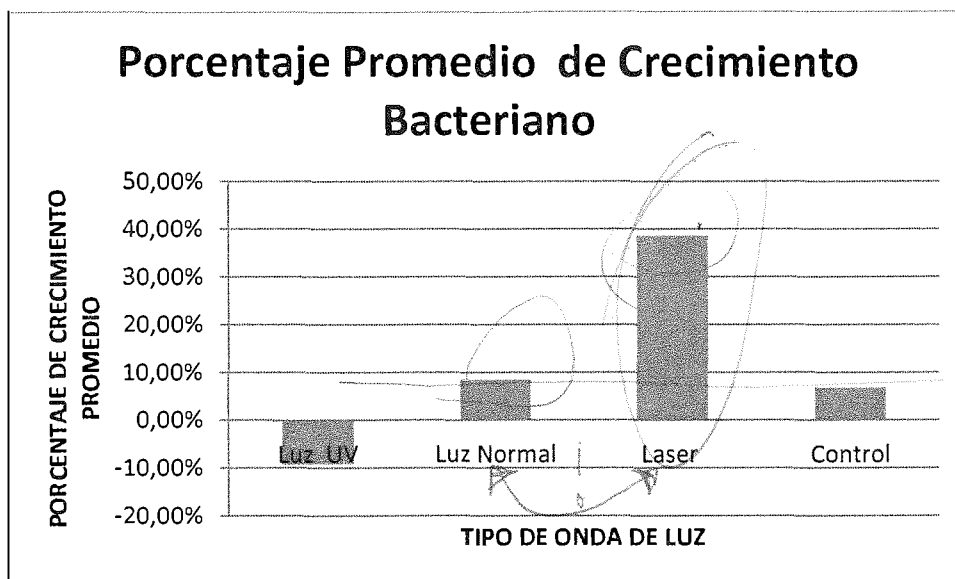
$$\frac{45.8\% + 31.5\%}{2} = 38.7\%$$

Promedio Cambio Controlada

$$\frac{10.5\% + 3.15\%}{2} = 6.83\%$$

Grafica #3

**Representación Grafica Porcentaje de Crecimiento Bacteriano en los diferentes medios de cultivo.**



*E variable cual?  
(P)  
Diferencia  
significativa?*

***Factores Que Afectan el Crecimiento de bacterias orales en cultivo de placas de agar.***

Como se puede observar en la gráfica #3 existe una reducción en la población bacteriana del medio UV y en comparación de los otros medios este fue el único que la redujo mientras que en los otros medios, solo 1 logro retrasar el crecimiento normal de la bacteria, mientras que el otro impulso este crecimiento.

## Conclusión

Pudimos ver en este trabajo los efectos de la luz Ultravioleta en el crecimiento de una cepa de **Streptococcus mutans**, en ambas pruebas la variación entre las 5 muestras de cada grupo demostraron que la hipótesis planteada anteriormente fue correcta, puesto que encontramos una disminución promedio de al menos **9,17%**, siendo significativa en la población de la colonia bacteriana, que fue tratada en el medio de Luz UV, que fue el medio más efectivo al momento de inhibir el proceso reproductivo de la bacteria **Streptococcus mutans**, mientras que los otros dos tipos de ondas no lograron reducir el tamaño de la colonia, aunque el Laser 532nm en comparación, con la Luz Normal, logró reducir la capacidad reproductiva de la bacteria logrando un cambio de tan solo 8,47% en comparación con el 38,7% del aumento de la luz natural, esto se debe probablemente a que la Luz Normal no tenía ningún tipo de radiación que afectara el cultivo y además les proporcionaba calor aunque no demasiado, mientras que el Laser y la Luz UV, emitían radiación electromagnética, de diferentes longitudes de onda, la más efectiva en este caso fue la Luz Ultravioleta pues fue capaz de reducir la colonia, el método por el cual se realizó la práctica fue preciso aunque hay aspectos en los que con los materiales correctos se podría realizar una práctica con mayor precisión, como parte de las recomendaciones para esto se propone que el experimentador introduzca herramientas como una luz blanca led en lugar de la luz de bombillo puesto que esta última produce calor que puede afectar los datos, también se podría usar láseres de diferentes espectros de onda para realizar comparaciones, también con el fin de que las muestras no perdieran temperatura, se podría incluir recipientes cerrados herméticamente que puedan producir y mantener una temperatura estable, también sería preferible usar un laboratorio especializado para obtener datos más fiables con una contaminación de las placas mucho menor, al ser la hipótesis correcta, se logra entender un problema regular en el campo Odontológico, con el fin de tratar de manera más pasiva la bacteria responsable de la caries, aunque si bien, sería un tratamiento extremadamente lento en comparación al tratamiento profiláctico regular, esta sería una manera menos invasiva y dolorosa de combatir esta afección mundial y local, puesto que a nivel local, las Caries son un obstáculo en el bienestar oral de la población menor de edad en Colombia, y al ser menores de edad los tratamientos regulares pueden llegar a ser dolorosos, cuando existen medios para evitar este tipo de tratamiento profiláctico.

No encuanar en  
gracia pg 27

my  
gracia

no se  
confunde  
la especie



## Bibliografía

*Sameth*

- ❖ Diseño y valoración de un método de cultivo selectivo SULBAC para Streptococcus mutans, Tesis Pontificia Universidad Javeriana, Diana Milena Pedraza y Yohany Andrés Velandia, Bogota D.C./2006.
- ❖ Dental microbiology / McGhee, Jerry R. ;Michalek, Suzanne M. ;Cassell, Gail H. /Harper & Row, /c1982. /Philadelphia :
- ❖ Microbiología médica Patrick R. Murray PhD Chief, Ken S. Rosenthal, ph, Michael A. P faller/2009.
- ❖ Microbiología clínica y enfermedades infecciosas texto y atlas en color, Spicer, W. John

## Bibliografía Virtual

- 1) Loesche, W.J ;( 1986); Role of **Streptococcus mutans** in Human Dental Decay; *Microbiological Reviews*;  
*Recuperado de*  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373078/?page=1>; 24/04/2014.
- 2) Noticias. (n.d.). Alianza por un Futuro Libre de Caries: Capítulo Colombia. Retrieved April 26, 2014, from <http://www.colgateprofesional.com.co/noticias/Alianza->

#tabla.

**APENDICE**

**Datos Brutos**

**Primera Prueba**

**Antes de ser expuestas a la las ondas de luz.**

Cajas de Petri	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A(mm <sup>2</sup> )	9	22	8	15
B(mm <sup>2</sup> )	21	14	18	24
C(mm <sup>2</sup> )	18	18	12	33
D(mm <sup>2</sup> )	13	29	10	27
E(mm <sup>2</sup> )	14	26	17	28

Cajas de Petri	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A(mm <sup>2</sup> )	9	25	11	16
B(mm <sup>2</sup> )	20	13,5	25	23,5
C(mm <sup>2</sup> )	15,5	18	13,5	33,5
D(mm <sup>2</sup> )	14	31	12	27
E(mm <sup>2</sup> )	11	26	24	31

**Después de ser expuestas a las ondas de luz.**

por-un-Futuro-Libre-de-Caries--Capitulo-Colombia/detalles

- 3) Hernández Martínez, M. (2011). AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA EN NIÑOS DE LA ESCUELA PRIMARIA "IGNACIO RAMÍREZ". 113-113. Retrieved October 13, 2014, from AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA EN NIÑOS DE LA ESCUELA PRIMARIA "IGNACIO RAMÍREZ"
- 4) Desinfección Por Láser. (n.d.). Retrieved November 28, 2014, from <http://www.depuracionporlaser.com/>
- 5) Rojas Monsalvo, K. (2009, January 1). Retrieved November 28, 2014, from [http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital\\_17516.pdf](http://repository.upb.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/432/1/digital_17516.pdf)
- 6) ESPECTROMETRIA .COM. (n.d.). Retrieved November 28, 2014, from [http://www.espectrometria.com/espectro\\_electromagnetic\\_o](http://www.espectrometria.com/espectro_electromagnetic_o)
- 7) Longitud de onda Diccionario de fotografía y diseño, letra L. (n.d.). Retrieved November 28, 2014, from <http://www.fotonostra.com/glosario/longitudonda.htm>

*falta fotos*

# Tabla

**Segunda Prueba**

**Antes de ser expuestas a la las ondas de luz.**

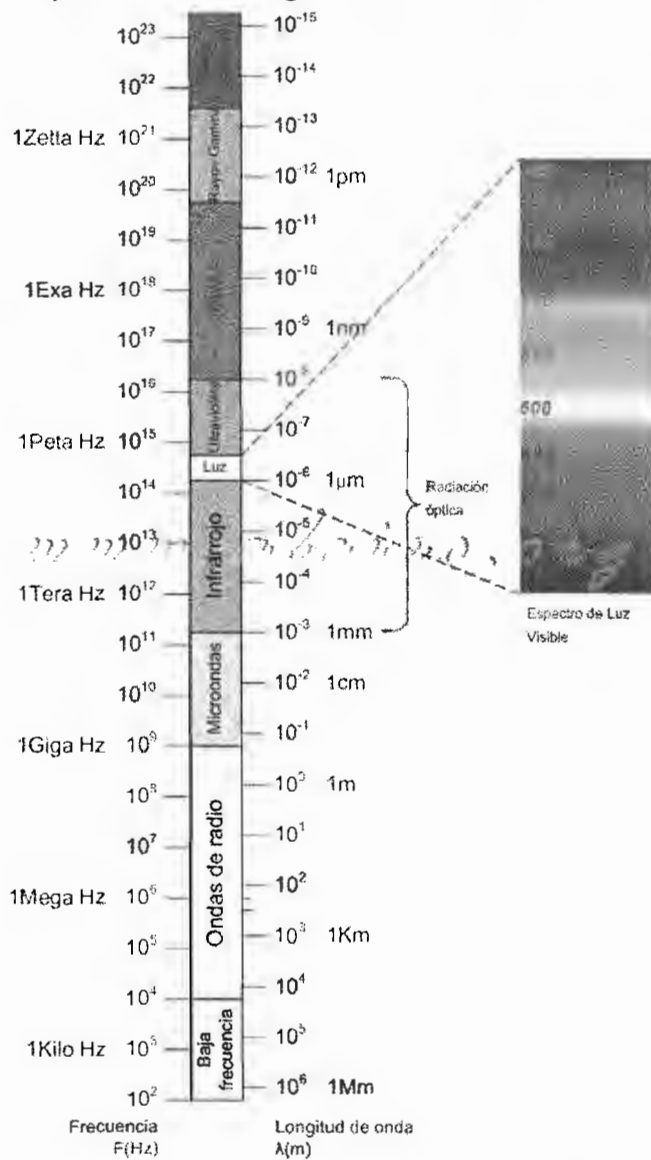
Cajas de Petri	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A(mm <sup>2</sup> )	8	8,5	7	7,5
B(mm <sup>2</sup> )	7	9,5	8	7,5
C(mm <sup>2</sup> )	7	8	7,5	8
D(mm <sup>2</sup> )	7	8,5	7,5	7
E(mm <sup>2</sup> )	7,5	8,5	6	8

Cajas de Petri	Grupo #1	Grupo #2	Grupo #3	Grupo #4
	Luz UV	Laser 532 nm	Luz Normal	Control
A(mm <sup>2</sup> )	6,5	10	12	7,5
B(mm <sup>2</sup> )	6	9,5	10	11
C(mm <sup>2</sup> )	4	12	9	8
D(mm <sup>2</sup> )	8	8	10,5	6
E(mm <sup>2</sup> )	8	9	11	9,5

**Después de ser expuestas a las ondas de luz.**

**ANEXOS**

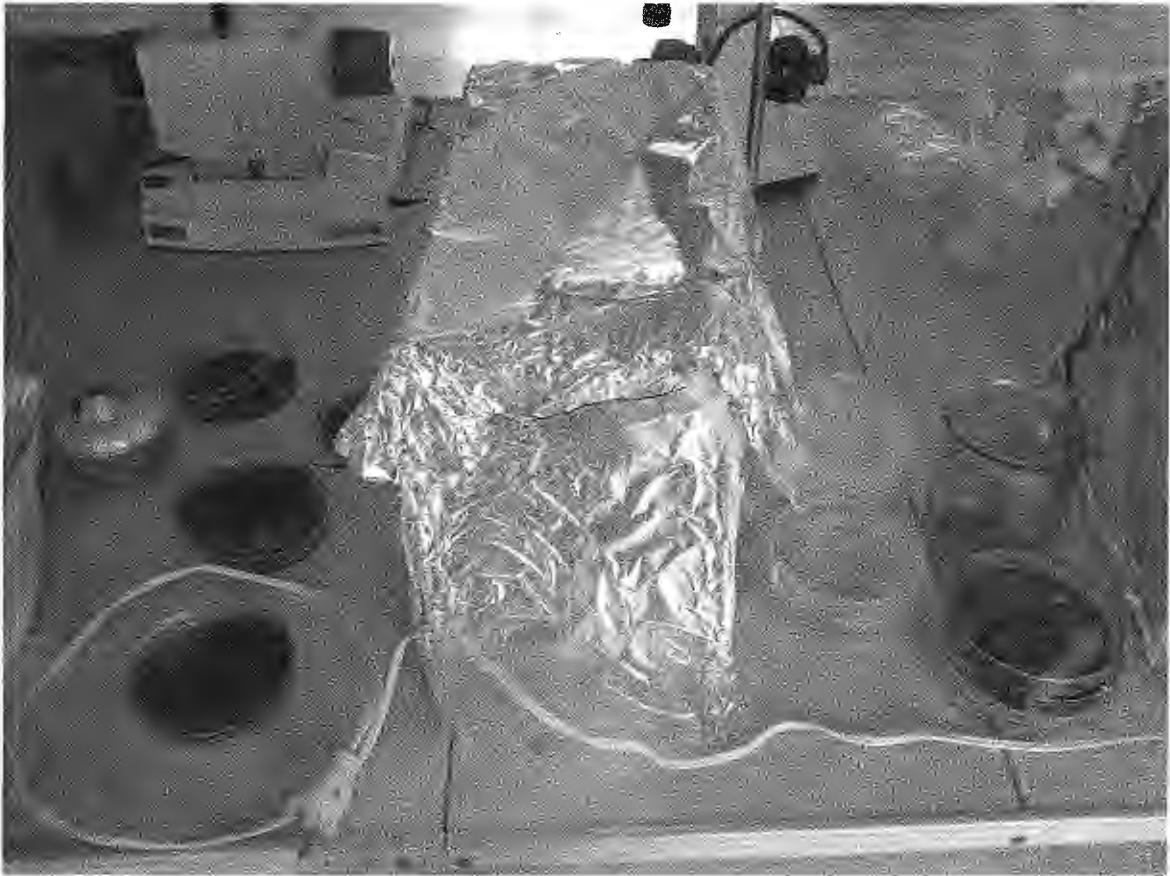
### Espectro de Longitudes de Onda



**Ilustración A-Espectro de Longitudes de Onda**



**Ilustración B-Medio de Cultivo con Luz Normal, se observa la pecera recubierta de papel aluminio junto con el bombillo de luz Blanca.**



**Ilustración C-Medio de Cultivo con Luz Ultra Violeta, se observa la pecera recubierta en papel aluminio completamente.**





**Ilustración D-Medio de experimentación con Laser de Onda Verde.**



**Ilustración E-Medio de Cultivo.**

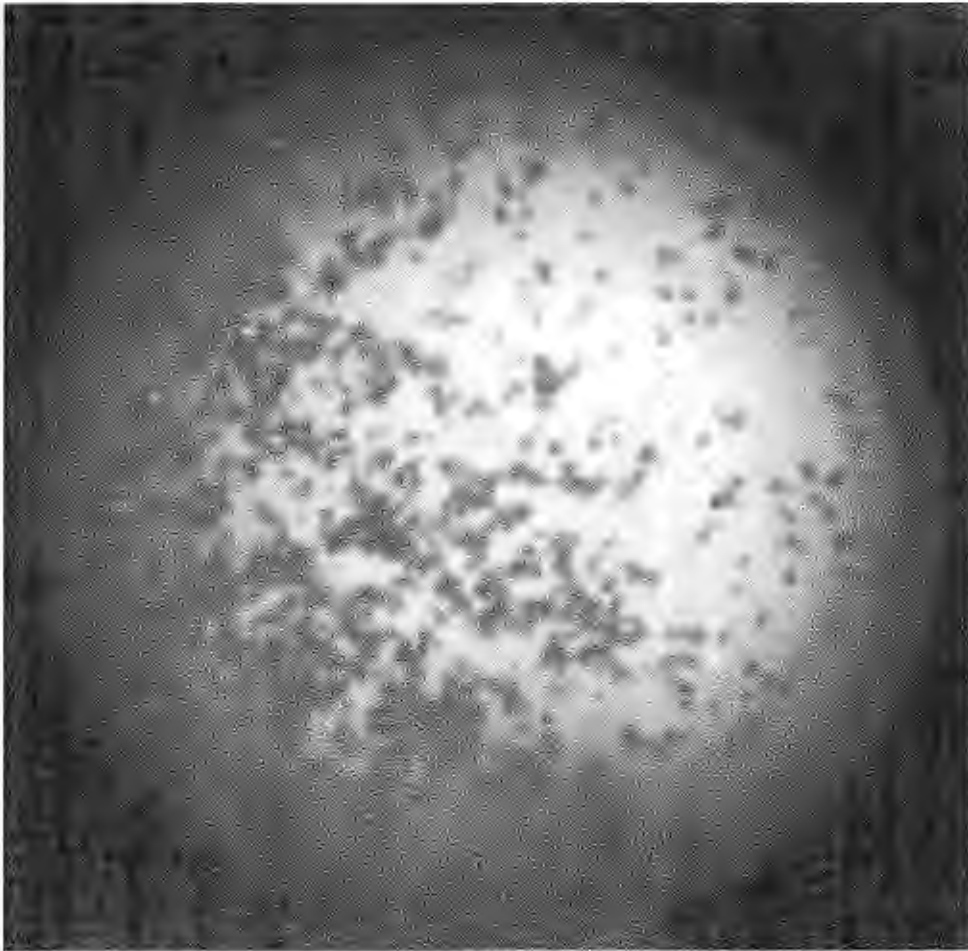
*Solución de  
fructo no ayuda.*



**Ilustración F-Medio de Cultivo.**



**Ilustración G-Medio de Cultivo.**

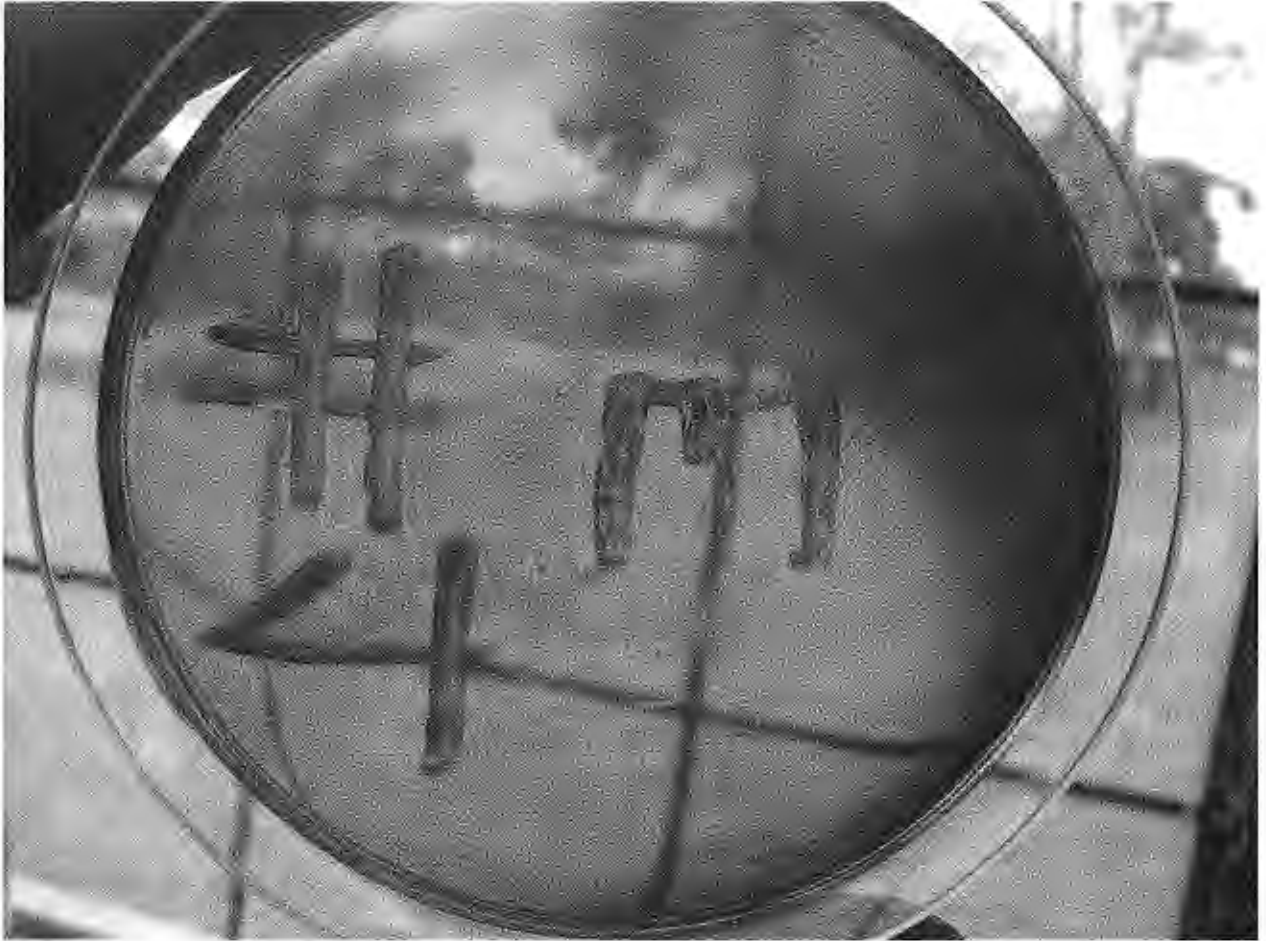


**Ilustración H-Verificación de la bacteria presente en el cultivo.**

*Amorita ?*



**Ilustración I-Medio de Cultivo.**



**Ilustración J-Medio de Cultivo.**



**Ilustración K-Medio de Cultivo.**