



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE HOJA DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* SOBRE
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO 2019”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR
EL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN
ESTOMATOLOGÍA**

AUTOR

BONIFACIO URIOL, ROSITA MORELIA
ORCID: 0000-0003-1890-107X

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA
ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2019

1. Título de la tesis

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE
HOJA DE *MINHOSTACHYS MOLLIS* SOBRE *STREPTOCOCCUS*
MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO 2019”**

2. Equipo de trabajo

AUTOR

Bonifacio Uriol, Rosita Morelia

ORCID: 0000-0003-1890-107X

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la
Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

Pairazamán García, Juan Luis

ORCID: 0000-0001-8922-8009

Morón Cabrera, Edwar Richard

ORCID: 0000-0002-4666-8810

Velásquez Veneros, Cynthia Karina

ORCID : 0000-0001-5756-7137

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgr. Pairazamán García, Juan Luis
Presidente

Mgr. Morón Cabrera, Edwar Richard
Miembro

Mgr. Velásquez Veneros, Cynthia Karina
Miembro

Mgr. Honores Solano, Tammy Margarita
Asesor

4. Agradecimiento

A Dios, porque me ha dado una familia unida que siempre estamos en las buenas y en las malas superando cualquier obstáculo que se nos atraviesa en el camino.

A mis padres por darme la confianza, seguridad de que yo puedo lograr todo lo que me propongo con esfuerzo y humildad.

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico a mis padres y hermana que gracias a su apoyo estoy logrando mis metas, que me han enseñado día a día principios y valores.

5. Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de cuatro concentraciones de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se recolectó e identificó la planta de *Minthostachys mollis*, de la cual se elaboró el aceite esencial de las hojas en concentraciones de 5%, 10%, 25% y 50%. Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron incubadas en caldo BHI y en Agar TSA. Los grupos de estudio fueron seis; se realizaron 10 repeticiones por cada grupo de estudio. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. Los valores promedios de los halos de inhibición fueron de 9.6 mm al 5%, de 14.3 mm al 10%, de 17.9 mm al 25% y de 22.9 mm al 50%. Se concluyó que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que las concentraciones al 5%, 10% y 25%.

Palabras Clave: Aceites volátiles, agentes antibacterianos, Extractos vegetales *Streptococcus mutans*.

Abstract

The present study aimed to compare the *in vitro* antibacterial effect of four concentrations of essential oil of the leaf of *Minthostachys mollis* on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The plant of *Minthostachys mollis* was collected and identified, from which the essential oil of the leaves in concentrations of 5%, 10%, 25% and 50%. *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains were incubated in BHI broth and in agar TSA. The study groups were 6, 10 repetitions were performed for each study group. The antibacterial effect was evaluated by the method of Kirby Bauer. The average values of the inhibition halos were 9.6 mm at 5%, 14.3 mm at 10%, 17.9 mm at 25% and 22.9mm at 50%. It was concluded that 50% *Minthostachys mollis* leaf essential oil had a greater *in vitro* antibacterial effect on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 than the other three concentrations.

Key words: Oils volatile, antibacterial agents, Plant extracts, *Streptococcus mutans*.

6. Contenido

1. Título de la tesis	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o Dedicatoria	v
5. Resumen y abstract	vii
6. Contenido	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	3
III. Hipótesis.....	19
IV. Metodología.....	19
4.1. Diseño de la investigación.....	19
4.2. Población y muestra.....	19
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores	21
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	22
4.5. Plan de análisis.....	25
4.6. Matriz de consistencia.....	26
4.7. Principios éticos.....	27
V. Resultados.....	28
5.1 Resultados.....	28
5.2. Análisis de Resultados.....	31
VI. Conclusiones.....	34
Aspectos complementarios.....	35
Referencias Bibliográficas.....	36
Anexos.....	43

7. Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5%, 10%, 25%, 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....28

Tabla 2: Prueba de Duncan del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5%, 10%, 25%, 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....30

Índice de gráficos

Gráfico 1: Comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de hoja <i>Minthostachys mollis</i> en concentraciones de 5%, 10%, 25%, 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	29
--	----

I. Introducción

La caries es una de las enfermedades más frecuentes en la cavidad bucal, está considerada como un problema a nivel mundial en la salud pública. Esta enfermedad dental aparece debido a la alteración de la microbiota de la placa dental, producida por condiciones ambientales locales o factores como la dieta, bacterias, composición de la saliva y otros factores más.¹

Generalmente del grupo de bacterias encontradas en la cavidad bucal, son los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus mutans* los que prevalecen, y tienen una particular descripción pues tienen forma de coco, creciendo en cadenas o parejas, están altamente ligados a la caries dental es decir que a su paso destruye los tejidos del diente ya sean esmalte, dentina y cemento.²

Para prevenir la caries u otras enfermedades de la boca existen varias alternativas como los colutorios, aceites, pastas a base de los productos naturales.³

Minthostachys mollis conocida como la muña, es una planta oriunda de la sierra peruana, la cual llega alcanzar una altura de 0.80 m., a 1.20 m., y que además se caracteriza por crecer entre los 2,500 a 3,500 m.s.n.m.; posee diversas propiedades antibacterianas, antisépticas, astringentes y antiinflamatorias, que ayudan a las diversas afecciones bucales. También es usada para el tratamiento de dolencias de vías respiratorias y digestivas, lo cual permite aliviar dolores o enfermedades.⁴

La importancia de la presente investigación es identificar las propiedades del aceite esencial de *Minthostachys mollis* ya que como producto natural sus propiedades contrarrestan las

enfermedades la cavidad oral, lo que permitiría usarla como método alternativo en la odontología.

El presente estudio tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de cuatro concentraciones de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se recolectó e identificó la planta de *Minthostachys mollis*, de la cual se elaboró el aceite esencial de las hojas en concentraciones de 5%, 10%, 25% y 50%. Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron incubadas en caldo BHI y en Agar TSA. Los grupos de estudio fueron seis; se realizaron 10 repeticiones por cada grupo de estudio. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. Los valores promedios de los halos de inhibición fueron de 9.6 mm al 5%, de 14.3 mm al 10%, de 17.9 mm al 25% y de 22.9 mm al 50%. Se concluyó que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que las concentraciones al 5%, 10% y 25%.

II. Revisión de la literatura

2.1 Antecedentes

Mejía J. ⁵ (Perú, 2019) “Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” y *Dodonaea viscosa* L. Jacq “Chamana” en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*”. Este estudio comparó el efecto inhibitorio del aceite de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” y *Dodonaea viscosa* L. Jacq “Chamana” en concentraciones de 10, 50 y 100 % sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. La técnica de obtención del aceite esencial fue mediante destilación, la prueba de sensibilidad antibiótica se aplicó con el método de Kirby Bauer y como control positivo se usó amikacina 30 ug y gentamicina 10 ug para las cepas de *P. aeruginosa* y clindamicina 2 ug y eritromicina 15 ug para cepas de *S. aureus*. Los resultados demostraron que *Staphylococcus aureus* fue más sensible al aceite esencial de muña en las tres concentraciones, en cambio contra chamana solo presentó sensibilidad en las concentraciones de 50 y 100% sin embargo *P. aeruginosa* fue sensible al aceite de muña en dos concentraciones al 10 y 50% y al aceite de “chamana” a una concentración de 100%. Se concluyó que el aceite esencial de muña es más efectivo que el de “chamana” contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

Mantilla G, et al.⁶ (Perú, 2018). “Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*”. Este estudio tuvo como objetivo determinar cuál era la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial a base de *Minthostachys mollis*. Se llevó a cabo la técnica de destilación para obtener el aceite esencial de

Minthostachys mollis (muña) y con ayuda de pocillos de microcultivo con *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* se determinó cuál de las concentraciones de 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5 y 2.5 ug/ mL sería la que presente el efecto mínimo inhibitorio. Se concluyó que la concentración mínima inhibitoria del crecimiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis* fue de 40 y 80 ug/mL frente a *S. aureus* y *L. monocytogenes* respectivamente.

Aigaje A⁷ (Ecuador.2017). “Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*”, el objetivo del estudio fue determinar el efecto antibacteriano de *Minthostachys mollis* (muña) en distintas concentraciones sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Se realizó un proceso de destilación por arrastre de vapor de agua para la obtención del aceite esencial, las concentraciones que se obtuvieron fueron al 25%, 50% y 100%, se utilizó Clorhexidina al 0,12%, Ampicilina de 10 ug como control positivo y agua como control negativo en placas de cultivo con *Porphyromonas gingivalis* sp. Los resultados demostraron que a mayor concentración hubo mayor efecto antibacteriano por lo que al 100% hubo un halo de inhibición de 13,6 mm frente a un halo de 11, 2mm obtenido a la concentración de 25%. Se concluyó que tanto la clorhexidina al 0,12 y la ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis*

Quispe D, et al.⁸ (Perú- 2016) “Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (Muña) sobre microorganismos prevalentes en patología periapicales crónicas de origen endodóntico UNA-PUNO 2016” Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto inhibitorio del aceite de *Minthostachys mollis griseb*

(Muña) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio. Se emplearon 40 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, para el método de sensibilidad antibiótica se usó el método de Kirby Bauer con agar Muller Hinton sobre la que se empleó discos embebidos del aceite a una concentración del 100% y diluciones etanólicas al 75, 50, 25 %. Los resultados mostraron una actividad inhibitoria mayor en la concentración del aceite al 100% sobre los microorganismos estudiados. Se concluyó que a medida que era mayor la concentración, era mayor el halo de inhibición.

Wesley C, et al.⁹ (Perú, 2015). “Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto inhibitorio del aceite de *Minthostachys mollis* frente al crecimiento *in vitro* de una cepa ATCC de *Enterococcus faecalis*. Se determinó la susceptibilidad antibiótica mediante el método de Kirby Bauer, se hicieron siete repeticiones con agar Muller- Hinton con cepas de *Enterococcus faecalis* y se colocaron discos con aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% a la vez se comparó el efecto con siete placas con *Enterococcus faecalis* con discos de icamicina al 2 %, siete placas con *Enterococcus faecalis* con discos de aceite de muña al 50% diluido con etanol. Después de 24 horas bajo incubación en una temperatura de 37 °C dieron a conocer que los halos de inhibición del aceite de *Minthostachys mollis* al 100% tenían un mayor diámetro que el de icamicina al 2 %. Se concluyó que el aceite de muña posee un mayor efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Enterococcus faecalis* que el icamicina al 2%.

Guerrero G.¹⁰ (Perú, 2014). “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*”. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antibacteriano en condiciones in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans*. Se realizó la recolección de la especie en Tarma, fueron recolectados cerca de 8 kilos de hojas de muña, posteriormente se procesaron para la obtención del aceite esencial. Se trabajó la cepa patrón de *Streptococcus mutans*, reactivándola y sembrándola en medio Agar Soya Tripticasa (TSA), posteriormente se llevó a cabo la evaluación de susceptibilidad. Se realizaron diluciones del aceite esencial que posteriormente fueron embebidos con 10 µl de aceite esencial al 100 %, los demás discos fueron embebidos con aceite esencial al 50 % y 25 %, adicionalmente se empleó como control negativo dimetilsulfòxido, y como control positivo discos con amoxicilina. Se colocaron en medio Müeller Hinton para posteriormente incubarse en condiciones de anaerobiosis mediante el método de la vela a 37 °C por 48 horas. La medición de los halos se realizó utilizando un vernier. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% obtuvo promedio de 10.79 mm, al 50 % un promedio con valor de 7.6 mm, al 25 % un promedio de 6 mm (tamaño igual al del disco de antibiograma empleado) igual que el control negativo dimetilsulfòxido, el control positivo (amoxicilina) con un promedio de 49.3 mm. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano.

Farinango D.¹¹ (Ecuador, 2014). “Aceite esencial de *Minthostachys mollis* “tipo” como agente inhibitorio en comparación al gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas

de *Streptococcus mutans* – in vitro”. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto inhibitorio del crecimiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™. Se emplearon concentraciones al 100%, 50% y 25% del aceite esencial, como control positivo gluconato de clorhexidina al 0,12% y como control negativo agua destilada estéril. Se midieron los halos de inhibición que se produjeron alrededor de discos determinando que las concentraciones al 100% y 50% de aceite esencial de *Minthostachys mollis*, mostraron efecto inhibitorio in vitro frente a *Streptococcus mutans*, con un tamaño en los halos de 17 y 15 mm correspondientemente, la concentración al 25% no inhibió el desarrollo bacteriano. Clorhexidina al 0.12% como antibiótico control mostró mayor efecto inhibitorio in vitro que las concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* en los grupos de estudio evaluados con un tamaño en el halo de 20 mm.

Ccallo S.¹² (Perú, 2013). “Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 Puno 2013”. Esta investigación tuvo como objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña) frente *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Se realizó la recolección de la especie mencionada en la localidad de Marangani, en Cusco; posteriormente se obtuvo el aceite esencial, por el método de destilación de arrastre a vapor de agua a partir de las hojas desecadas en el laboratorio y por último se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), para lo que se utilizó el método de macrodilución en caldo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña). Se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa

del efecto de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* y del efecto de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones frente a la actividad bacteriana de *Porphyromonas gingivalis*. Se obtuvo como resultados que la concentración mínima inhibitoria para *Streptococcus mutans* es 0.448g/ml de aceite esencial, y para *Porphyromonas gingivalis* es mayor a 0.448g/ml. Concluyendo que el aceite esencial de muña inhibe a *Streptococcus mutans* y a *Porphyromonas gingivalis*.

Malpartida F.¹³ (Perú, 2010). “Efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* estudio in vitro Lima 2009”. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Para tal efecto se reactivaron los *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y luego fueron sembrados en placas petri que contenían el medio Müller Hinton con pozos de 6 mm. de diámetro donde se vertieron aproximadamente 20 ul. de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), paramonoclorofenol alcanforado, gluconato de clorhexidina al 2% y agua destilada. Las placas se incubaron a 37°C, después de lo cual se realizó la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla pie de rey a las 24 y 72 horas. Se encontró que el gluconato de clorhexidina al 2% posee significativamente mayor efecto inhibitor que el aceite esencial de

Minthostachys mollis (muña) y el paramonoclorofenol alcanforado .Además el paramonoclorofenol alcanforado posee significativamente mayor efecto inhibidor que el aceite esencial de la *Minthostachys mollis* (muña). Concluyendo que el efecto inhibidor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) es menor que paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% en el cultivo bacteriano de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 72 horas.

2.2. Marco teórico

2.2.1 Caries dental

La caries dental es una enfermedad producida por distintos factores, causada por la interacción entre la superficie del diente, el biofilm bacteriano (placa dental) y la presencia de azúcares en la dieta. Las bacterias del biofilm metabolizan los azúcares produciendo ácidos, los cuales, con el tiempo, van a desmineralizar el esmalte.¹

Clínicamente se caracteriza por un cambio de color, como una mancha blanca, como resultado de la desmineralización del esmalte que precede a la cavitación real, pérdida de translucidez y descalcificación de los tejidos afectados. A medida que avanza el proceso, se destruyen los tejidos y se forman cavidades.¹

La caries dental no afecta a todos los dientes y superficies dentarias por igual. Se desarrolla preferentemente en las zonas donde hay mayores acúmulos de placa y en donde los mecanismos de auto limpieza y de control de placa son menos efectivos.¹⁴

2.2.1.1 Factores involucrados en el proceso de la caries dental

Existen tres factores principales: el huésped (higiene bucal, la saliva y los dientes), la microflora (infecciones bacterianas) y el sustrato (dieta criogénica). Además de estos factores, deberá tenerse en cuenta uno más, el tiempo. Para que se forme una caries es necesario que las condiciones de cada factor sean

favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un periodo determinado tiempo¹⁴.

2.2.1.2 *Streptococcus mutans*

Los *Streptococcus mutans* generalmente se asocian al desarrollo inicial de las caries, los *Lactobacillus* promueven el desarrollo de las lesiones cariosas y los *Actinomyces* están asociados a la caries de raíz.¹⁵

El *Streptococcus mutans* es capaz de incrementar en tamaño y producción de ácido hasta un pH bajo cercano a 5.0. El pH en este nivel se presenta en la placa dental luego de la fermentación de los azúcares a ácidos orgánicos o por el consumo de frutas y vegetales ácidos. Estos niveles de pH ayudan a la colonización del *Streptococcus mutans* sobre la superficie radicular. Su habilidad de crecimiento y producción de ácido en un pH menor es de suma importancia en el papel de la bacteria en el desarrollo de las lesiones cariosas.¹⁶

2.2.1.2.1 Historia

En 1994 los *Streptococcus mutans* fueron aislados por el científico Clarke, hasta ahora, muchos estudios han relacionado a esta bacteria con la producción de una lesión cariosa, por ende, actualmente esta bacteria es considerada como el principal autor causal de la caries en el ser humano. A partir de las lesiones presentadas en la cavidad bucal se comienza a analizar esta bacteria denominándola *Streptococcus* esto debido a las formas mutantes en que se

presenta: cocobacilo (forma ovalada) en un medio ácido y coco (forma redonda) en un medio alcalino. En cultivos de agar sangre, las colonias de este microorganismo se diferencian fácilmente: altas, convexas, pulvinadas (en forma de cojín) y mucoides.¹⁷

2.2.2.2 Características

Los *Streptococcus* son cocos grampositivos que se presentan en cadenas de 4 a 10 cocos, que miden de 0.5 a 0.8 um de diámetro. Son anaerobios facultativos, es decir, que puede utilizar el oxígeno para su crecimiento; pero si este no está presente también puede sobrevivir. Sin embargo, su crecimiento óptimo ocurre en anaerobiosis.¹⁸

En su estructura no se diferencian del modelo general de los *Streptococcus*, excepto la falta de cápsula, complejos fibrilares, polisacárido C y las fibrillas que cuando están presentes son muy notorias. De lo contrario, en la pared sobresalen proteínas dotadas de diversas funciones, y polisacáridos, distintos del C, los que exponen diferentes especificidades antigénicas, lo que permite distinguir los serotipos a,b,c,d,e,f,g,h.¹⁸

2.2.2.3. Patogenia

El *Streptococcus mutans* son bacterias oportunistas en afecciones como las lesiones cariosas dentales y las endocarditis infecciosas, entre otras. El hábitat de preferencia son los dientes del hombre. Es favorecida por el elevado nivel de sacarosa que se encuentra en la placa bacteriana. La propiedad más

importante de la virulencia de este microorganismo es su propiedad de generar biopelícula conocida como placa bacteriana sobre la superficie dentaria.¹⁹

En medios de cultivo con sacarosa este microorganismo está en capacidad de producir polisacáridos extracelulares y adquirir una apariencia opaca, rugosa y blanca, no adherente al medio de cultivo y ocasionalmente rodeada por polímeros de glucano de aspecto húmedo. Estos *Streptococcus* no hidrolizan el almidón y fermentan la inulina, la rafinosa, el manitol y el sorbitol. El *Streptococcus mutans* realiza la elaboración de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa, en especial los glucanos insolubles que tienen gran importancia en la colonización y mantenimiento de este microorganismo sobre los dientes; cuenta con elementos que determinan fenómenos de adherencia, agregación y congregación; la elaboración y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que facilita la obtención de energía y producción de ácido por largos espacios de tiempo; metabolización rápida de los azúcares a ácido lácticos y otros ácidos orgánicos, poder acidogénico, acidofílico y acidurico, además puede preveer pH crítico para desmineralizar el esmalte de forma rápida en comparación a otra bacteria de la placa.²⁰

2.2.2.4 Control del *Streptococcus mutans*

Existen investigaciones que establecen que el control de la infección de caries; y por consecuencia el control de esto puede darse a través de la interrupción del contagio de esta bacteria, su erradicación o disminución y la protección de las

personas susceptibles, con esta implementación del control de la dieta y la utilización de sustancias antimicrobianas. Se ha probado el uso de antibióticos que muestran enormes desventajas como este tipo de recurso, como la predecible producción de cepas resistentes, de alteraciones ecológicas en los conjuntos bacterianos que resultan dañando al huésped (candidiasis), alergias, reacciones laterales etc. Aun así, es investigado el uso de elementos con propiedades antibacterianas determinadas para la biopelícula, que no disputen con los que comúnmente se usan en la terapéutica general. El resultado antibacteriano es definido como el impedimento o destrucción del desarrollo de las bacterias a través de empleo de distintos químicos.¹⁷ Entre los mas usados, existen en forma de colutorios o geles como el gluconato de clorhexidina, triclosan, sanguinaria, compuesto fenólico, hexitidina, etc Dentro de los cuales, en diversas investigaciones el gluconato de clorethidina evidencia mejores resultados de inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*, pero produciendo efectos tóxicos locales como: la pigmentación del dorso de la lengua, la tinción de los dientes y obturaciones, descamación de la mucosa bucal, gusto amargo y modificación gustativa, sequedad e inflamación ocasional, sensación de quemadura y transitoria de la parótida.²¹

2.2.2. Fitoterapia

La función de las plantas medicinales como terapia de distintas dolencias, se reconocen desde hace tiempos remotos basadas en las creencias populares y tradiciones, que se transmitieron de generación en generación. En la actualidad,

diversas características sanadoras de distintas plantas se han demostrado científicamente por su extracción a principios activos con varias actividades biológicas. Las características antibacterianas que se encuentran en algunas plantas se explican por la presencia de sustancias terpenoides que se encuentran en parte del aceite esencial extraído. Además, hay reporte de actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora de estos aceites esenciales de las distintas plantas.²²

2.2.2.1 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son compuestos vegetales que debido a su consistencia son muy volátiles y de olor intenso. Se incluyen dentro de este grupo solamente aquellas especies de plantas medicinales que las contienen en concentraciones elevadas, entre 0,1 y 10 %. Son llamados aceites esenciales por constituir como odoríferos o aceites de una planta, la palabra esencial deriva del latín “quinta essentia”, lo que significa quinto elemento propuesto por Celso, que pensaba que este era el elemento efectivo en una preparación médica. Son algo volátiles y la gran parte de ellos tienen un olor característico, algunas veces aromáticos. Apenas se solubilizan en agua, pero son fácilmente volátiles con vapor de agua. Brindan efectos estimulantes a la piel y mucosas, son laxantes y expectorantes, puesto que todas estas plantas contienen aceites esenciales que suelen utilizarse en enfermedades de la boca y garganta, aunque también los usan de tónicos estimulantes del apetito y digestivos, también se emplean como sazonadores para comidas.²³

2.2.4 *Mithonstachys mollis*

2.2.4.1 Nombre científico

Se le llama científicamente como *Minthostachys mollis*, pertenece a la familia Lamiaceae, en el cual hay otras 7.900 especies, la gran mayoría de ellas tienen el fin de mejorar la salud, gracias a sus propiedades antisépticas y cicatrizantes tópicas contra las heridas y otras dolencias.²³

2.2.4.2 Geografía

Es una planta que se encuentra en nuestra serranía, se desarrolla en suelos arenosos, que alcanza de 0,80 m y 1,50 m, es frondosa en la parte superior, erecta y pubescente.²⁴

2.2.4.3 Descripción

Entre las características de esta planta tenemos, que su altura equivale desde 0.80 hasta 1.20 m., frondosa en la parte superior, arbustiva y leñosa de talo ramificado desde su base, sus hojas son pequeñas y aserradas. Sus flores son blancas y se encuentran reunidas en cortos racimos, esta planta tiene la capacidad de desarrollarse en suelos arenosos, cercanos a sequías, manantiales, sin necesidad de mucha agua. Además de florecer en era de lluvia, se reproduce por semilla.²⁴

2.2.4.4 Usos y aplicaciones

Muchas personas optan por la medicina natural, por las beneficiosas que pueden llegar a ser las plantas, así como para la creación de productos de mercado como fármacos en base a la muña. Analizando sus propiedades

encontramos que son digestivas pues alivian los cólicos o flatulencias, vómitos, diarreas y problemas de resfrió, antiséptica, como analgésico, antiinflamatorio, así como utilizada en tratamientos como tumores haciéndose una mezcla con Chilca el cual se emplea en fracturas.²⁵

Otras de las aplicaciones son en el campo agrícola, en el cual su uso se basa en el cuidado de otros productos como a la papa del ataque de insectos.²⁶

2.2.4.5 Composición química

El aceite esencial de la muña comprende una composición aldehídica, cetónica y alcohólica (mentol y mentona, éteres y terpenos en mayor porcentaje). Entre las moléculas presentes en *Mintonstachys mollis* tenemos primeramente a la pulegona conocido como poleo, el cual es altamente tóxico en grandes cantidades, pues puede causar daño al hígado.²⁷

En segundo lugar está el carvacol, el cual es un componente dominante en menor proporción seguidamente la carvona , la cual es considerada como producto de semillas de alcaravea además de tener propiedades gastrodigestivas y por último el timolcon una amplio reconocimiento en los aceites esenciales de distintas especies de tomillo.²⁷

2.2.4.6 Moléculas presentes en el aceite de *Mitonstachys mollis*

Pulegona : Es un compuesto natural que aparece en muchos aceites esenciales, son altamente tóxicos a grandes proporciones debido a ésto presentan efectos contra las plagas y parásitos, mientras que en la persona puede provocar alteración en el hígado y aborto espontáneo, además esta sustancia es usada en

perfumería y como saborizante.²²

Mentona: Junto a la pulegona representa un 75% del aceite, tiene un aroma a menta y no sólo se usa en perfumería sino también empleado en problemas digestivos.²²

Carvacrol : Se encuentra en diversas hierbas, pero en mayor porcentaje en el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) del 60-70%. El carvacrol es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas, además se emplea como complemento para sazonar (condimento).²²

Carvona: Es una sustancia conocida de la semilla de alcaravea (*Carum carvi*), presenta propiedades digestivas, además sirve como complemento para sazonar.²²

Timol: Se encuentra en porcentaje menor en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* pero en mayor porcentaje en el aceite esencial del *Thymus serpyllum* (tomillo) más del 50% y su mecanismo de acción es similar al carvacrol, Utilizándose como antiséptico, también empleado contra el dolor de garganta y tos.²²

III. Hipótesis

El aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 50 % presenta mayor efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans ATCC25175* que las concentraciones de 5%,10%,y 25%.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

Experimental: El investigador asigna el factor de estudio y lo controla de forma deliberada para los fines de su investigación y según un plan preestablecido.²⁸

Prospectivo: El inicio del estudio es anterior a los hechos estudiados.²⁸

Análítico: Se centran en evaluar una relación causal entre un factor de riesgo y un efecto.²⁸

Transversal: La información fue tomada en un momento dado del tiempo.²⁸

4.2 Población y muestra

Población

Placas Petri conteniendo cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Criterios de selección

Criterios de inclusión

Placa Petri inoculada con *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Criterios de exclusión

Placas Petri con signos de contaminación

Muestra:

Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra para el presente estudio fue:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2s^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; coeficiente de la distribución normal para un $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$; coeficiente de la distribución normal para un $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ el cual es un valor asumido por no estar bien

Definidos los valores paramétricos en estudios similares²⁹.

Luego reemplazando obtenemos:

$$n = 10 \text{ placas}$$

Es decir, se necesitaron 10 placas seleccionadas para cada grupo de tratamiento.

En total fueron 6 grupos : 10 para cada concentración de 5%, 10%, 25% y 50%,

10 placas para el control positivo y 10 placas para el control negativo.

4.3 Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIONES CONCEPTUALES	DEFINICIONES OPERACIONALES	INDICADOR	VALOR FINAL	TIPO	ESCALA DE MEDICION
VARIABLE INDEPENDIENTE Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Es un líquido aromático de aspecto fluido o espeso y de color variable según las plantas de las que esté extraído. ²³	Es una sustancia oleosa en concentraciones al 5%, 10%, 25% y 50%	Concentración	5% 10% 25% 50%	Cualitativa	Ordinal
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Efecto en el cual tras la aplicación del aceite esencial de muña va a repercutir en el desarrollo del <i>Streptococcus mutans</i> ¹⁶	Acción antibacteriana que se determinará mediante halos de inhibición y teniendo en cuenta la escala de Duraffourd. ³⁰ <ul style="list-style-type: none"> • Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm. • Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm. • Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm. • Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm. 	Halos de inhibición	Milímetros	Cuantitativa	De razón

4.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

4.4.1 Técnica: Observación microbiológica.

4.4.2 Instrumento: Para medir los halos de inhibición se utilizó un Vernier digital calibrado ISO (Anexo 1)

4.4.3 Procedimiento

Obtención del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

Recolección e identificación taxonómica

Se recolectaron 10 kg de hojas de *Minthostachys mollis* en el distrito de Otuzco, ya que esta planta crece en la serranía y el clima favorece su crecimiento.

Un ejemplar de la planta se llevó al Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y determinación taxonómica. (Anexo 2)

Preparación del aceite esencial

La obtención del aceite esencial, se realizó por el método de “hidrodestilación”.³¹

Se seleccionaron las hojas que estuvieron en buenas condiciones y se desecharon aquellas que presentaron ataques de hongos, decoloradas o maltratadas, luego se lavó con agua destilada., después las hojas fueron colocadas en papel Kraft y fueron llevadas a la estufa 40 °C por 48 horas.

Una vez secadas se sometió a una corriente de vapor de agua sobre calentada, arrastrando la esencia que por acción del refrigerante, se condensó. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, se usó una pera de separación de

vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na₂SO₄ anhidro. Finalmente se filtró, y se guardó en un frasco de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C ³².

Preparación de las diferentes concentraciones de los aceites esenciales

Las concentraciones se prepararon según los siguientes porcentajes:

Volumen de aceite	Volumen de Tween 80	Volumen final	Concentración (%)
0,5 mL	9,5mL	10 mL	5
1,0 mL	9,0 mL	10 mL	10
2,5 mL	7,5 mL	10 mL	25
5,0 mL	5,0 mL	10 mL	50

Luego, se colocó cada una de las concentraciones en frascos de vidrio de color ámbar estéril, para protegerlas de la luz, posteriormente se llevó a refrigeración a 4 °C, hasta la realización del análisis microbiológico

Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Se utilizó el cultivo liofilizado de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la reactivación se realizó sembrando cada cepa liofilizada en matraz con 50 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI), luego se incubó a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Se verificó si se tiene cultivo puro, para lo cual se sembró por estría en Agar TSYB para *Streptococcus mutans* e incubó por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus*

mutans para realizar coloración Gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.³³

Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar, en pocitos. Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenidas en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37 °C durante 24 horas. Luego de 24 horas, de las placas con *Streptococcus mutans* se escogió tres a cuatro colonias y se diluyó en caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL).

Inoculación de las placas *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100 ul y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton. Con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido y se realizó

dos pocitos por cada placa³⁴.

Luego, se colocó 50 uL de cada concentración en cada uno de los pocitos.

Se empleó como control positivo de gluconato clorhexidina al 2% y como control negativo PBS (buffer fosfato salino) .

Incubación:

Se incubaron las placas dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de cada una de las concentraciones, a 37 °C durante 48 horas en microanaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela .

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 48 horas se examinó cada placa y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se usó el vernier digital calibrado ISO, abarcando el diámetro del halo.³⁴

Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo.

4.5 Plan de análisis

Para la presente investigación se utilizaron las tablas de resumen de una entrada, así como gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación. Para determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se usó el análisis de varianza, para un diseño completamente al azar, luego se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan. Todas las pruebas estadísticas tuvieron un nivel de

significancia del 5%.

Se contó con una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa Statgraphics

4.6 Matriz de consistencia

Titulo	Problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de estudio	Población
Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hoja de <i>Minthostachys mollis</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175"	¿Existe diferencia de efecto antibacteriano de cuatro concentraciones de aceite esencial de hoja de <i>Minthostachys mollis</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> , ATCC 25175?	<p>General</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano de cuatro concentraciones <i>in vitro</i> del aceite esencial de hoja de <i>Minthostachys mollis</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i>, ATCC 25175.</p> <p>Específicos</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en 5% sobre <i>Streptococcus mutans</i> , ATCC 25175</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en 10% sobre <i>Streptococcus mutans</i> , ATCC 25175</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en 25% sobre <i>Streptococcus mutans</i> , ATCC 25175</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> en 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> , ATCC 25175</p>	El aceite esencial de la hoja de <i>Minthostachys mollis</i> al 50 % presenta mayor efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC2517 que las concentraciones de 5%, 10% y 25%.	Cuantitativo	Una unidad de cepas <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 muestra : Se necesitaron 10 placas seleccionadas para cada grupo de tratamiento. En total fueron 6 grupos: 10 para cada concentración de 5%, 10%, 25% y 50%, 10 placas para el control poitivo y 10 placas para el control negativo

4.7 Principios éticos

La presente investigación se rigió del Código de Ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote el cual comprende los principios del cuidado del medio ambiente y biodiversidad y la integridad científica.³⁵

Además al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121 °C y 1 Bar de presión , fueron inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.³⁶

Los residuos microbiológicos y patológicos fueron eliminados de forma tal que se asegure su descontaminación en autoclave (residuos microbiológicos) o incineración (residuos patológicos). Esto significa una bolsa primaria de color negro, se llenó solo hasta $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad y anudada y sobre ésta una bolsa color amarillo con logo y pre impreso de residuos especiales, se marcaba el tipo de residuos que contuvo, el laboratorio o área de generación y la fecha. Estas bolsas cerradas anudadas, fueron almacenadas temporalmente en las áreas sucias en contenedores con logo de Residuo Biológico.³⁷

IV. Resultados

TABLA 1

Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5% ,10%, 25% ,50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Concentraciones	ni	Promedio mm	Desv. Est.	F	P
5%	10	9.6	0.92		
10%	10	14.3	1.64		
25%	10	17.9	0.55		
50%	10	22.9	1.19		
C –	10	7.2	0.19	686.53	0.0000
Clorhexidina al 2%	10	35.1	1.93		

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Prueba ANOVA

Nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

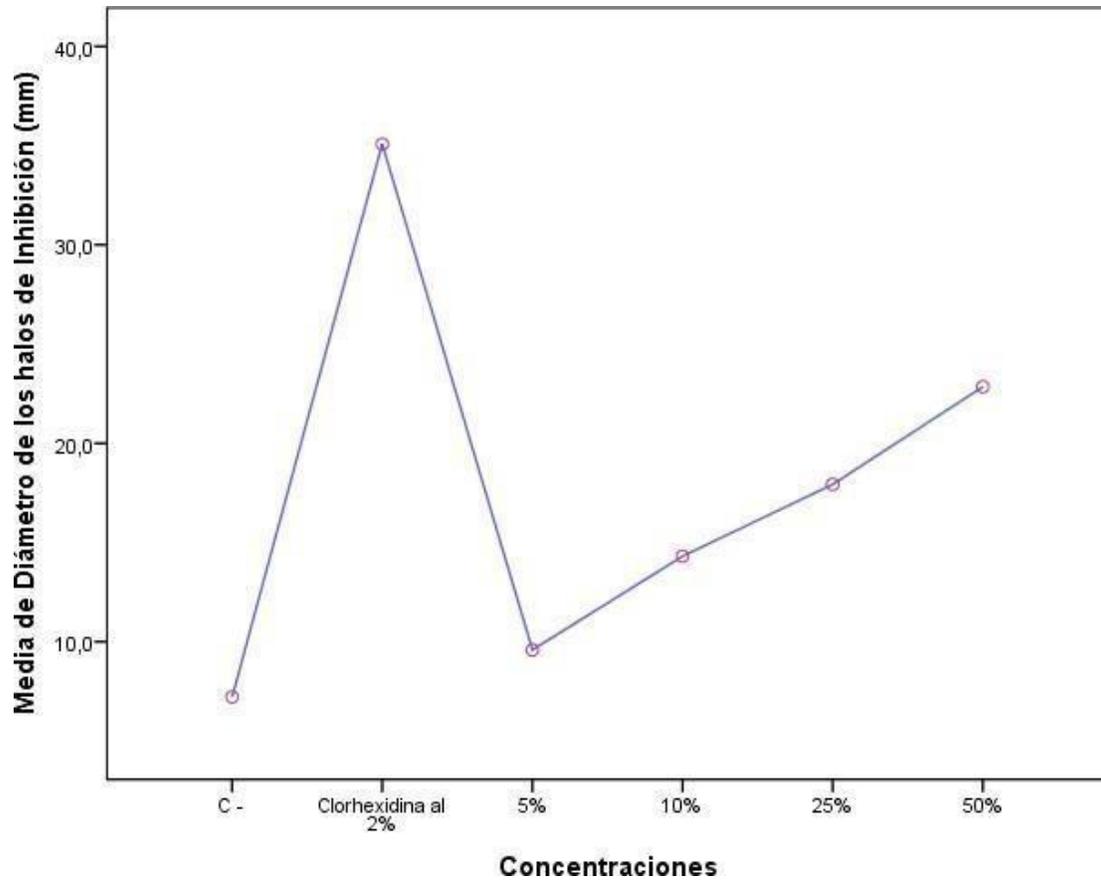
Interpretación:

En la tabla 1 observamos que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 50 % presentó mayor diámetro de halo de inhibición que las concentraciones al 5%, 10% y 25%. El gluconato de clorhexidina 2% presentó mayor diámetro de halo de inhibición (35.1 mm) que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 50%.

El aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 5%, 10% y 25% presentaron efecto antibacteriano. Según la escala de Duraffourd existe efecto antibacteriano cuando el halo de inhibición es mayor que 8 mm .

Gráfico 1:

Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5%, 10%, 25%, 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Fuente: Datos proporcionados por el investigador

En el grafico 1 observamos que a medida que aumenta la concentración, aumenta la medida de los halos de inhibición

TABLA 2

Prueba de Duncan del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5% 10% 25% 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Prueba de Duncan

Concentraciones	ni	Grupos para alfa = 0.05					
		G1	G2	G3	G4	G5	G6
C -	10	7.22					
5%	10		9.59				
10%	10			14.31			
25%	10				17.93		
50%	10					22.85	
Clorhexidina al 2%	10						35.08

Fuente: Datos proporcionados por el investigador
 Prueba de Duncan
 Nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

Interpretación:

Según la prueba de Duncan, todos los grupos de estudios presentan diferencias entre sí. El grupo control negativo presenta menor efecto que las concentraciones 5%, 10% ,25% 50 % y que el control positivo. A medida que aumenta la concentración, el efecto antibacteriano aumenta. La clorhexidina al 2% presenta mayor efecto antibacteriano que todos los demás grupos de estudio.

4.2 Análisis de resultado

Los resultados de la investigación demostraron que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* presentó efecto inhibitorio del crecimiento sobre una cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se determinó que el efecto antibacteriano se presentó desde la menor concentración en evaluación, causando un aumento en el diámetro del halo conforme aumentaban las concentraciones hasta llegar al 50%. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Guerrero G¹⁰ en donde la mayor concentración presenta un mayor efecto inhibitorio del crecimiento, según Ccallo S.¹², esto es debido a la presencia de dos componentes principales en el aceite clasificados como pulegona y trans-metona que aportarían el efecto inhibitorio del crecimiento, lo cual se ve reflejado en los resultados encontrados al evaluarse contra *Streptococcus mutans* obteniendo halos de 16 mm en bajas concentraciones. En cuanto al efecto antibacteriano que presentó este aceite esencial, se relaciona con estudios realizados por Callo S.¹² quien reporta la presencia de timol y metileugenol en la extracción. Estos dos compuestos en sinergia con terpenoides característicos de la especie, actuarían produciendo la inhibición del crecimiento al atacar a la pared celular característica de los cocos Gram positivos. La facilidad con la que se logra esta desnaturalización sería debido a la extracción como aceite, el cual al entrar en contacto con peptidoglicano y ácidos grasos en pared celular y citoplasma correspondientemente no presenta mayor resistencia, logrando así una mejor difusión ligada a una mayor área de acción.

En cuanto al diámetro de los halos de inhibición obtenidos en esta investigación, éstos se encontraban muy por encima de los valores obtenidos en estudios previos. Según

investigaciones realizada por Farinango D¹¹, el mayor diámetro presente en los halos de inhibición puede verse relacionado a la especie a partir de la cual se extrajo el aceite, así como también a las condiciones de cultivo y enriquecimiento del suelo, lo cual repercute en el crecimiento y producción de metabolitos por parte de la planta, logrando así una mayor concentración de los principios activos a nivel de tallo y hojas que puede verse reflejado en la extracción al presentar mayor diámetro en los halos. Esto se ve reflejado en investigaciones realizadas por Tello G²⁵ en comparación con Gonzales A³¹ quienes trabajaron con plantas colectadas de la región sierra y región selva respectivamente, cuando se realizó el análisis fitoquímico se determinó una mayor presencia de compuestos en la planta que pertenecía a la región sierra en comparación de las regiones selva, sin embargo, la terminología, el detalle acerca de cantidades, métodos y componentes específicos son claramente temas propios de las áreas químicas, bioquímicas y botánicas. El efecto aumenta a medida que aumenta la concentración debido a la cantidad de principios activos contenidos en el medio líquido que se está aplicando, de ahí el término concentración, a menor concentración menor es la cantidad de principios activos contenidos y por ende menor el efecto, de la misma forma para una mayor concentración, mayor es la cantidad de principios activos contenidos por ende mayor el efecto³³.

El gluconato de clorhexidina al 2% presentó el mayor diámetro en el halo de inhibición, dado que, al ser un antibiótico de línea, compuesto por principios activos sintéticos que actúan en sinergia con adyuvantes y excipientes, tienden en el 100% de los casos a sobrepasar la acción antibacteriana de extractos y aceites esenciales en donde los principios activos no se presentan aislados ni cuantificados⁵.

Por lo antes mencionado, el aporte etnofarmacológico del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*, permitirá que la población en un futuro pueda disponer de un producto galénico natural con efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

IV. Conclusiones

La concentración del aceite esencial de la hoja *Minthostachys mollis* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* que al 5% , 10% y 25% frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 .

La concentración del aceite esencial de la hoja *Minthostachys mollis* al 5% presentó efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La concentración del aceite esencial de la hoja *Minthostachys mollis* al 10% presentó efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 .

La concentración del aceite esencial de la hoja *Minthostachys mollis* al 25% presentó efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175 .

Aspectos complementarios

Realizar estudios sobre el efecto antibacteriano de diversas especies de la *Minthostachys mollis* frente a bacterias causantes de enfermedades orales.

Desarrollar estudios de investigación sobre la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida para así poder comparar a la *Minthostachys mollis* con otras plantas que han presentado actividad antimicrobiana.

Implementar un área de microbiología en la clínica Uladech, en donde se puedan desarrollar este tipo de estudios y así incentivar a los investigadores a estudiar propiedades de la abundante flora que existe en nuestro país y optar por su consumo como una opción más de tratamiento en odontología.

Elaborar productos a base de plantas medicinales así como enjuagues bucales colutorios, etc.

Referencias Bibliográficas

1. Espinoza M, Antonio L. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. *Rev Estomtológica Hered* [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 30];25(3):187–93. Available from:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552015000300003
2. Navarro I. Estudio epidemiológico de salud bucodental en una población infantil-adolescente de Castilla-La Mancha [Internet]. *Rev. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones*; 2014 [cited 2019 Sep 30]. Available from: <https://eprints.ucm.es/10292/>
3. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [Internet]. 2014 [cited 2019 Sep 30];33(4):499–515. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-013-1993-7>
4. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Rev. Orinoquia* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 30];20(3):24. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
5. Mejía J, Silva L. Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “Muña” y *Dodonaea viscosa* L. Jacq “Chamana” en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

- [Tesis]. Perú: Universidad privada Antonio Guillermo Urrelo; 2019. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/874>
6. Mantilla G, Yupanqui E. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2018. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12000>
 7. Aigaje A, Myriam Z. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. Fund. Dialnet. 2016; 3(1): 3-20. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5802909>
 8. Quispe D, Mamani J. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb (Muña) sobre microorganismos prevalentes en patología periapicales crónicas de origen endodóntico UNA-PUNO 2016. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional del altiplano; 2016. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3252>
 9. Wesley C, Jiménez C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Rev Simiykita [Internet]. 2015 May. [citado 2019 Sep 22]; 1(1): 224-236. Disponible en: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/pr/article/view/471>
 10. Guerrero G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marco; 2014. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3680>

11. Farinango D. Aceite esencial de *Minthostachys mollis* “tipo” como agente inhibitorio en comparación al gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* – in vitro. [Tesis]. Ecuador: Universidad central del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/12796>
12. Ccallo S. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, Puno 2013. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional del Altiplano; 2013. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/1905>
13. Malpartida F. Efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* estudio in vitro Lima 2009. [Tesis]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 2010. Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/FEDERICOMARTINMALPARTIDAQUISPE.pdf>
14. González V, Alegret M, González Y. Índice de riesgo de caries dental. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2017 [cited 2019 Oct 1];26(4):255–67. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100004
15. Ramos D. *Streptococcus sanguinis* y *actinomyces viscosus* bacterias pioneras en la formación del biofilm dental *actinomyces viscosus* and *streptococcus sanguis* bacteria pioneers in dental biofilm formation. *Rev KIRU* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 30];13(2):7. Available from: <https://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2016/02/1014-3472-1-PB.pdf>

16. Castro VM. Inhibición del crecimiento in vitro de streptococcus mutans por Papaina y Sanitrend [Tesis]. Chile: Universidad de Chile; 2015. Available from: http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2005/castro_v/sources/castro_v.pdf
17. Centurión KM. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Streptococcus mutans ATCC 35668. [Tesis]. Perú: Universidad privada Antenor Orrego; 2015. Available from: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/972>
18. Ojedar JC, Garcís E. Streptococcus mutans and dental caries. Rev CES Odontol [Internet]. 2014 [cited 2019 Sep 30];26(1):20–33. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>
19. Cabronero MJ. Estudio de Streptococcus mutans en un modelo experimental: aportaciones etiopatogénicas [Internet]. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones; 2019 [cited 2019 Sep 30]. Available from: <https://eprints.ucm.es/3679/>
20. Gamboa FO. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: Experiencia de investigación. Univ Odontol [Internet]. 2014 [cited 2019 Sep 30];33(71):65–73. Available from: <file:///C:/Users/Estefany/Downloads/DialnetIdentificacionYCaracterizacionMicrobiologicaFenoti-5236033.pdf>
21. García MC. Estudio a doble ciego aleatorio, sobre la prevención quimioterapéutica de la caries dental con barnices de clorhexidina y timol en niños de 5 a 8 años [Internet]. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones; 2014

- [cited 2019 Sep 30]. Available from: <https://eprints.ucm.es/5328/>
22. Quichca JC. Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) Y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. [Tesis]. Perú: Universidad privada Norbert Wiener.; 2017. Available from: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1203>.
 23. Alaba W, Jiménez C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Ene- Jun [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 30];1(1):15–22. Available from: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/pr/article/view/471>
 24. Aquije LM. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* muña [Tesis]. Perú: Universidad alas peruanas; 2015 [cited 2019 Sep 30]. Available from: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/634>
 25. Tello G. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero. Jauja, región Junín. [Internet]. Universidad nacional agraria la molina; 2015 [cited 2019 Sep 30]. Available from: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 26. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Solar D, Torres DM, Villegas L, et al. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Orig Artic Rev Estomatol Hered [Internet]. 2015 [cited 2019 Sep 30];25(4):268–77. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
 27. Castro MA. Comparación de los compuestos terpenicos del aceite esencial de

- muña (*Minthostachys mollis*) extraído de los hojas frescas y secas. [Tesis]. Perú: Universidad nacional del centro del Perú; 2014. Available from: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2659/CastroMattos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Hernández Sampieri R. Metodología de la investigación. 5ta edición. Mexico. MC Graw Hill editorial; 2010.
29. Steel Robert, James Terror , Bioestadística principios y procedimientos .2 da edición , editorial : Mc Graw-Hill.1985.p, 640
30. Zamora R. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial de jengibre con el hipoclorito de sodio sobre el *Enterococcus faecalis*. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2017 <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7535/PROTEJIDO%20%20TESIS%20%20ESTOMATOLOG%c3%8dA%20UNT%20ZAMORA.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
31. González A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, departamento de Ingeniería Química. Abril- 2004
32. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba.2002.
33. Centurión V. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Tesis grado de maestro en estomatología. Universidad Antenor

- Orrego. 2015.
34. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. 2013. Vol 33 (1).
 35. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 001 [Internet]. [citado 20 de octubre 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7455/codigo-de-etica-paralainvestigacionv001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 36. Fica A, Ruíz G, Yunes Alí. Normas de manejo de desechos hospitalarios. REV. Medwave [Internet] 2008 [citado 02 diciembre 2019];3(3) Disponible en : <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Enfermeria/abr2003/2808>
 37. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de Chile. 2013; 1-7 Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacion-de-residuos-biologicos.pdf>

ANEXOS

Anexo1

Vernier digital por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



Anexo 2

Constancia de taxonomía

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super Orden: Asterales
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Género: ***Minthostachys***
- Especie: ***M. mollis*** Griseb.
- Nombre común: "muña"

Muestra alcanzada a este despacho por BONIFACIO URIOL ROSITA MORELIA, Identificado con DNI: 74983313, con domicilio legal en Av. Cahuide Mz. T Lte. 33 – La Esperanza - Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Taller de Investigación: "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 24 de octubre del 2019


Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT



Anexo 3

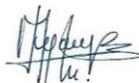
Constancia de colaboración de **MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELÁSQUEZ**,
Biólogo – Microbióloga en la ejecución del proyecto de investigación

CONSTANCIA

Yo, MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELÁSQUEZ, Bióloga –Microbióloga Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N°2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna BONIFACIO URIOL ROSITA MORELIA, identificada con DNI74983313, con domicilio legal en la Av Cahuide Mz T Lt 33, la Esperanza-Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud ,Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote , en la ejecución de la tesis titulada “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJA DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO 2019”

Trujillo 18 de octubre del 2019



Manuela Natividad Lujan Velásquez

Docente De La Escuela De Microbiología y Parasitología

Universidad Nacional De Trujillo

Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Anexo 4

Constancia de colaboración de MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Dra. En farmacia y bioquímica en la ejecución del proyecto de investigación

CONSTANCIA

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente investigadora por CONCYTEC.

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación de la muestra vegetal y las concentraciones, de los aceites esenciales de hojas de *Minthostachys mollis* (muña), en el laboratorio de farmacognosia de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con la alumna BONIFACIO URIOL ROSITA MORELIA, identificada con DNI 74983313, con domicilio legal en la Av. Cahuide Mz. T Lt. 33, la Esperanza - Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJA DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO 2019”




MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ

Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica

Laboratorio de Farmacognosia

Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 5

Boletas de la compra de la cepa *Streptococcus mutans*

GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.
RAZON SOCIAL: GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.

R.U.C. 20501262260
GUIA DE REMISION REMITENTE
0002 - N° 0001123

R.U.C.: 20501262260
Cod. Cliente: 0001
Orden de Compra: 0001
Numero de Pedido: 0001
Tipo de Movimiento: 0001
Fecha de Traslado: 0001

UNIVERSIDAD CATECOLICA LOS ANGELES DE CHIMOTE
UNIVERSIDAD CATECOLICA LOS ANGELES DE CHIMOTE
UNIVERSIDAD CATECOLICA LOS ANGELES DE CHIMOTE

Orden de Traslado y Entrega:

Mercadería y Plazo:
N° Licencia de Comercio:

MULTIPLIPLICACION DEL MATERIAL

Compras **Compras** **Compras** **Compras** **Compras** **Compras** **Compras**

TRABAJOS REALIZADOS EN EL CENTRO DE INVESTIGACIONES Y DESARROLLO

COD.	CANT.	UNID.	DESCRIPCION

GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.
GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.

GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.
RAZON SOCIAL: GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.

RUC N° 20501262260
FACTURA ELECTRONICA
F002-000161

Page 1 of 1

Fecha emisión: 2023-09-08
Fecha Voto: 2023-09-08
Orden Compra: 0001-000161
Orden de Remisión: 0001-000161
Cliente: UNIVERSIDAD CATECOLICA LOS ANGELES DE CHIMOTE
Dirección: JR. TUMES N° 301 CENTRO COMERCIAL EL PARAISO
CHIMOTE - SANTA ANA - PIU.
Tipo Movimiento: RECIBOS
Lugar de destino: RUC - 20501262260

Subtipo	Descripción	Cant. UM	Precio UM	Base	Subtotal
0001	0001	0001	0001	0001	0001

TOTALIZADOR GENERAL Y/O CON VALOR CERO

Detalle	Importe
Subtotal	0001
IGV 18%	0001
Importe Total	0001

Representación impresa de la Factura Electrónica
Consulta: <http://www.gubnet.pe>

Observaciones del REMITENTE:
La Factura Electrónica F002-000161, fue emitida por:

GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.
GRUPO EMPRESARIAL DEL PERU S.A.C.

Anexo 6

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

extractos Concentración Repeticiones	Diámetro de los halos de inhibición según concentración del Aceite esencial de muña (mm)				C+	C-
	5%	10%	25%	50%	(mm)	(mm)
1.						
2.						
3.						
4.						
5.						
6.						
7.						
8.						
9.						
10.						

Anexo 7

Prueba de normalidad del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hoja de *Minthostachys Mollis* (Muña) en concentraciones de 5% 10%25% y 50% frente a *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, Trujillo 2019.

Extractos Concentración	Diámetro de los halos de Inhibición según Concentración del Aceite esencial de muña (mm)				Clorhexidina al 2%	C -
	5%	10%	25%	50%		
Repeticiones						
1	10.2	15.5	18.6	20.2	35.4	7
2	11.3	17.2	17.2	23.4	35.4	7.1
3	9.2	15	18.1	22.1	30.2	7.4
4	10	12	18.3	23	35.7	7.2
5	10.1	15.3	18	24	37	7.4
6	9.4	12.2	17.1	22.2	35.1	7.5
7	10	13.2	18.3	23.3	37.3	7
8	9.1	14.1	17.2	24.4	35.2	7
9	8.4	13.3	18.1	22.5	35	7.4
10	8.2	15.3	18.4	23.4	34.5	7.2
Promedio	9.59	14.31	17.93	22.85	35.08	7.22
Prueba de Normalidad Shapiro Wilks	P=0.100	P=0.100	P=0.100	P=0.100	P=0.010	P=0.100

Fuente: Datos proporcionados por el investigador
Nivel de significancia estadística (p<0.01)

Anexo 8

RECOLECCIÓN DE LA PLANTA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA)



Se recolectó la planta *Minthostachys mollis* en el distrito de Otuzco

SELECCIÓN, LAVADO Y SECADO



Se seleccionaron las hojas de *Minthostachys mollis* que se presentaban en buenas condiciones ,

Lavamos y secamos con rollos de papel, luego fue llevada a la estufa por 48 horas .



Pasado las 48 horas pesamos las hojas de *Minthostachys mollis* obteniendo 900gr

OBTENCIÓN DEL ACEITE ESCENCIAL DE LA HOJA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA)

41





Se diluyó con el twenn cada uno de las concentraciones



Con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa



Se colocaron 50 uL de cada concentración en cada uno de los pocitos.

LECTURA DE RESULTADOS



Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Minthostachys mollis*



Placas petris con halos de inhibicion de las cuatro concentraciones 5%, 10%,25%,50%



Placa Petri del control positivo clorhexidina al 2% y control negativo PBS
(buffer fosfato salino)

BONIFACIO_URIOL_ROSITA_MORELIA.docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

11 %	11 %	0 %	%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	docplayer.es Fuente de Internet	6 %
2	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	5 %

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 4%