

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

“IN VITRO ANTIBACTERIAL EFFECT OF THE *MINTHOSTACHYS MOLLIS*  
SHEET ESSENTIAL OIL ON *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO  
2019”

Rosita Morelia Bonifacio Uriol

Estudiante de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote - Sede

Trujillo

rossy1597@hotmail.com.pe

## RESUMEN

**Objetivo:** Comparar el efecto antibacteriano in vitro de cuatro concentraciones de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Materiales y métodos:** : En el presente estudio de tipo experimental, prospectivo, analítico, in vitro, se elaboró un aceite esencial utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, obteniendo 10 ml luego del procedimiento, el mismo que fue diluido para obtener cuatro concentraciones al 5%, 10%, 25% y 50%. Se utilizó la Clorhexidina al 2%. Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron incubadas en caldo BHI y en Agar TSA. Los grupos de estudio fueron 6, se realizaron 10 repeticiones por cada grupo de estudio. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. **Resultados:** Los valores promedios de los halos de inhibición fueron de 9.6 mm al 5%, de 10.3mm al 10%, de 17.9mm al 25% y de 22.9 mm al 50%. **Conclusión:** 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 otras tres concentraciones.

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

## SUMMARY

**Objective:** to compare the antibacterial effect in vitro of four concentrations of essential oil of the leaf of *Minthostachys mollis* on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Materials and methods:** In this experimental, prospective, analytical, in vitro study An essential oil was developed using the water vapour drag distillation technique, obtaining 10 ml after the procedure, which was diluted to obtain four concentrations at 5%, 10%, 25% and 50%. Chlorhexidine was used at 2%. The strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were incubated in BHI Broth and TSA Agar. The study groups were 6, 10 repetitions were performed for each study group. The antibacterial effect was evaluated by the method of Kirby Bauer. **Results:** 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%. **Conclusión:** It was concluded that *Minthostachys mollis* leaf essential oil at 50% had a higher antibacterial effect in vitro on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 than the other three concentrations.

Key words: Oils volatile, antibacterials, *Streptococcus mutans*, Plant extracts

## 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. 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).

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 una 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. 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 % (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).

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. 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 (5).

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 nos permitiría usarla como método alternativo en la odontología.

El objetivo del presente estudio fue comparar el efecto antibacteriano de cuatro concentraciones in vitro del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación fue de tipo experimental, prospectivo, analítico. La población estuvo conformada por placas Petri conteniendo cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. 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. Para la obtención del aceite se recolectaron 10 kg de hojas de *Minthostachys mollis* en el distrito de Otuzco. Se llevó al Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo para su taxonomía. La obtención del aceite esencial, se realizó por el método de “hidrodestilación”. 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. Se usó una pera de separación de vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Finalmente se filtró, y se guardó en un frasco de vidrio color ámbar y a una temperatura de 4 °C (6).

Las concentraciones del aceite esencial 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

Posteriormente se llevó a refrigeración a 4 °C. Se usó el cultivo liofilizado de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, para su reactivación se sembró en un matraz con 50 mL de Caldo Brain Heart Infusión (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, 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 Trypticase Soya (TSA)

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en Agar, en pocitos. La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenidas en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis 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 hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland. Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton. Con un hisopo estéril se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa (7).

Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos y se realizó dos pocitos por cada placa. Luego, se colocó 50 uL de cada concentración en cada uno de los pocitos. Se empleó como control positivo gluconato de clorhexidina al 2% y como control negativo agua destilada estéril.

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. Después de 48 horas se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de cada placa. Para lo cual se usó el vernier digital calibrado ISO. Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo (8).

## RESULTADOS

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%.

Las concentraciones del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 5%, 10% y 25% presentaron efecto antibacteriano, ya que según la escala de Duraffourd existe efecto antibacteriano si el diámetro de halo de inhibición es mayor que 8.

En la tabla 2 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



## DISCUSIÓN

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 G (9), en donde la concentración con un mayor efecto inhibitorio del crecimiento fue del 50%. Según Ccallo S (10), 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 antimicrobiano que presentó este aceite esencial, se relaciona con estudios realizados por Callo S (10), 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 realizadas por Farinango D (11), 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 la extracción verse reflejado en al presentar mayor diámetro en los halos.

Esto se ve reflejado en investigaciones realizadas por Tello G (12), en comparación con Gonzales A (5), 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 efecto (5).

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 cuantificados (8).

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 *S. mutans* ATCC 25175. Se concluyó que la concentración del aceite esencial de la hoja *Minthostachys mollis* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano que la otras tres concentraciones frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

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](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*. ORINOQUIA [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 30];20(3):24. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
5. 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. Disponible en : <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandregonzalezvilla.2004.pdf>
6. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba.2002. Disponible en : <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/prinFRIENDLY/476/202>
7. 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.

Disponible en :

[http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/972/1/CENTURI%C3%93N\\_KARINA\\_ANTIBACTERIANO\\_INVITRO\\_ETAN%C3%93LICO.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/972/1/CENTURI%C3%93N_KARINA_ANTIBACTERIANO_INVITRO_ETAN%C3%93LICO.pdf)

8. 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). Available in: <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=55d77c2f614325f5d38b461b&assetKey=AS:273836702928896@1442299165694>
9. 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>
10. 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>
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. 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>

**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.

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

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Prueba ANOVA

Nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

**TABLA 2**

Prueba de Duncan del efecto antibacteriano del aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* en concentraciones de 5% 10% 25% 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC25175.

**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 ( $p < 0.05$ )