



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Piper
aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS DE
Streptococcus mutans ATCC 25175, TRUJILLO-
2019**

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

AUTOR

GRAUS RIOS, REIMIRIA YUDITH

ORCID: 0000-0003-0584-0765

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2019

1. Título de la tesis

EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Piper*
aduncum (MATICO) FRENTE A CEPAS DE
Streptococcus mutans ATCC 25175, TRUJILLO-2019

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Graus Ríos, Reimiria Yudith

ORCID: 0000-0003-0584-0765

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

Mgtr. Pairazamán, García Juan Luis

Presidente

Mgtr. Morón Cabrera, Edwar Richard

Miembro

Mgtr. Velásquez Veneros, Cynthia Karina

Miembro

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita

Asesor

4. Agradecimiento

A Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, a mis padres por ser el apoyo y Fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad.

Agradezco a mis docentes, los cuales son personas de gran sabiduría, quienes han dedicado su tiempo y esfuerzo para ayudarme a conseguir una parte de mis metas.

Dedicatoria

Este presente trabajo de investigación lo dedico a, Fermina Contreras Peña, Ana Ríos Contreras, a ellas por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y por haberme forjado como la persona que soy actualmente, ya que todos los logros que estoy cumpliendo son gracias a ustedes, por motivarme constantemente para alcanzar mis metas.

A mi hermana Fany Graus Ríos por su apoyo incondicional en todo este proceso, con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona.

5. Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de dos concentraciones de extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio fue de tipo cuantitativo, tuvo un diseño experimental, prospectivo y transversal, el cual se llevó a cabo en una población conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales fueron expuestas a los extractos hidroetanólicos de las hojas de matico en concentraciones del 5% y 2.5%. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer, se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los resultados indicaron que, la concentración al 5% obtuvo una media de 11.68 mm, y la de 2.5% una media de 8.6mm. Se aplicó la prueba ANOVA, encontrando $P= 0.000$ indicando que existe diferencia estadística significativa entre los dos tipos de concentraciones. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* al 5% presentó mayor efecto antibacteriano que la concentración al 2.5% frente a las cepas de *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: Clorhexidina, Matico, *Streptococcus mutans*.

Abstract

The present investigation aimed to compare the in vitro antibacterial effect of two analyzes of hydroalcoholic extract of *Piper aduncum* (matico) on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The quantitative study, had an experimental, prospective and transversal design, which was It was carried out in a population consisting of strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175, which were exposed to hydroetanolic extracts of the material sheets in 5% and 2.5%. The antibacterial effect was evaluated by the method of Kirby Bauer, the halos of bacterial inhibition was measured in mm. The results indicated that, the 5% concentration obtained an average of 11.68 mm, and 2.5% an average of 8.6mm. The ANOVA test was applied, finding $P = 0.000$ indicating that there is a significant statistical difference between the two types of variables. In conclusion, the hydroalcoholic extract of the 5% *Piper aduncum* leaves had a greater antibacterial effect than the 2.5% concentration against the *Streptococcus mutans* strains.

Keywords: Chlorhexidine, Matico, *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 dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	3
III. Hipótesis.....	15
IV. Metodología.....	16
4.1 Diseño de la investigación.....	16
4.2 Población y muestra.....	16
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	18
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	19
4.5 Plan de análisis.....	24
4.6 Matriz de consistencia.....	25
4.7 Principios éticos.....	25
V. Resultados.....	27
5.1 Resultados.....	27
5.2 Análisis de los resultados.....	30
VI. Conclusiones.....	33
Referencias bibliográficas.....	35
Anexos.....	41

7. Índice de tablas

Tabla 1: Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de dos concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175..... 27

Tabla 2: Subgrupos del efecto antibacteriano *in vitro*, entre los extractos hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175..... 28

Índice de gráficos

Gráfico 1: Comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de dos concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	
.....	50

I. Introducción

La caries dental, es una enfermedad infecciosa, la cual genera malestares dolorosos, estéticos y funcionales a los pacientes de toda edad. Esta enfermedad, es considerada como un problema de salud pública en países de Latinoamérica, y es caracterizada por presentar una etiología multifactorial, dentro de las cuales, el factor microbiano es uno de los más estudiados. Según los investigadores el *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), es uno de los microorganismos implicados en la formación de caries dental, el cual es aislado en la placa bacteriana.¹

S. mutans, es una bacteria gran positiva, considerada como una de las responsables de la formación de caries, presenta la capacidad de formar polisacáridos extracelulares que forman la placa bacteriana. Posee varios factores de virulencia como la síntesis de glucosiltransferasa, enzima que metaboliza la sacarosa y elabora glucanos básicos para el proceso de adhesión de microorganismos al esmalte dental.²

A lo largo de los años se han empleado sustancias naturales, destinadas a la prevención de la caries dental, el empleo de estas plantas se debe a que presentan en su composición propiedades antimicrobianas, usadas como extractos, los cuales se obtienen con diferentes procedimientos y solventes.¹

Piper aduncum, presenta flavonoides en su composición, los cuales le otorgan propiedades antimicrobianas. Esta planta es conocida como matico, y es nativa de la costa y selva de países de América del Sur.

Además, esta planta es ampliamente utilizada para curar distintos males asociados a la cavidad bucal por sus efectos antibacterianos, la cual ha demostrado presentar efectos contra *S. mutans* ³. Su efecto antibacteriano es dado por su alto contenido de flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, aceites esenciales y esteroides. ⁴

Se planteó la realización de la presente investigación con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) sobre cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados del estudio determinaron el porcentaje con mayor efecto antibacteriano frente a una de las bacterias más relacionadas a la caries dental. Además, con estos resultados se pueden elaborar antisépticos orales como enjuagues bucales o colutorios. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer, se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los resultados indicaron que, las concentraciones al 5% obtuvo una media de 11.68 mm, al 2.5% una media de 8.6mm. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* al 5% presentó mayor efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que la concentración al 2.5%.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes

Aguilar L, et al.⁵ (Perú, 2019) El trabajo fue “Efecto del aceite esencial de las hojas de *Piper aduncum* “Matico” sobre el crecimiento de *Escherichia coli*. Tuvo como objetivo, determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de matico. El estudio tuvo un diseño experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *E. coli* ATCC 25922, los cuales fueron expuesta en aceites esenciales de las hojas de matico de diferentes concentraciones del 40, 60, 80 y 100% incubadas por 24 horas. Para determinar el efecto antibacteriano se utilizó el método Kirby Bauer, además se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los resultados indicaron que, al 40% obtuvo un halo de 7.4 mm, al 60% obtuvo 11.3 mm, al 80% obtuvo 14.1 mm y al 100% obtuvo 17.4 mm. En conclusión, los aceites esenciales de las hojas de *Piper aduncum* (Matico) en concentraciones del 60, 80 y 100% presentan efecto antibacteriano.

Martinez P, et al.⁶ (Ecuador, 2018) El trabajo fue “Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aduncum* (matico) sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* estudio in vitro”, tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del matico. El estudio tuvo un diseño experimental, el cual se llevó a cabo en una población de *P. gingivalis* los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo. Además, se elaboraron extractos etanólicos a base de las hojas

de matico en concentraciones de 50, 75 y 100% que fueron expuestas sobre las bacterias. Para medir el efecto antibacteriano se midieron los halos de inhibición bacteriana en milímetros. Los resultados indicaron que, la concentración al 50% obtuvo un halo de inhibición de 13 mm, al 75% obtuvo 8 mm y al 100% obtuvo 9 mm. En conclusión, el extracto etanólico de las hojas de matico al 50% presentó mayor efecto antibacteriano en comparación de las otras concentraciones.

Benites A.⁷ (Perú, 2017) El trabajo fue “Efecto bactericida in vitro de *Piper aduncum* sobre *Streptococcus pyogenes*”, y tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del matico sobre *S. pyogenes*. Para el estudio se elaboraron extractos etanólicos de matico en diferentes concentraciones de 5, 25, 50, 75 y 100%, los cuales fueron agregados sobre las cepas de *S. pyogenes* previamente activadas, y como control se utilizó penicilina. El efecto antibacteriano fue medido mediante el método de Kirby Bauer y concentración mínima inhibitoria. Los resultados indicaron que, la concentración al 5% obtuvo un promedio de 41.83 mm, al 25% obtuvo 44.33 mm, al 50% obtuvo 41.33 mm, al 75% obtuvo 42.33 mm, al 100% obtuvo 48.50 mm y el control obtuvo 43.33 mm. En conclusión, el extracto alcohólico al 100% presentó mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones.

Fróes Ch.⁸ (Brasil, 2016) El trabajo fue “actividad antimicrobiana de los extractos de hojas de *Piper aduncum* contra las bacterias de la placa dental *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis*”, y tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del matico frente a *S. mutans*

ATCC 25175 y *sanguis* ATCC 10556. Para este estudio se elaboró un extracto etanólico por decocción, maceración, Soxhlet o turboextracción, los cuales fueron agregados sobre cepas de *S. mutans* y *sanguis*. Se determinó la concentración mínima inhibitoria de los extractos utilizando el método de micro dilución en caldo. Los resultados indicaron que, la concentración mínima inhibitoria para el extracto por decocción en *S. mutans* y *sanguis* fueron 0.62 y 2.5, por maceración fueron 0.16 y 0.31, por soxhlet fueron 0.31 y 0.62 y por turbo extracción fueron 0.31 y 1.25. En conclusión, los extractos de *P. aduncum* demostraron actividad antibacteriana contra cepas de *S. mutans* y *S. sanguis*.

Garay C, et al. ⁹ (Perú, 2015) El estudio fue “Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de Schinus molle (molle) *Piper elongatum* (matico), *Luma chequen* (Molina), A. Gray (Arrayan) y *Minthostachys setosa* (Muña) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) CUSCO – 2015”, y tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del matico frente a *S. mutans*. Se elaboraron aceites esenciales de matico en 13 concentraciones los cuales fueron agregados sobre cepas de *S. mutans* previamente activadas y sembradas en un medio de cultivo, como grupo control positivo se utilizó clorhexidina al 0.12% y como grupo control negativo TWEEN 20. Los resultados indicaron que, los diámetros de halos inhibición para el aceite del matico al 100% fue 25 mm, al 75% fue 21.67 mm, al 50% fue 17,67 mm, al 40% fue 15 mm, al 30% fue 14 mm, al 25% fue 11.67 mm y al 20% fue 10 mm. En

conclusión, los aceites de matico en diferentes concentraciones presentan efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Espejo B, et al. ¹⁰ (Perú, 2015) El trabajo fue “Efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* (estudio In vitro) Lima 2014”, tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del matico. El estudio tuvo un diseño experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo, el cual se llevó a cabo en una población de *P. gingivalis* previamente activados y sembrados en un medio de cultivo. Se elaboraron extractos etanólicos de las hojas secas del matico en concentraciones de 0.5%, 0.25% y 0.062%. El efecto antibacteriano se evaluó midiendo los halos de inhibición bacteriana en milímetros, luego de 72 y 96 horas de exposición. Los resultados indicaron que, la concentración al 0.5% tuvo un halo de 8,65 mm, al 0.25% tuvo 6,25 mm al 0.062% tuvo 4,8mm, a las 96 horas al 0.5% obtuvo 16.25 mm, al 0.25% obtuvo 10.95 mm y al 0.062 % obtuvo 7.35 mm. En conclusión, el extracto de las hojas de matico al 0.5% presenta mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones.

Wan N, et al. ¹¹ (Malasia, 2014) El trabajo fue “Composiciones químicas y actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Piper abbreviatum*, *P. erecticaule* y *P. lanatum* (*Piperaceae*)”. Tuvo como objetivo, determinar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de Matico sobre cepas de bacterias gram positivas. El estudio se llevó a cabo, en una población de diversas bacterias gram positivas,

entre ellas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Aspergillus niger*, entre otros. Se elaboraron aceites esenciales de las hojas de matico en concentraciones del 25, 50 y 100%, los cuales fueron expuestas a los microorganismos por 24 horas. La actividad antimicrobiana se llevó a cabo mediante difusión en disco y método de micro-dilución de caldo. Los resultados indicaron que, todos los aceites esenciales mostraron actividad débil hacia las bacterias Gram-positivas con valores en el rango de 250 a 500 µg/ml. En conclusión, los aceites esenciales de matico en diferentes concentraciones presentan efecto antibacteriano.

2.2.Marco teórico

Caries dental

La caries dental, considerada como una patología infecciosa causada por bacterias luego de la erupción dental, también es un procedimiento progresivo de desmineralización que afecta a los tejidos duros de las piezas dentarias mineralizadas. ^{4,12}

Ha sido considerada como una de las enfermedades más prevalentes de la cavidad bucal a nivel mundial y es la causa principal de la odontalgia y la pérdida de piezas dentarias en las poblaciones. Esta enfermedad se encuentra asociada a una baja calidad de vida. ¹³

Etiología

La caries, es una enfermedad de múltiples factores. La literatura indica que es causada por, la dieta cariogénica, microflora destructiva y tiempo.¹⁴

La dieta: se refiere a los alimentos con una elevada cantidad de azúcares, el cual, acelera la actividad bacteriana. ¹⁴

Tiempo: cuando hay un mayor tiempo de exposición de la pieza dentaria a los ácidos producidos por las bacterias, existe un mayor riesgo de caries. Los dulces, por mucho tiempo ha sido considerado como el principal causal de caries dental, sin embargo, algunos estudios indican que no lo son, por que los alimentos a base de almidones son realmente los que ocasionan un mayor deterioro, por presentar una mayor adherencia al esmalte de los dientes y los ácidos formados permanecen más tiempo en el esmalte.¹⁴

Huésped: cuando el huésped es vulnerable debido a diversos factores heredados, o la edad, también influye los trastornos endocrinos, mal oclusión dentaria y trastornos salivales. ¹⁴

Epidemiología

La caries dental, provoca la mayor morbilidad dental, durante toda la existencia de un individuo, independiente de la edad, el sexo y color de piel, sin embargo, presentan un alto predominio en poblaciones con un

bajo nivel socioeconómico, y está relacionada con el nivel educativo deficiente de las personas, también, con una mayor prevalencia en el consumo de alimentos criogénicos y ausencia de hábitos de higiene bucal. ¹⁵

Factores relacionados con el huésped

Saliva: es un fluido que contiene fósforo y calcio, además de, flúor, proteínas, enzimas, agentes amortiguadores, inmunoglobulinas, entre otros. En la saliva, el flúor se muestra en bajas concentraciones, sin embargo, presenta una gran importancia en el momento de la remineralización, ya que, al combinarse con los cristales del esmalte dental, forma fluorapatita, el cual es un compuesto mucho más resistente al ataque de los ácidos generado por las bacterias. Además. El pH salival baja de manera rápida dentro de los primeros minutos luego de ingerir carbohidratos, luego de 30 minutos regresa a sus niveles normales. ¹⁶

La caries dental, se da gracias al metabolismo de microorganismos sobre la superficie dentaria, y que, con el tiempo, puede producir la pérdida de minerales, dando lugar, a la formación de una cavidad. Estas bacterias, pertenecen a una comunidad compleja de diversas especies que participan en la formación del biofilm. Dentro de estos microorganismos causantes de la caries dental, se encuentran los *Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp*, de los cuales, el *S. mutans* es el causante principal de la enfermedad. ¹⁶

Streptococcus mutans

El *S. mutans*, es un coco Gram positivo, además de un productor de ácido láctico, cambiando el pH de 7 a 4.2 en 24 horas. Además, es un productor de glucosa, rafinosa, lactosa, entre otros. ¹⁷

Está compuesta de un nucleoide, tiene citoplasma y membrana, entre otros. Estas bacterias actúan en la adhesión sobre la superficie dental, gracias a la fibronectina del individuo. ^{18,19}

Factores de patogenicidad

Los *S. mutans*, presentan un gran poder acidógeno, acidófilo y acidúrico, también sintetizan polisacáridos extracelulares como los glucanos solubles e insolubles, además de fructanos. Sintetizan a los polisacáridos extracelulares; presentan una capacidad adhesiva, sobre todo en proteínas de la saliva que facilitan su adhesión a las superficies dentarias o superficies de materiales de restauración, en ausencia de glucanos, predominando su capacidad agregativa y coagregativa a través de los mutanos y glucosiltransferasas. ²⁰

También se encarga de producir bacteriocinas en diferentes bacterias de la cavidad bucal. Por último, sintetizan glucanos insolubles gracias a la sacarosa de los restos alimenticios, por las glucosiltransferasas, facilitando la formación del biofilm dental. ²⁰

Factores de virulencia

Acidogenicidad: el *Streptococcus* fermenta azúcares de los restos alimenticios para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo, haciendo que el pH de la cavidad bucal baje, provocando la desmineralización sobre el esmalte dental. ²¹

Aciduridad: Es la capacidad que tiene la bacteria, de producir ácidos en la cavidad bucal, así se encuentre en un medio con pH bajo. ²¹

Acidofilicidad: la bacteria del *S. mutans* resiste la acidez del medio bombeando protones fuera de la célula. ²¹

American type culture collection (ATCC)

ATCC, es una organización de Norteamérica no gubernamental, indicada como una institución sin fines de beneficio que se encarga de conservar las muestras de los cultivos celulares y microbiológicos, además, se encarga de distribuir los cultivos a los centros de estudio y laboratorios de investigación en las comunidades académicas, científicas y médicas. ²²

Plantas medicinales

Desde la antigüedad, las plantas medicinales han sido utilizadas para curar una gran cantidad de enfermedades, ya que, aquellas plantas utilizadas, presentaban propiedades curativas, gracias a su principio activo que producía un efecto fisiológico. ²³

En la actualidad, una gran variedad de estas especies vegetales, están siendo estudiadas por científicos, tratando de verificar sus principios activos que ayudan a mejorar la salud de las personas, entre estos compuestos se han encontrado, alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides y taninos, los cuales fueron encontrados en casi la totalidad de las plantas estudiadas, y en algunos casos solo en sus hojas o frutos.

23

***Piper aduncum* (matico)**

Esta planta, es conocida como hierba del soldado o matico; es un árbol que mide hasta 7 m de altura, presenta hojas simples, estrechas y oblongas, sus ramas son rectas y elongadas, sus flores son tubulares y de color blanco, cada flor tiene una bráctea pilosa, de 3 a 6 estambres, sus frutos son bayas pequeñas, ovoides y trigonales.²³

Efecto antimicrobiano

El matico, ha sido utilizado durante años tradicionalmente en América del Sur, donde fue valorado especialmente por sus cualidades antisépticas y se utiliza para tratar heridas, etc. Estos usos fueron rápidamente adoptados por los europeos entrantes y la planta ha mantenido su papel en la herbolaria moderna.²⁴

Piper aduncum. (matico) contiene en su composición una gama de compuestos activos como flavonoides, sesquiterpenos, monoterpenos, heterociclos, fenilpropanoides, alcaloides y benzenoides. La planta ha

demostrado acciones antimicrobianas de amplio espectro, lo que puede ayudar a explicar su larga historia de uso de diversas infecciones y enfermedades infecciosas. En varios estudios, las hojas y el aceite esencial extraído de las hojas o los frutos han demostrado acciones antibacterianas contra diversas bacterias Gram positivas y negativas. También se ha informado de acciones contra hongos y levaduras.⁸

Piper aduncum. (matico) presenta gran porcentaje de tanino especialmente de tipo flavonoide que son los más importantes, también los sequiterpenos, monoterpenos, heterociclos, fenilpropanoides, alcaloides y benzenoides, cabe mencionar que existen otros polifenoles presentes en el *Piper aduncum*, en menor proporción como bezenoid, vitamin K.⁸

Flavonoides

Los flavonoides, se encuentran en todas las plantas naturales verdes, presentan actividad antioxidante y no es tóxico, lo cual le convierte en el principio activo frente a diversas enfermedades, siendo usado como antiinflamatorio. Las flavonas, han demostrado presentar efectos antibacterianos en altas concentraciones y pueden presentar similar efecto que los antibióticos, es usada en lesiones de la encía luego de la exodoncia de una pieza dentaria, y en aftas bucales.⁸

Los extractos de *Piper aduncum* (matico) actúan sobre el crecimiento, sacarosa - celular dependiente de adherencia y acidogenicidad de *S.*

mutans. Sugieren que esta planta tiene un potencial para una mayor explotación en odontología para prevenir la caries dental ya que sigue siendo la enfermedad dental más frecuentes, uno de los mayores retos en salud oral es Inhibir el crecimiento de *S. mutans* a valor concentración mínima inhibitoria aproximadamente ocho veces menor que la de *S. mutans* (0,08 y 0,62 mg / ml, respectivamente). Se consideran que los extractos de plantas que son activos a concentraciones inferiores a 0,1 mg / ml de tener un buen nivel de potencia. Así, basándose en este criterio, el estudio demostró que la fracción tiene una actividad prometedora contra *S. mutans*. Extractos producidos por diferentes métodos de extracción. El MAC tenía el mayor contenido de sesquiterpenos, que representaba más del 97% del total de compuestos identificado .Sesquiterpenos se han descrito ampliamente en la literatura por sus propiedades en particular contra *S. mutans*, el nerolidol, que era uno de los sesquiterpenos más abundantes presentes en MAC tiene una potente actividad contra *S. mutans*, Con el MIC de 0,025 mg / ml .Por lo tanto, el buen desempeño de la MAC y su fracción puede estar relacionado con su alto contenido de sesquiterpenos. Además de inhibir el crecimiento bacteriano, la fracción de a una concentración de 0,08 mg / ml tenían actividad también biológica contra dos de los principales rasgos de virulencia de *S. mutans*: que inhibe adherencia sacarosa-dependiente y acidogenicidad. Los ensayos de matar el tiempo se llevaron a cabo para la longitud máxima de tiempo de 2,5 h, ya que, en

base a los presentes resultados, *P. aduncum* podrían considerarse extractos a ser utilizados en productos de cuidado oral.²⁴

La clorhexidina

La clorhexidina, es un potente antimicrobiana, presenta un pH entre 5.5 a 7. Ese pH, presenta acción frente a diversas bacterias, el pH de 5 a 8 es activo frente a bacterias Gram positivas y negativas, además, tiene efecto en bacterias aerobias y anaerobias de la placa bacteriana hasta 97%. En bajas concentraciones presenta un efecto bacteriostático y en altas concentraciones, presenta efecto bactericida. Las bacterias susceptibles son *Staphylococcus*, *S. mutans*, *S. salivarius* y *S. coli*. Asimismo, la clorhexidina inhibi in vitro de la placa bacteriana a *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *S. mutans* y *S. Sanguis*.²⁵

III. Hipótesis

El extracto hidroalcohólico al 5.0% tiene mayor efecto antibacteriano *in vitro* que al 2.5% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

IV. Metodología

4.1. Diseño

Experimental; porque busca medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente.²⁶ Este estudio midió el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico sobre cepas de *S. mutans*.

Prospectivo; porque se registra la información según ocurran los fenómenos.²⁶ Esta investigación registró los resultados en halos de inhibición bacteriana según ocurrieron los hechos.

Transversal; porque la información es tomada en un momento dado del tiempo.²⁶ Esta investigación obtiene sus datos de inhibición bacteriana luego de 48 horas de exposición bacteriana.

4.2. Población y muestra

La población estuvo constituida por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del laboratorio de Microbiología, de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Placas Petri con cepas de *Streptococcus. mutans* ATCC 25175

Criterios de exclusión

- Placas Petri con signos de contaminación

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso de la siguiente fórmula⁷:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde: $z_{\alpha/2} = 1.96$ para un $\alpha=0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$ para un $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (X_1 - X_2)$, Valor asumido por no haber estudios similares.

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96+0.84)^2 2 \times 0.8^2 (x_1 - x_2)^2}{(x_1 - x_2)^2} = 2.8^2 \times 2 \times 0.8^2 = 10 \text{ repeticiones}$$

Luego la muestra estará conformada por $n = 10$ repeticiones para cada grupo.

4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable Independiente	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Valor Final	Tipo de Variable	Escala
Extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> (matillo).	<p>Piper aduncum: Es un arbusto erecto o árbol de hasta 7 m. de altura.</p> <p>Hojas: Sus Hoja simples estrechamente a ampliamente lanceado-oblongo, de 13-20 cm de largo y 4.5 – 8 cm de ancho, abrupta y estrechamente largo – acuminadas, muy escabrosas y ásperas en el haz, frecuentemente lustrosas en el envés.</p>	Se definió por las concentraciones del extracto	concentración	5.0% 2.5%	Cualitativa	Ordinal
Variable dependiente	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Valor Final	Tipo de Variable	Escala
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre cepa de <i>Streptococcus mutans</i> .	El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. ⁷	<p>Prueba de difusión en discos.</p> <p>Escala de Duraffourd:</p> <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 15 y 20 mm. -Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm. 	Diámetro de halos de inhibición	mm	Cuantitativa	De razón

4.4. Instrumento y recolección de datos

Técnica: observación directa

Instrumento

El instrumento de medición para este estudio fue un Vernier digital: un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca Mitutoyo Numero de Modelo 500-157-30. (Anexo 1)

Los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio. (Anexo 2).

Procedimientos

Obtención de los extractos hidroetanólicos de matico

Identificación de la taxonomía

Piper aduncum procedió del herbario de la Universidad Nacional de Trujillo, certificándose que no recibió ningún tipo de pesticida.

Recolección

Se recolectaron 2 kg de las hojas de *Piper aduncum* (matico). Luego, una rama con hojas, de la especie vegetal se llevó al *Herbarium Truxillense* para la identificación taxonómica. (Anexo 3)

De la preparación de la muestra vegetal. ²⁷

Selección: la muestra vegetal recolectada fue transportada al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Lavado: Luego se procedió a lavar cada una de las hojas con agua destilada y luego se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%.

Secado: Las hojas de la muestra vegetal fue colocada en papeles Kraft, y se llevó a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas.

Pulverización: Las hojas de la muestra vegetal fue pulverizada con ayuda de un mortero.

Tamizaje: Luego las hojas de la muestra vegetal, fue tamizada a través del tamiz de malla N° 20

Almacenamiento: El polvo de la hoja de la muestra vegetal fue guardado en sus respectivos frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.

Preparación del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum*.²⁷

Se colocaron 100 g de hojas secas, pulverizadas y tamizadas de la especie vegetal, en su respectivo recipiente de vidrio de boca ancha color ámbar. Luego, se añadió etanol de 70° G.L. cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que la mezcla ocupe como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el macerado usando una bomba de vacío, con papel de filtro WHATMAN N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico.

A continuación, cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco.

De estos, se prepararon las concentraciones de 5%, y 2.5% disueltas en agua destilada estéril. Finalmente, los extractos etanólicos de la muestra vegetal fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar y en refrigeración (4-8C) hasta su utilización.²⁷

Evaluación del efecto del extracto hidroetanólico de las hojas *Piper aduncum* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.²⁷

Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175.

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* 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.

Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizará mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.²⁷

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microanaerobiosis a 37C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 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

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl 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.²⁷

Método Kirby Bauer

Preparación de los discos con los extractos hidroetanólico de las hojas de *Piper aduncum*

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 6 estériles, los cuales fueron embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 5 y 2.5 % del extracto hidroetanólico de las hojas de *Piper aduncum*. Luego, con una pinza estéril, fueron colocados los discos sobre las placas de Müeller Hinton inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.²⁷

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo alcohol 70°.

Incubación:

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinó cada placa y se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco, para lo cual se utilizó un vernier milimetrado, abarcando el diámetro del halo.

Se realizaron 10 repeticiones de cada ensayo.

4.5. Plan de análisis estadístico

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencias de una entrada con sus valores absolutos, media, desviación estándar y gráfico.

Para determinar los objetivos de la investigación se hizo un análisis de varianza de un diseño completamente al azar, luego la prueba de comparación múltiple, utilizando un nivel de significancia de 5%. Se empleó la prueba de ANOVA.

4.6. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Población y muestra
¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> (Matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, filial Trujillo - 2019?	<p>Objetivo principal Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> (matico) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, filial Trujillo - 2019.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> •Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> (matico) al 5 % frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019. •Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto de <i>Piper aduncum</i> (matico) al 2.5% frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019. . Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de los extractos con el control positivo (clorhexidina 0.12%) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019. . Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de los extractos con el control negativo (etanol 70°) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019. 	El extracto hidroalcohólico al 5% tiene mayor efecto antibacteriano <i>in vitro</i> que al 2.5% sobre cepas de <i>S. mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019.	Extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> (matico). Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>	La población estará conformada por cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo 2019. La muestra estará conformada por 10 repeticiones por cada muestra.

4.7. Principios éticos

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, respetando los principios de la biodiversidad, justicia e integridad científica, el cual tiene como finalidad proteger los derechos, la vida, la salud, la intimidad, la dignidad y el bienestar de las personas que participan de un proyecto de investigación, ciñéndose a los principios éticos

establecidos en el Código de Ética aprobado por Consejo Universitario, la normativa nacional e internacional, y los acuerdos suscritos por nuestro país en la materia.²⁸ 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.²⁹ Los residuos microbiológicos y patológicos fueron eliminados de forma tal que se aseguró 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 marcar 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 de color amarillo con logo de Residuo Biológico³⁰

V. Resultados

5.1.Resultados

Tabla 1

Comparación, del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) al 2.5 y 5% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

ANOVA

<i>Extractos</i>	<i>N</i>	<i>Diámetro (mm)</i>		<i>F</i>	<i>Sig. (p)*</i>
		<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>		
<i>Matico 2.5%</i>	10	8.06	0.89		
<i>Matico 5%</i>	10	11.68	1.99		
<i>Control Negativo (Etanol 70°)</i>	10	0	0	287.2	0.000
<i>Clorhexidina 0.12%</i>	10	19.46	2.07		

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p:* prueba ANOVA, nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

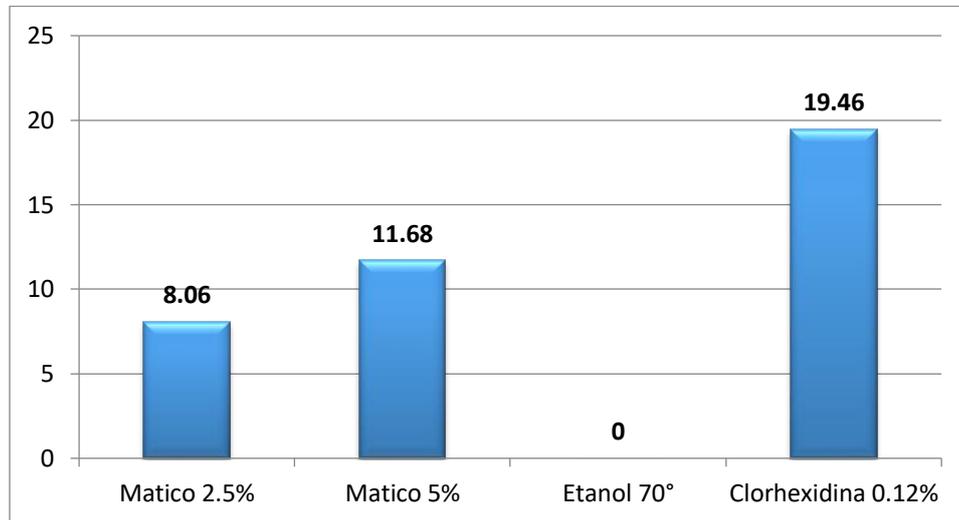
Interpretación:

Al 5.0% se obtuvo una media 11.68 mm, al 2.5% se obtuvo 8.6 mm.

Se utilizó la prueba paramétrica ANOVA y se obtuvo $p=0.000 <$, lo cual indica que existe diferencia estadística entre las concentraciones.

Gráfico 1

Efecto antibacteriano *in vitro* in vitro del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) al 2.5 y 5% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Fuente: Datos obtenidos de la tabla N° 01

Interpretación: se observó que el extracto se matico al 5% presentó mayor efecto antibacteriano que la concentración al 2.5%.

Tabla 2

Subgrupos del efecto antibacteriano *in vitro*, de los extractos hidroalcohólicos de *Piper aduncum* (matico) al 2.5 y 5% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

TEST DUNCAN

<i>Extractos</i>	<i>N</i>	<i>Subconjunto para alfa = 0.05 - (Test Duncan)</i>			
		<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>Control</i>					
<i>Negativo</i> <i>(Etanol 70°)</i>	10	0.00			
<i>Matico 2.5%</i>	10		8.06		
<i>Matico 5%</i>	10			11.68	
<i>Clorhexidina</i> <i>0.12%</i>	10				19.46
Sig.		1.00	1.00	1.00	1.00

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p: prueba DUNCAN, nivel de significancia estadística (p<0.05)*

Interpretación:

La Clorhexidina presenta el mayor efecto con 19.46 mm, seguido de matico al 5% con 11.68 mm, seguido de matico 2.5% con 8.06mm.

Se observa que el diámetro (mm) de cada uno de los extractos evaluados no presenta similitud.

5.2. Análisis de resultados

La presente investigación, buscó comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico del matico al 2.5% y al 5% sobre una de las bacterias más estudiadas y relacionadas a la caries dental como el *Streptococcus mutans*, en un estudio *In vitro*.

Al comprar el efecto antibacteriano *in vitro* de las dos concentraciones de extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum*, se determinó que, la concentración al 5% presentó mayor efecto antibacteriano en comparación de la otra concentración, estos resultados pudieron darse debido a la gran concentración de sesquiterpenos que presentan las hojas de *P. aduncum*, los cuales le otorgan la propiedad antibacteriana a la planta, siendo el *Streptococcus mutans* una de las bacterias más sensibles, y es el nerolidol el sesquiterpeno más abundante, el cual actúa alterando la membrana de la bacteria, asociada a su carácter lipofílico⁸. Se concuerda parcialmente con el estudio de Benites A⁷, quien demostró que el extracto etanólico de las hojas de matico al 5%, presentó un halo de inhibición muy alto sobre cepas de *S. pyogenes*. Martinez P et al⁶, determinó que el extracto etanólico del matico al 50, 75 y 100%, presentan actividad antibacteriana sobre las cepas de *Porphyromona gingivalis*. Fróes Ch⁸, determinó que el extracto etanólico de las hojas de matico presentó actividad antibacteriana sobre *S. mutans* y *sanguis*. Garay C et al⁹, indicó que el aceite de las hojas de matico al 20, 25, 30, 40, 50, 75 y 100% presentaron efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Espejo B. et al¹⁰, demostró el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de matico al 0.5%, 0.25% y 0.062%, sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Por último,

Aguilar L. et al⁵, y Wan N. et al¹¹, demostraron el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de matico sobre diversas bacterias gram positivas. Estos resultados se pudieron dar debido a que la actividad antibacteriana de los extractos hidroetanólicos se da por la acción de sus principios activos, sin embargo, las propiedades biológicas y químicas de esta planta, pueden depender de diversos factores como las condiciones del clima o fase vegetativa, los cuales son diferentes en cada región y país⁷. Asimismo, son los flavonoides los encargados de la actividad antibacteriana de esta planta la cual actúa, alterando la actividad metabólica de las bacterias y los canales de iones de la membrana bacteriana, además, los flavonoides ayudan a fortificar la conexión de los tejidos mediante la inhibición de algunas enzimas que hidrolizan el proteoglicano y la malla proteica, por ende, aumenta el efecto antibacteriano al obstaculizar la difusión de las infecciones a los tejidos.⁷

Al evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto al 5% y al 2.5 % sobre cepas de *Streptococcus mutans*, se demostró que ambos extractos presentaron buenos efectos antibacterianos sobre *S. mutans*, estos resultados se pudieron dar porque, en su composición esta planta presenta taninos y compuestos fenólicos, los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica de esta planta¹¹.

Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de ambos extractos y la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*, se demostró que, la clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que las dos concentraciones, este resultado pudo darse debido a que, la clorhexidina es un potente antibacteriano que actúa como bacteriostático y

bactericida; cuando se une fuertemente a la membrana celular de las bacterias, produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio, está actuando como bacteriostático, pero en concentraciones más altas, produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (bactericida) ⁸.

VI. Conclusiones

1. Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de dos concentraciones de extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum*, se demostró que, la concentración al 5% presentó mayor efecto antibacteriano en comparación de la concentración al 2.5%.
2. El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* al 5% presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
3. El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* al 2.5% presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
4. Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* con la clorhexidina al 0.12%, se demostró que la clorhexidina presentó mayor efecto antibacteriano
5. Al comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* con etanol, se demostró que los extractos presentaron mayor efecto antibacteriano.

Aspectos complementarios

Recomendaciones

1. Realizar estudios, para determinar la concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida de *Piper aduncum* (matico).
2. Impulsar a realizar estudios de más plantas medicinales para impulsar conocimiento de su acción sobre bacterias que causan la caries dental.

Referencias bibliográficas

1. Henostroza G. Diagnóstico de caries dental. 2 ed. Lima: UPCH; 2005.
Disponible en:
https://www.academia.edu/38254122/Henostroza_Gilberto_-_Diagnostico_De_Caries_Dental.PDF
2. Landucci L, Oliveira L, Brandão E, Koga C, Gaett J, Jorge C. Efeitos de Coffea arabica sobre a aderência de Streptococcus mutans à superfície de vidro. Cienc. Odontol. Bras. [Internet] 2003 [Cited march 15; 2019]; 6: 58-62.
Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/277116770_Efeitos_de_Coffea_arabica_sobre_a_aderencia_de_Streptococcus_mutans_a_superficie_de_vidro
3. Monzote L, Scull R, Cos P, Setzer W. Essential Oil from *Piper aduncum*: Chemical Analysis, Antimicrobial Assessment, and Literature Review. Rev. Medicines (Basel). [Online] 2017 [Cited March 15; 2019]; 4(3): 2-14.
Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622384/pdf/medicines-04-00049.pdf>
4. Al-Mariri A, Safi M. In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria. Iran. J. Med. Sci. [Online] 2014 [Cited march 15; 2019]; 39(1): 36–43. Available in:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3895893/>
5. Aguilar L, Zavaleta L, Zavaleta G. Efecto del aceite esencial de las hojas de *Piper aduncum* “Matico” sobre el crecimiento de *Escherichia coli* [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de estomatología;

2019. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13026/AGUILAR%20S%20c3%81NCHEZ%20Luis%20Anthony%20y%20ZAVALETA%20CASTRO%20Linda%20Cristina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

6. Martinez P, Balseca M. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aduncum* (matico) sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* estudio in vitro [Tesis]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de odontología; 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/14140/1/T-UCE-015-855-2018.pdf>
7. Benites A. Efecto bactericida in vitro de *Piper aduncum* sobre *Streptococcus pyogenes* [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de odontología; 2017. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9372/BenitesRodriguez_A.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Fróes Ch, Pessoa E, Alves E, Leomar C, Loreto R, Dos Santos K, et al. Antimicrobial activity of *Piper aduncum* leaf extracts against the dental plaque bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *J. Med. Plant. Res.* [Online] 2016 [Cited Nov. 27; 2018]; 10(23): 331-337. Available in: <http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text/00A407559001>.
9. Garay C, Mamani V. Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Schinus molle* “Molle”, *Piper elongatum* “Matico”, *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayan” y *Minthostachys setosa* (Briq.) Epling

- “Muña” sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 35668) Cusco – 2015. *Rev. Vis. Odontol.* 2015; 2(1): 10-14.
10. Espejo B, Ruíz G. Efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* in vitro [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Hemilio Valdizan. Facultad de odontología; 2015. Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/UNHEVAL/721/TO%2000038%20E85.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Wan N, Farediah A, Khong Y. Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Piper abbreviatum*, *P. erecticaule* and *P. lanatum* (Piperaceae). *Rev. Nat. Prod. Communications*. [Online] 2014 [Cited oct 28; 2019]; 9(12): 1795-1798. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1400901235>
12. Fróes Ch. Efecto de los extractos y fracciones de *Piper aduncum* en el crecimiento y el metabolismo *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* [Tesis]. Brasil: Universidad Vale Do Rio Doce. Facultad de ciencias biológicas; 2010.
13. Falcón D, Cardoso M. Diagnóstico precoz de caries dental. *Rev. Fac. Odontol. Divulgación*. [Internet] 2014 [Citado el 15 julio 2018]; 7(1): 27-31. Disponible en: <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/rfo/article/view/1627>
14. Hidalgo I, Duque J, Pérez J. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. *Rev. Cuban. Estomatol.* [Revista en línea] 2008 [Citado el 15 de junio 2018]; 45(1): 1-12. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072008000100004

15. Márquez M, Rodríguez R, Rodríguez Y, Estrada G, Aroche A. Epidemiología de la caries dental en niños de 6 - 12 años en la Clínica Odontológica “La Democracia”. MEDISAN. [Internet] 2009 [Citado el 15 julio 2018]; 13(5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192009000500012
16. Ojeda JC, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. Rev. CES Odont. [Internet] 2013 [Citado el 15 julio 2018]; 26(1) 44-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005
17. Chino S. Matico (Piper aduncum). Propiedades Medicinales. 2016.
18. Barrancos, L. Operatoria Dental (Cuarta ed.). Buenos Aires. (2006) Panamericana
19. Negroni, M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y Guía Práctica. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2009.
20. Arreguin J, Ríos C, Hernández C, Ostia M, Ventura J, Alvares C, et al. Caries dental y microorganismos asociados a la caries en la saliva de los alumnos de primer año de la facultad de odontología de la UNAM. Rev. Odontol. Méx. 2016; 20(2): 77-81.
21. Núñez D, García L. Bioquímica de la caries dental. Rev. Haban. Cienc. Med. [Rev. en línea] 2010 [Citado el 25 oct 2018]; 9(2): 156-166. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v9n2/rhcm04210.pdf>

22. American Type Culture Collection. [Página principal en Internet]. Virginia: ATCC; c2009 [consultada el 25 de octubre 2018]. Disponible en: <https://www.atcc.org/products/all/25175.aspx>.
23. Abreu O, Rodríguez A, Morgado M, Cao L. Farmacognosia, farmacobotánica, farmacogeografía y farmacoetimología del platanillo de Cuba (*Piper aduncum* subespecie *ossanum*). Rev. Cub. Plant. Med. [Revista en línea] 2012 [Citado el 27 de noviembre del 2018]; 17(2): 181-193. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000200007.
24. Fern K, Morris R. Tropical Plants Database. 2014. Última actualización en 2017-09-28. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Piper+aduncum>
25. Ragno J, Szkutnik A. Evaluation of 0.12% chlorhexidine rinse on the prevention of alveolar osteitis. Or. Surg. Or. Med. Or. Patol. Or. Radiol. [Online] 1991 [Cited nov. 27; 2018]; 72(5): 524-526. Disponible en: [http://www.oooojournal.net/article/0030-4220\(91\)90487-W/fulltext](http://www.oooojournal.net/article/0030-4220(91)90487-W/fulltext)
26. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
27. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad Nacional Ciudad de la Habana, CUBA. 2002.
28. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 001 [Internet]. [citado 02 marzo 2019] Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7455/codigo-de-etica-paralainvestigacionv001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

29. Fica, A, Ruíz G, Yunes Alí. Normas de manejo de desechos hospitalarios. REV. Medwave [Internet] 2008 [citado 02 diciembre 2019];3(3)
30. 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

Anexo 1

VERNIER calibrador micrómetro de fibra de carbono de 150mm/6 pulgadas, LCD Digital eléctrico.

Marca: Modavela, Modelo: VF15

calibrado y validado con ISO 13385-2:2011



Anexo 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO

HIDROALCOHÓLICO DE *Piper aduncum* (MATICO) FRENTE A CEPAS DE

***Streptococcus mutans* ATCC 25175, FILIAL TRUJILLO-2019**

REPETICIONES	HALOS DE INHIBICIÓN EN MM			
	Extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i>		Control positivo	Control negativo
	5.0%	2.5%	Clorhexidina al 0.12%	Etanol 70°
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

Anexo 3

Constancia de identificación de la planta del *Herbarium Truxillense*

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

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

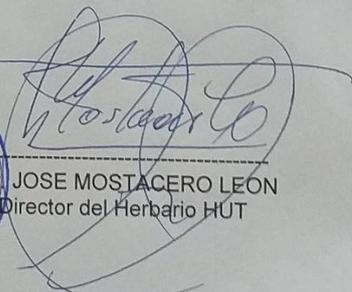
- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Magnolianaes
- Orden: Piperales
- Familia: Piperaceae
- Género: ***Piper***
- Especie: ***P. aduncum* L.**
- Nombre común: "matico "

Muestra alcanzada a este despacho por REIMIRIA YUDITH GRAUS RIOS identificada con DNI: 45506521, con domicilio legal en Los Rubies 295, Santa Inés-Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Trabajo de Investigación para optar el grado académico de Bachiller en Estomatología: Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de ***Piper aduncum*** "matico" frente a cepas de ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175, Trujillo- 2019.

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

Trujillo, 04 de junio del 2019




Dr. JOSE MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

Anexo 4

CONSTANCIA

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, Químico Farmacéutico y docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CQFP: 06952

Dejo constancia de haber colaborado con la alumna **GRAUS RÍOS YUDITH**, identificada con DNI 45506521 con domicilio legal en Jr. Los Rubies N° 295, Urb. Santa Inés-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 del proyecto de investigación: **"Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175"**.

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo 04 de julio del 2019




Dña. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

Anexo 5

CONSTANCIA

Yo, David Zavaleta Verde, Biólogo Microbiólogo y docente de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 7941.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna YUDITH GRAUS RIOS, identificado con DNI 45506521, con domicilio legal en Jr. Los Rubies 295, Urb. Santa Inés - 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 del trabajo de investigación "**Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**".

Trujillo 20 de junio del 2019



David Zavaleta Verde
C.B.P. 7941

Anexo 6

PROCESAMIENTO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANOLICOS DE *Piper aduncum* (MATICO) REALIZADO EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNT

SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN



Se lavaron las hojas de la Planta de *Piper aduncum* (matico). y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%

SECADO



Secado, colocado en papeles Kraft, y llevado a secar en una estufa de circulación de aire por convención forzada en estufa a 40°C por 48 horas, Hojas de la Planta de *Piper aduncum* (matico). Pulverización, Tamizaje y se pesó 250gr. de *Piper aduncum* (matico).

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE *Piper aduncum* (matico).



Mezcla de alcohol 96° con agua destilada (etanol al 70°) para *Piper aduncum* (matico). Tiempo de maceración por 7 y se agitará 15 minutos dos veces al día el frasco.



Se filtró el macerado de *Piper aduncum* (matico). al vacío con papel filtro Whatman N°1. Equipo de rotavapor que se utilizó para eliminar el solvente y obtener un residuo seco de los extractos hidroalcohólicos de *Piper aduncum* (matico).

Extractos hidroalcohólicos de). *Piper aduncum* (matico)

***Piper aduncum* (matico)... las concentraciones de 5.0% (250 mg/mL), .25% (500 mg/mL), disueltas en etanol de 70°.**

Anexo 7

INOCULACIÓN DE LAS PLACAS

Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en dos direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

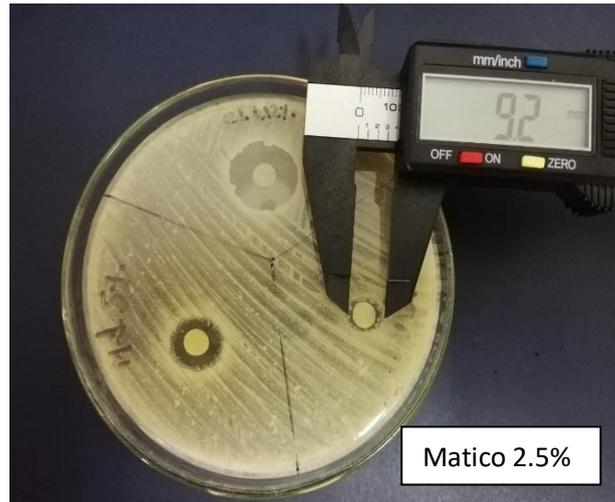
PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE PAPEL FILTRO WHATMAN NÚMERO 6

ESTÉRILES

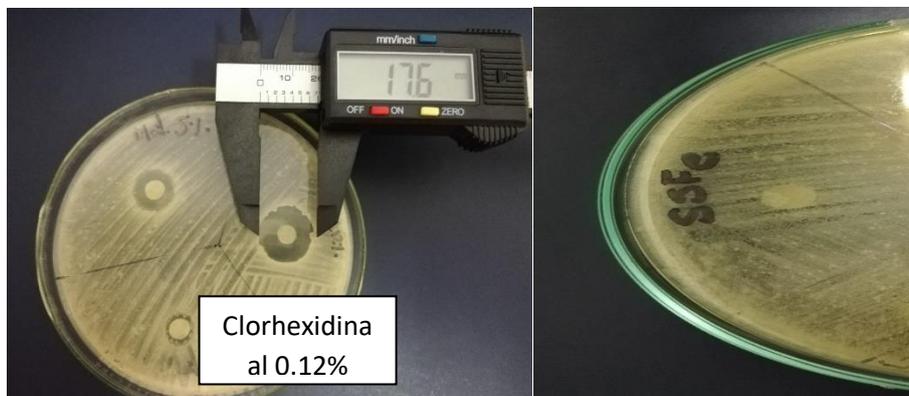
Preparación de los discos de papel filtro WHATMAN número 6 estériles, embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 5.0% ,2.5% del Extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* (matico).

LECTURA DE RESULTADOS





Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Piper aduncum* (matico).



Placas Petri del control positivo clorhexidina al 0,12% y control negativo Etanol70° .

Anexo 8

PRUEBA DE NORMALIDAD

Comparación del efecto antibacteriano de dos concentraciones de extracto hidroalcohólico de Piper aduncum. (matico) sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175.

Extractos - Halos de inhibición (mm)				
Repeticiones	Matico 2.5%	Matico 5%	Control Negativo (Etanol 70°)	Clorhexidina 0.12%
1	7.2	8.7	0	19.8
2	6.8	7.9	0	21.7
3	9.2	12.4	0	16.2
4	8.9	12	0	17.8
5	7.6	11.8	0	18
6	8.5	14.6	0	20.8
7	9.3	13.2	0	17.6
8	7.1	12.7	0	19.4
9	7.8	12.1	0	22.9
10	8.2	11.4	0	20.4
Promedio	8.06	11.68	0	19.46
p (sig.)	0.548	0.208	*	0.954
Prueba de				
Normalidad	Normalidad	Normalidad		Normalidad
(Shapiro-Wilk)				

() Control negativo (Etanol), es una constante y se ha desestimado*

Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar que todos los grupos de datos tiene una significancia mayor a 0.05 ($p > 0.05$), es decir los datos presentan una distribución normal.

Con lo cual podemos concluir, en general los datos (extractos) presentan una distribución normal.

Anexo 9

RESULTADOS

Comparación del efecto antibacteriano de dos concentraciones del extracto hidroalcohólicos de hojas de Piper aduncum (matico) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175”, determinado mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento, método Kirby Bauer.

Repeticiones	Diámetro de halos de inhibición (mm)			
	TRATAMIENTOS			
	Matico 2.5%	Matico 5%	Control Negativo (Etanol)	Gluconato de Clorhexidina 0.12%
1	7.2	8.7	0	19.8
2	6.8	7.9	0	21.7
3	9.2	12.4	0	16.2
4	8.9	12	0	17.8
5	7.6	11.8	0	18
6	8.5	14.6	0	20.8
7	9.3	13.2	0	17.6
8	7.1	12.7	0	19.4
9	7.8	12.1	0	22.9
10	8.2	11.4	0	20.4

C+= Gluconato de clorhexidina al

0.12%

C- = Etanol 70

