



**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE  
CHIMBOTE**

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS  
HIDROETANÓLICOS DE *MENTHA PIPERITA L.* (MENTA)  
Y *CYMBOPOGON CITRATUS L.* (HIERBA LUISA) FRENTE  
A CEPAS DE *STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175*,  
TRUJILLO – 2021.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
CIRUJANO DENTISTA**

**AUTOR**

**BENITES FLORES, CARLOS EDILBERTO**

**ORCID: 0000-0002-9558-2378**

**ASESORA**

**ÁNGELES GARCÍA, KAREN MILENA**

**ORCID: 0000-0002-2441-6882**

**TRUJILLO - PERÚ**

**2023**



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**ACTA N° 0120-113-2023 DE SUSTENTACIÓN DEL INFORME DE TESIS**

En la Ciudad de **Chimbote** Siendo las **18:00** horas del día **23** de **Agosto** del **2023** y estando lo dispuesto en el Reglamento de Investigación (Versión Vigente) ULADECH-CATÓLICA en su Artículo 34º, los miembros del Jurado de Investigación de tesis de la Escuela Profesional de **ODONTOLOGÍA**, conformado por:

**ROJAS BARRIOS JOSE LUIS** Presidente  
**SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN** Miembro  
**REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE** Miembro  
**Mgtr. ANGELES GARCIA KAREN MILENA** Asesor

Se reunieron para evaluar la sustentación del informe de tesis: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE MENTHA PIPERITA L. (MENTA) Y CYMBOPOGON CITRATUS L. (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO - 2021.**

**Presentada Por :**  
(1810081043) **BENITES FLORES CARLOS EDILBERTO**

Luego de la presentación del autor(a) y las deliberaciones, el Jurado de Investigación acordó: **APROBAR** por **UNANIMIDAD**, la tesis, con el calificativo de **13**, quedando expedito/a el/la Bachiller para optar el TITULO PROFESIONAL de **Cirujano Dentista**.

Los miembros del Jurado de Investigación firman a continuación dando fe de las conclusiones del acta:

**ROJAS BARRIOS JOSE LUIS**  
Presidente

**SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN**  
Miembro

**REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE**  
Miembro

**Mgtr. ANGELES GARCIA KAREN MILENA**  
Asesor



## CONSTANCIA DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

La responsable de la Unidad de Integridad Científica, ha monitorizado la evaluación de la originalidad de la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE MENTHA PIPERITA L. (MENTA) Y CYMBOPOGON CITRATUS L. (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO - 2021. Del (de la) estudiante BENITES FLORES CARLOS EDILBERTO, asesorado por ANGELES GARCIA KAREN MILENA se ha revisado y constató que la investigación tiene un índice de similitud de 04% según el reporte de originalidad del programa Turnitin.

Por lo tanto, dichas coincidencias detectadas no constituyen plagio y la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Cabe resaltar que el turnitin brinda información referencial sobre el porcentaje de similitud, más no es objeto oficial para determinar copia o plagio, si sucediera toda la responsabilidad recaerá en el estudiante.

Chimbote, 11 de Setiembre del 2023

---

Mg. Roxana Torres Guzmán  
Responsable de Integridad Científica

## Índice general

Dedicatoria.....	III
Índice general .....	IV
Lista de tablas .....	VI
Lista de figuras .....	VII
Resumen .....	VIII
Abstract.....	IX
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.1. Descripción del problema .....	1
1.2. Formulación del problema .....	2
1.2.1. Problema general .....	2
1.2.2. Problemas específicos.....	2
1.3. Justificación .....	2
1.3.1. Teórica .....	2
1.3.2. Práctica .....	2
1.3.3. Metodológica .....	3
1.4. Objetivo general y específicos .....	3
1.4.1. Objetivo general .....	3
1.4.2. Objetivos específicos .....	3
II. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1. Antecedentes .....	4
2.1.1. Antecedentes Internacionales .....	4
2.1.2. Antecedentes Nacionales .....	7
2.2. Bases teóricas.....	10
2.3. Hipótesis .....	16

III.	Metodología.....	17
3.1.	Nivel, tipo y diseño de la investigación.....	17
3.2.	Población y muestra.....	18
3.3.	Variables. Definición y operacionalización.....	20
3.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de información.....	21
3.5.	Método de análisis de datos.....	24
3.6.	Aspectos éticos.....	25
IV.	RESULTADOS.....	26
	DISCUSIÓN.....	26
V.	CONCLUSIONES.....	34
VI.	RECOMENCACIONES.....	35
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
	ANEXOS.....	39
	Anexo 1: Matriz de consistencia.....	39
	Anexo 2: Instrumento de recolección de información.....	40
	Anexo 3: Validez del instrumento.....	41
	Anexo 4: Confiabilidad del instrumento.....	42
	Anexo 5: Formato de consentimiento informado.....	43
	Anexo 6: Documento de aprobación de institución.....	44
	Anexo 7: Evidencias de ejecución.....	46

## Lista de tablas

**Tabla 1.** Efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo - 2021..... 26

**Tabla 2.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo – 2021. .... 28

**Tabla 3.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo – 2021..... 30

## Lista de figuras

- Figura 1.** Efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita* L. (Menta) y *Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 2517. .... 27
- Figura 2.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. .... 28
- Figura 3.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita* L. (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. .... 30

## Resumen

**Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*. **Metodología:** El diseño fue experimental, prospectivo, observacional, transversal y analítico, se utilizó una muestra de 50 placas petri, distribuidas en 5 grupos, sometidos a extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa), Gluconato de Clorhexidina 0.12% (positivo) y grupo control (negativo), a los grupos experimentales se le enfrentó a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  ufc/ml de *S. mutans ATCC 25175*. El instrumento de medida fue Vernier (calibrado). **Resultados:** El halo promedio del extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* al 100% fue muy sensible (18,8mm), en la concentración al 75% fue muy sensible (14,9mm) y al 50% fue sensible (10mm); para clorhexidina fue 0,12% (C+) el halo de inhibición fue sumamente sensible (20,2mm) y para etanol 70° (C-) el halo de inhibición fue nulo (0mm). Se aplicó la prueba estadística Kruskall Wallis para comparar el efecto antibacteriano de cada grupo, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). **Conclusión:** La combinación de los extractos de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* al 100% presentó mayor efecto antibacteriano frente *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

**Palabras claves:** *Cymbopogon citratus L.*, extractos hidroetanólico y *Mentha piperita L.*

## Abstract

**Objective:** To evaluate the antibacterial effect of the combination of hydroethanolic extracts of *Mentha piperita L.* and *Cymbopogon citratus L.* against strains of *Streptococcus mutans ATCC 25175*. **Methodology:** The design was experimental, prospective, observational, cross-sectional and analytical, a sample of 50 plates was used. petri, distributed in 5 groups, subjected to hydroethanolic extracts of *Mentha piperita L.* (Mint) and *Cymbopogon citratus L.* (Herba Luisa), Chlorhexidine Gluconate 0.12% (positive) and control group (negative), the experimental groups were faced with a concentration of  $1.5 \times 10^8$  cfu/ml of *S. mutans ATCC 25175*. The measuring instrument was Vernier (calibrated). **Results:** The average halo of the hydroethanolic extract of *Mentha piperita L.* and *Cymbopogon citratus L.* at 100% was very sensitive (18.8mm), at 75% concentration it was very sensitive (14.9mm) and at 50% it was sensitive (10mm).; for chlorhexidine it was 0.12% (C+) the inhibition halo was highly sensitive (20.2mm) and for 70° ethanol (C-) the inhibition halo was null (0mm). The ANOVA statistical test was applied to compare the antibacterial effect of each group, with a significant difference ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** The combination of extracts of *Mentha piperita L.* and *Cymbopogon citratus L.* at 100% had a greater antibacterial effect against *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

Keywords: *Cymbopogon citratus L.*, hydroethanolic extracts and *Mentha piperita L.*

## I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción del problema

Los microorganismos presentes en la cavidad oral pueden causar la aparición de caries dental, la cual es considerada una patología bacteriana crónica y multifactorial que puede provocar la destrucción paulatina del esmalte, la dentina, cemento hasta llegar a la pulpa dental, está relacionada con la formación de la placa bacteriana e interacción de las bacterias.<sup>1</sup> El desarrollo de las caries dentales involucra a las bacterias Gram positivas acidógenas, las cuales producen ácidos como un subproducto del metabolismo de los carbohidratos fermentables, de esta forma empieza la degradación de los tejidos del diente. Los *Streptococcus mutans* se considera una de las bacterias patógenas primarias en la caries dental, ya que puede colonizar la superficie de los dientes y acumularse en la placa al disolver las estructuras del diente en presencia de carbohidratos fermentables, como sacarosa, glucosa y fructosa, mediante glucosiltransferasas.<sup>2,3</sup>

El uso de agentes antimicrobianos ayuda en la eliminación química de la biopelícula, evitando la instalación de caries dentales y enfermedades periodontales, pero su uso frecuente puede conducir al desarrollo de especies resistentes, causando una gran preocupación clínica.<sup>4,5</sup> Por lo tanto, es necesario desarrollar tratamientos alternativos con una poderosa actividad antimicrobiana que pueda interferir con la dinámica de la formación de biopelículas. La validación del empleo de plantas medicinales depende de la investigación sistemática llevada a cabo mediante una metodología química, farmacología y microbiología, que junto con otros factores dan como resultado la medicina herbolaria.<sup>6</sup>

Dentro de los productos naturales con actividad antibacteriana en la cavidad oral tenemos a la *Mentha piperita L.*, que es una planta perenne que suele tener cuatro hojas y una altura de 50-90 cm. Sus principales componentes son el mentol (29-48%), la mentona (20-31%), el mentofurano (6,8%) y el acetato de mentilo (3-10%). Los ingredientes farmacológicamente activos también incluyen sustancias

amargas, ácido cafeico, polifenoles polimerizados (19%), flavonoides (12%), carotenos, tocoferoles, betaína, colina y taninos.<sup>4</sup>

Otro producto natural de interés es la *Cymbopogon citratus L.*, conocida como hierba luisa, la cual presenta propiedades antifúngicas, antibacterianas, acción diurética, juega un papel por ser anticancerígeno, posee un mecanismo de gastroprotector y efecto protector contra los parásitos.<sup>4</sup>

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Existe efecto antibacteriano de los extractos hidroetanólicos de *Mentha piperita L.* (menta) y *Cymbopogon citratus L.* (hierba luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo – 2021?

### **1.2.2. Problemas específicos**

1. ¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*?
2. ¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*?

## **1.3. Justificación**

### **1.3.1. Teórica**

La presente investigación presenta una relevancia teórica, ya que los presentes hallazgos ayudaran a demostrar el efecto antibacteriano de diversos productos naturales como son la hierba Luisa y la menta sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, responsable de la caries dental.

### **1.3.2. Práctica**

Presenta también una relevancia práctica, porque ayudara a los odontólogos y a otros profesionales de la salud, a que trabajen con productos naturales que ayudan a prevenir y combatir futuras patologías con respecto a la cavidad oral.

### **1.3.3. Metodológica**

La justificación metodológica se da porque servirá para realizar futuras comparaciones con otras investigaciones sobre la *Mentha piperita L.* y la *Cymbopogon citratus L.* en el área de la odontología. No se manifiestan conflictos de interés y la presente investigación es autofinanciada.

## **1.4. Objetivo general y específicos**

### **1.4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.
2. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

**Milho C, Silva J, Guimares R, Ferreira I, Barros L, Alvares M,<sup>5</sup> (Portugal, 2022).** En su estudio titulado: Antimicrobianos de plantas medicinales: una estrategia emergente para controlar las biopelículas orales. **Objetivo:** Fue brindar una visión crítica y completa de la actividad antibiofilm in vitro de diversas plantas medicinales, revelando numerosas especies con propiedades antimicrobianas, entre las cuales, veinticuatro con porcentajes de inhibición/reducción del biofilm superiores al 95%. **Metodología:** Se realizó una búsqueda bibliográfica en Pub Med y Science Direct utilizando los términos de búsqueda “biopelícula oral”, “biopelícula dental”, “plantas medicinales”, “plantas aromáticas”, “productos naturales”, “antibiopelícula”, “biopelículas cariogénicas” y “antimicrobianos naturales”. El análisis de la literatura incluyó artículos científicos publicados en los últimos 11 años (entre 2010 y 2021). Los artículos científicos obtenidos fueron curados y seleccionados manualmente por la relevancia de sus hallazgos, es decir, seleccionados por la relevancia de sus hallazgos y centrándose en la actividad antibiofilm. **Resultados:** En particular, los aceites esenciales *Cymbopogon citratus* L. (DC.) Stapf y *Lippia alba* (Mill.) parecen ser las más prometedoras en la lucha contra el biofilm microbiano sobre los *Streptococcus mutans*, dada su alta capacidad para reducir el biofilm a bajas concentraciones **Conclusión:** Aunque los extractos de muchas plantas medicinales han mostrado resultados prometedores en el control de las biopelículas orales, se encontró que los dos extractos más prometedores que ejercen esta actividad son los aceites esenciales extraídos de dos plantas aromáticas, los *C. citratus* y *L. alba*.

**Feitosa V, Dantas R, Wanderley Y, Nascimento W.<sup>4</sup> (Cuba, 2020).** En su estudio titulado: Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales para su uso en el Sistema de Salud. **Objetivo:** Determinar la actividad in vitro de las

hierbas medicinales contra patógenos bucales. **Metodología:** Diseño experimental con aceites esenciales sobre *S. mutans*, *S. oralis* y *S. salivarius*. Se realizó difusión en agar. Los halos de inhibición se evaluaron mediante calibradores, el método de microplaca de dilución y el agotamiento, respectivamente, tras 48 horas en una incubadora bacteriológica. Como control positivo se empleó clorhexidina al 0,12%. Cada prueba se realizó por triplicado y los resultados se examinaron descriptivamente. **Resultados:** Los halos de inhibición de los extractos de *Maytenus ilicifolia* fueron un poco superiores a los de los artículos competidores. *Erythrina mulungu* presentó la concentración inhibitoria mínima más baja que para *S. mutans* (2,81 mg/mL) entre tinturas y *Mentha piperita L.* (9,00 mg/mL), entre los aceites esenciales. Los únicos extractos que demostraron una concentración bactericida mínima contra las bacterias ensayadas fueron los de *erythrina* y *Mentha piperita L.* **Conclusión:** *Mentha piperita L.* y *Erythrina mulungu* fueron sólo dos de las bacterias orales contra las que los extractos de plantas demostraron eficacia antimicrobiana.

**Mostafa D, Faten S, Heba M, Basma H, Tarek F.<sup>6</sup> (Egipto, 2020).** En su estudio titulado: Potencial antimicrobiano de *Mentha Spp.* aceites esenciales como nanopartículas lipídicas sólidas, crudas y cargadas contra la caries dental **Objetivo:** Evalúa el potencial antimicrobiano de *Mentha spp.* (*M. spicata L.*, *M. xpiperita L.* y *M. pulegium L.*) aceites esenciales como nanopartículas lipídicas sólidas, crudas y cargadas (SLN) contra la caries dental. **Metodología:** Extracción de aceites esenciales de partes aéreas frescas de *Mentha spp.* se llevó a cabo mediante la técnica de hidrodestilación. Se prepararon nanopartículas lipídicas sólidas de aceite esencial de *Mentha spp* mediante el método de doble emulsificación tipo w/o/w. La actividad antimicrobiana de *Mentha spp.* aceites esenciales y *Mentha spp.* Los SLN se determinaron contra las bacterias presentes en la saliva recolectada de 12 pacientes mediante el ensayo de difusión en agar. **Resultados:** *Mentha spp.* Las nanopartículas lipídicas sólidas cargadas con aceites esenciales tenían forma esférica con tamaños que oscilaban entre 111 y 202 nm y con PDI de 0,43 a 0,76, EE% entre 85 y 88, y ZP de -11,8 a

-40 mV. Los resultados antimicrobianos mostraron que las *Mentha spp* exhibieron una mayor actividad antimicrobiana in vitro que la *Mentha spp* pura. aceite esencial. En particular, con una zona de inhibición de 20 mm. Estos dos MSLN eran incluso más activos que el compuesto de referencia novobiocina. **Conclusión:** Las nanopartículas lipídicas sólidas cargadas de aceites esenciales de *Mentha spp*. son agentes antibacterianos contra la caries.

**Rubio, M.<sup>7</sup> (España, 2019).** En su estudio titulado: Evaluación coagulante y microbiana de los extractos etanólico de *Amphyptergium*, *Mentha piperita L.*, *Heterotheca inuloides* como alternativa terapéutica tratamiento dental pediátrico. **Objetivo:** Evaluar toxicidad y efectividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Amphyptergium*, *Mentha piperita L.*, *Heterotheca inuloides* contra *S. mutans* y *S. sobrinus*. **Metodología:** La actividad antibacteriana se evaluó mediante método de difusión en placa de agar Müller Hinton, la actividad antibacteriana, la actividad coagulante y la toxicidad se evaluaron mediante el ensayo FMCA, añadiendo a esto la realización de estudios fitoquímicos de los extractos mediante separaciones cromatográficas y reacciones cromáticas para identificar algunos de los componentes presentes. **Resultados:** *Amphyptergium adstringens* y *Heterotheca inuloides* tienen mayor efectividad de inhibición. El halo de mayor diámetro fue producido igualmente por H. inuloides a dosis de 250 µg/mL y 125 µg/mL. Descubrimos que A. adstringens tenía el mejor potencial inhibidor cuando probamos los efectos antibacterianos de los extractos sobre S. sobrinus. A. adstringens produjo el halo de mayor diámetro (14 mm y 13 mm, respectivamente) a dosis de 1000 µg/mL y 500 µg/mL, lo que indica una mejor supresión bacteriana que los otros dos extractos. **Conclusión:** Los extractos más precisos para evaluar su eficacia como opción terapéutica en odontopediatría son los de *Heterotheca inuloides* y *Amphyptergium adstringens*.

**Giles, M.<sup>8</sup> (Ecuador, 2018).** En su estudio titulado: Efecto in vitro de la *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) sobre *Streptococcus mutans*.

**Objetivo:** Determino la actividad antimicrobiana de la Hierba Luis sobre *S. Mutans*. **Metodología:** Utilizando agua destilada estéril como control negativo y clorhexidina como control positivo, se probaron cuatro concentraciones de extracto etanólico: 25%, 50%, 75% y 100%. Tras 24 horas de incubación, se obtuvieron los valores de los halos de inhibición. **Resultados:** Se descubrió que los extractos etanólicos de *C. citratus* poseen actividad antibacteriana contra *S. mutans* (en concentración del 25%, Halo inhibitorio medio= 5,7 mm; en concentración del 50%, Halo inhibitorio medio= 6,8 mm; en concentración del 75%, Halo inhibitorio medio= 7,8 mm; en concentración del 100%, v medio= 12,1 mm). Sobre *S. mutans*, se observó que la actividad bactericida aumenta proporcionalmente a la concentración de extracto ( $p < 0,001$ ), pero que sus efectos son siempre menos pronunciados que los del control positivo (clorhexidina frente a 100% de extracto;  $p < 0,001$ ). **Conclusión:** El extracto etanólico de *C. citratus* ejerce una acción bactericida sobre *S. mutans* in vitro.

### 2.1.2. Antecedentes Nacionales

Cárdenas, A, Farfán V.<sup>9</sup> (Piura, 2021). En su estudio titulado: Efecto antibacteriano in vitro de (*Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Determinar la efectividad de la hierba luisa sobre *S. mutans*. **Metodología:** Diseño experimenta. Se utilizó el método CMI y CMB, mientras que el método de difusión en disco se empleó para evaluar la actividad antibacteriana. Se utilizó el procedimiento de maceración con agitación temperada para obtener el extracto hidroetanólico, y se prepararon 10 concentraciones en  $\mu\text{g/mL}$ , el control negativo fue con DMSO 1% y el control positivo fue clorhexidina 0,12%. **Resultado:** Todas las concentraciones de extracto presentaron una actividad antibacteriana más potente que la clorhexidina al 0,12% (14,48 más menos 0,413 mm) con HI entre 16,37 más menos 0,485 mm (10  $\mu\text{g/mL}$ ) y 25,47  $\pm$  0,362 mm (100  $\mu\text{g/mL}$ ). **Conclusión:** El extracto hidroetanólico de *C. citratus* tiene actividad bactericida contra *S. mutans* ATCC 25175 in vitro, y los efectos de las concentraciones de 40  $\mu\text{g/mL}$ , 50  $\mu\text{g/mL}$ , 80  $\mu\text{g/mL}$  y 90  $\mu\text{g/mL}$

fueron estadísticamente equivalentes.

**Quintos D.**<sup>10</sup> (Chiclayo, 2019). En su estudio titulado: Efecto antibacteriano del aceite esencial del Hierba Luis (*Cymbopogon citratus L.*) sobre cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*. **Objetivo:** Determinar la efectividad in vitro del aceite esencial de Hierba Luisa. **Metodología:** Este proyecto de investigación es experimental. Se realizó dos concentraciones de aceite esencial al 70% y al 100% y una cepa de S. Mutans. **Resultados:** El aceite esencial de "hierba luisa", *Cymbopogon citratus L.*, tenía un halo inhibitorio medio de 18 mm a una concentración del 100%. Con un halo de medición de 7 mm, el aceite esencial al 70% demostró una actividad antibacteriana muy débil. **Conclusión:** A una concentración del 100%, el aceite esencial de "hierba luisa" *Cymbopogon citratus L.* tuvo efectos antibacterianos más potentes sobre *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

**Guerra M, Valdez, R.**<sup>11</sup> (Cajamarca, 2019). En su estudio titulado: Actividad antibacteriana de hojas de *Cymbopogon citratus L.* "Hierba Luisa" hechas colutorio en cepas de *S. mutans* de niños de la I.E. 82003 "Nuestra Señora De La Merced" Cajamarca. **Objetivo:** Determinar la efectividad del colutorio de *Cymbopogon citratus L.*. **Metodología:** De tipo experimental, con muestras tomadas en el año 2018 a 75 estudiantes de la I.E. 82003 "Nuestra Señora de la Merced" Cajamarca. Se extrajo el aceite esencial por el método de arrastre de vapor de agua de cinco cepas identificadas como Cepas Pacientes 1, 2, 4, 5 y 7 (CP1, CP2, CP4, CP5 y CP7). Se utilizó el método Kirby Bauer y gluconato de clorhexidina al 0,12% para medir la actividad antibacteriana en agar sangre de carnero al 5%. **Resultados:** Se demostró que el aceite esencial creaba halos inhibitorios de 6,5 mm, 6,6 mm y 6,8 mm a concentraciones de 0,025%, 0,5% y 1%, respectivamente. El aceite esencial no tuvo el efecto deseado en las concentraciones utilizadas; en cambio, el enjuague bucal de clorhexidina al 0,12% tuvo una mejor actividad antibacteriana con un halo de inhibición de 14,1 mm y una diferencia significativa de 0,05, lo que sugiere que tuvo un halo de inhibición mayor. **Conclusión:** En los aislados de *Streptococcus mutans*, el enjuague bucal basado en diluciones de 0,025%, 0,5% y 1% del aceite esencial de hoja de *Cymbopogon citratus L.* "hierba luisa" no mostró ninguna acción antibacteriana.

**Rojas, G.<sup>12</sup> (Chiclayo, 2019).** En su estudio titulado: Efecto antibacteriano de la Menta (*Mentha piperita L.*) sobre cepas de *S. mutans*. **Objetivo:** Determinar la efectividad del aceite esencial de Menta sobre *S. mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Estudio experimental. Se asignaron 20 unidades de estudio que estaban compuestas de menta y una cepa de *S. mutans*, se analizaron mediante el método de Kirby-Bauer. **Resultados:** El *Streptococcus mutans* ATCC 25175 cepas puede ser inhibido eficazmente por el aceite esencial de *Mentha piperita L.*, con un HI medio de 19,5 mm en una concentración del 100% y 7 mm en una concentración del 70%. El halo formado en el control con amoxicilina fue de 20,5 mm de diámetro, y no hubo halo de inhibición en el control negativo con cloruro de sodio al 0,9%. **Conclusión:** Las cepas de *S. mutans* son resistentes al aceite esencial de Menta a una concentración del 100%.

### 2.1.3. Antecedentes Locales:

**Cerin, Y.<sup>13</sup> (Trujillo, 2021).** En su estudio titulado: Efecto inhibitorio de el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) y *Croton Lechleri* (Sangre de grado) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Comparar el efecto inhibitorio del de ambos extractos sobre *S. mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Es de diseño experimental in vitro, prospectivo, explicativo se realizó una muestra de 10 repeticiones de extracto acuoso de *Croton lechleri* y *Cymbopogon citratus L.* en las concentraciones de 75% y 100%. **Resultados:** Se obtuvo que la *Crotón lechleri* en la concentración de 75% presentó un halo de inhibición de 9.81 mm. Al 100% presentó un halo de inhibición de 16.86 mm. En cuanto al extracto acuoso de *Cymbopogon citratus L.* (hierba luisa) en la concentración de 75% y 100% no presentó efecto inhibitorio. La mezcla del látex de *Croton lechleri* (Sangre de Grado) con el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) en la concentración de 75% presentó un efecto inhibitorio con un halo de inhibición de 8.75 mm, al 100% presentó un efecto inhibitorio con un halo de inhibición de 10.11 mm. La clorhexidina, al 0.12%, presentó un halo de inhibición de 17.57 mm.

**Conclusión:** El látex de *Crotón lechleri* al 75% y 100% presentó efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mientras que el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* L. no presentó efecto inhibitorio en ninguno de los porcentajes.

## 2.2. Bases teóricas

La caries dental, es una patología que destruye el tejido duro de la pieza dentaria como consecuencia de ácidos producidos por bacterias se fermentan al interactuar con los carbohidratos destruyendo el tejido dentario sano.<sup>3</sup>

Los signos de la desmineralización cariosa se ven en el disco duro del tejido dental, esto se inicia con la presencia de la biopelícula bacteriana (placa dental) que cubre la superficie del diente. Además, los cambios muy tempranos en el esmalte no se detectan con las técnicas clínicas y radiográficas tradicionales. Esta patología comienza con los cambios microbiológicos de la biopelícula adquirida, la cual es afectada por la composición, flujo salival, sumado al consumo de azúcares dietéticos y poca higiene dental produce la caries dental.<sup>4</sup>

Las bacterias productoras de ácido interactúan entre sí a lo largo del tiempo para provocar caries, y el sustrato donde las bacterias metabolizan los hidratos de carbono, destruyendo así el tejido sano<sup>1</sup>. Las bacterias viven en la superficie de los dientes en microcolonias que están encapsuladas en una matriz orgánica de polisacáridos, proteínas y ADN secretada por las células, que brinda protección contra desecación, defensas del huésped, depredadores y proporciona mayor resistencia a los agentes antimicrobianos.<sup>1,4</sup>

Los mecanismos del proceso de caries son similares para todo tipo de caries. Bacterias endógenas 1–15 (principalmente estreptococos, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus spp*) en la biopelícula llegan a producir ácidos productos de los carbohidratos que se fermentan. Esto hace que el pH disminuye a un valor crítico que da como resultado desmineralización de los tejidos dentales. Si la difusión de calcio, fosfato y carbonato fuera del diente, así eventualmente se producirá la cavitación.<sup>1</sup>

La desmineralización puede revertirse en sus primeras etapas a través de la absorción de calcio, fosfato y flúor.

La caries de la primera infancia es una presentación agresiva de caries dental que afecta a los dientes primarios de lactantes y niños pequeños, y típicamente se desarrolla en las superficies de los dientes anteriores y también puede afectar a lesiones primarias en molares.<sup>14</sup>

Comienza con lesiones de mancha blanca en primaria superior incisivo a lo largo del margen de la encía. Si la enfermedad continúa, la caries puede progresar y conducir a la completa destrucción de la corona. En la etapa moderada, la cavitación tiene lugar, y la caries comienza a extenderse a la parte superior molares. En casos severos, el proceso de caries destruye los dientes superiores y se extiende a los molares inferiores.<sup>15</sup>

A nivel internacional, la caries dental afecta al 60-90 % de los niños en los países industrializados y el 100 % de la población adulta a nivel mundial <sup>14</sup>. En nuestro país, el MINSA, reportó que en un 90 % la población posee caries dental, siendo un problema persistente en los individuos. <sup>14</sup>

Las biopelículas conocidas como factores microbianos están formadas en su mayoría por microcolonias bacterianas encapsuladas en una matriz polimérica extracelular. La matriz evita la eliminación mecánica y ayuda en la defensa contra las interacciones de la proteína huésped, además de actuar como una barrera de difusión de una variedad de agentes antimicrobianos naturales y artificiales.<sup>16</sup> El pH ambiental se reduce dentro de la cavidad oral, lo que conduce a la desmineralización de la hidroxiapatita, la disolución del esmalte y, en última instancia, las lesiones cariosas. <sup>17</sup>

Sin embargo, este es un punto de vista bastante simplista, a pesar de la base multifactorial bien establecida de esta enfermedad. Varios estudios han revelado que el nivel de *S. mutans* no es necesariamente alto en las biopelículas asociadas a la caries, lo que sugiere que la base microbiana de esta enfermedad es más sutil y, al mismo tiempo, más complicada. De hecho, el entorno cada

vez más ácido facilita mayores proporciones de diferentes *S. mutans* genotipos y otras especies acidogénicas.<sup>17</sup>

El *Streptococcus mutans* juega un papel crucial en el inicio de la caries y progresión. Los *Streptococcus mutans* han sido reportados como un patógeno bacteriano cariogénico primario por su capacidad para metabolizar y procesar varios carbohidratos de azúcar, formando las biopelículas en la superficie del esmalte del diente.<sup>1</sup>

Son anaerobios facultativos, cocos Gram positivos que se agrupan en cadenas cortas de 4 a 6 cocos y tienen un diámetro de 0,5 a 0,8 $\mu$ ; son un componente de la flora microbiana residente del tracto respiratorio superior y la cavidad oral. 36 + 1 °C es la temperatura ideal para su desarrollo. Su nombre hace referencia al hecho de que puede adoptar diversas formas, como la de un coco o la de un bacilo alargado.<sup>17</sup>

La superficie dental humana es su hábitat primario. Tras la erupción dental, permanece presente en la cavidad oral de forma permanente, sobre todo porque necesita un tejido firme y no descamativo para colonizar.<sup>18</sup>

El ser humano a lo largo de la historia ha realizado el constante estudio de la medicina natural y para ello utilizó mucho las plantas, debido a ello pudo clasificar en un inicio que plantas eran y no eran venenosas, debido a ello se adquirió una gran variedad de conocimiento acerca de cada planta y de como influía de manera medicinal. En la actualidad los estudios que se realizan a estas plantas son más complejos y más específicos, se busca hallar muchos beneficios que puedan ofrecer y entre ello se encuentra su valor y aporte farmacológico, ya que muchas de las plantas presentan propiedades antipiréticas, fungicidas, antibióticas, antibacterianas, y dentro de todos los plantas, se encuentran dos importantes utilizadas que son la *Cymbopogon Citratus* (Hierba luisa) y *Menta Piperita* (Menta).<sup>18</sup>

Los A.E o mejor conocidos como aceites esenciales son aquellas mezclas de compuestos orgánicos volátiles que son formados a partir de plantas naturales

y que presentan una arena de muchos vegetales. Se utilizan mucho en muchas industrias, entre ellas la alimenticia, cosmética y la que interviene en el área de la odontología que es la farmacéutica.<sup>18</sup>

Los aceites esenciales, son además también una composición compleja que se ha manifestado a través de un aproximado de 4000 aceites esenciales muy variados, de manera general los vegetales que presentan aroma son los que mayor cantidad de esencia presentan y proporcionaran mayor materia prima durante su extracción.<sup>19</sup>

Las propiedades físicas que presentan los aceites esenciales son diversas, entre los más notorios se encuentra a que son pocos solubles en agua, pero se son solubles mayormente en alcohol, también desvían la luz polarizada, generalmente los líquidos de estos aceites se encuentran a temperatura ambiente y en forma estética son ligeramente coloreados de acuerdo al color de la planta utilizada.<sup>18</sup>

La función que cumplen los aceites esenciales en las plantas es variada, un ejemplo claro es los oleos que son desechos vegetales pero que a través de ellos se producen emulsiones, estas son olores que se perciben de manera intensa y van acompañados del olor que tiene el vegetal.<sup>20</sup>

El mecanismo de acción de los aceites esenciales, se manifiesta a través de la inhibición del crecimiento bacteriano (bacteriostático) alterando la membrana de la célula, despolarizando la membrana, la pérdida del contenido celular puede terminar en la muerte de un organismo.<sup>17</sup>

Para poder elaborar un aceite esencial es importante e indispensable poder realizar una serie de procedimientos de acuerdo a la planta con la que se trabajara, es necesario seguir el protocolo o de lo contrario los resultados que se puedan obtener no serán buenos ni beneficiosos.

La menta, es una hierba muy apreciada que tiene varios usos, como aceite, hoja, extracto de hoja y agua de hoja. La mayoría de los usos son para el aceite de menta, y los datos de uso del aceite también se consideran relevantes para las

formulaciones de extracto de hojas. Esta preparación a base de hierbas se emplea en cosméticos, productos de higiene personal, alimentos y productos farmacéuticos tanto por sus propiedades aromatizantes como aromáticas.<sup>19</sup>

El aceite de menta posee un olor fresco y penetrante a mentol y un sabor acre seguido de una sensación refrescante. También tiene una variedad de propiedades terapéuticas y se utiliza en aromaterapia, preparaciones para el baño, enjuagues bucales, pastas dentales y preparaciones tópicas. Se han empleado preparaciones tópicas de aceite de menta para calmar el prurito y aliviar la irritación y la inflamación.<sup>19</sup>

Su aplicación frecuente en la piel deteriorada podría contribuir a las tasas de sensibilización observadas. Se han descrito numerosas reacciones de dermatitis alérgica de contacto al aceite de menta, muchas de las cuales están relacionadas con trastornos tanto periorales como intraorales. Aunque el aceite de menta es conocido por sus numerosas propiedades, debe reconocerse su papel como sensibilizador para ayudar en el diagnóstico de dermatitis y afecciones orales y para permitir el inicio de las medidas de prevención adecuadas.<sup>20</sup>

Los principales componentes son el mentol, mentona, neomentol e isomentona, es una mezcla de metabolitos volátiles con actividades antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, escolicidas, inmunomoduladoras, antitumorales, neuroprotectoras, antifatiga y antioxidantes. Puede actuar sinérgicamente con otros agentes para producir efectos antibacterianos sinérgicos contra microorganismos grampositivos y gramnegativos. Las actividades biológicas del aceite esencial de *menta* en combinación con gentamicina requerida es utilizada para destruir la integridad de la membrana celular bacteriana reduciéndolas significativamente, así mismo pueden dificultar la formación de biopelículas bacterianas y reducir la actividad de las biopelículas y la adhesión bacteriana.<sup>20</sup>

Las hojas de la hierba luisa (*Aloysia citriodora PALÁU*) son mundialmente empleadas por sus propiedades medicinales y aromáticas. Los contenidos de aceites esenciales y acteosidos se han propuesto como los principales

marcadores de calidad por sus características farmacológicas y organolépticas. Es un antioxidante natural para aumentar la estabilidad del aceite de girasol, y se compararon los efectos de estabilización en términos de condiciones de almacenamiento con el antioxidante sintético.<sup>21</sup>

Los beneficios medicinales de *C. citratus* incluyen el alivio de la indigestión y los problemas estomacales, la reducción del estrés, el alivio del dolor de fiebres y resfriados y el tratamiento de la artritis. En Nigeria y algunos otros países africanos, algunas personas consumen cocciones etanólicas hecho de hojas de *C. citratus* bajo la creencia de que puede curar variedad de enfermedades. Numerosos estudios han demostrado el uso generalizado de *C. citratus* en la medicina herbal de todo el mundo para diversos fines, como sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiprotozoarias, anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, cardioprotectoras, antitusivas, antisépticas y antirreumáticas.<sup>21</sup>

Además, se ha utilizado en aromaterapia, cosmetología, el tratamiento de la diabetes, la dislipidemia, los trastornos gastrointestinales, la ansiedad, la malaria, la gripe, la fiebre y la neumonía para inhibir la agregación plaquetaria. Además de sus aplicaciones terapéuticas, *C. citratus* también se utiliza como aromatizante y conservante en refrescos y productos de panadería.<sup>22</sup>

Varios estudios evaluaron la composición fitoquímica de *C. citratus* y ha revelado la existencia de terpenos, aldehídos, alcoholes y ésteres, además de saponinas, taninos, antraquinonas, flavonoides, citral, fenoles y alcaloides. Además, otros componentes han sido detectados, incluyendo mirceno, geranial, geraniol, limoneno, burneol, citronelol nerol,  $\alpha$ -terpineol, elemicina, catecol, luteolina, 6-C y 7-C-glucósidos, ácido cafeico, apigenina, luteolina, kaempferol, quercetina, ácido clorogénico y acetato de geranilo. Fumesol, furfurool, isopulegol, aldehído isovaleránico, L-linalool, metilheptenona, aldehído n-decíclico, nerol, terpineona, ácido p-cumárico y ésteres valéricos también se han encontrado en algunos estudios la presencia de isoscoparina, swertiajaponina y orientina en *C. citratus*, junto con muchos otros fitoquímicos reportados recientemente. como electrolitos y minerales (incluyendo sodio,

potasio, calcio, cobre, magnesio, manganeso, selenio, fósforo, hierro y zinc), vitaminas (incluyendo folato, niacina, piridoxina, riboflavina y vitaminas A, C y E) y macronutrientes (carbohidratos, proteínas) y una pequeña cantidad de grasa, se sugiere que estos componentes fitoquímicos son responsables de la amplia gama de productos biológicos y terapéuticos.<sup>22</sup>

### 2.3. Hipótesis

**H<sub>1</sub>:** La concentración del extracto hidroetanolico de *Mentha piperita L.* combinado con el extracto hidroetanólico *Cimbopogon citratus* al 100% presenta mayor efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

#### **Hipótesis estadísticas:**

**H<sub>0</sub>:** No existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanolico de *Mentha piperita L.* combinado con el extracto hidroetanólico *Cimbopogon citratus* frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

**H<sub>a</sub>:** Si existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanolico de *Mentha piperita L.* combinado con el extracto hidroetanólico *Cimbopogon citratus* frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

### **III. Metodología**

#### **3.1. Nivel, tipo y diseño de la investigación**

##### **Nivel de la investigación, es Analítico:**

El presente trabajo es una investigación de nivel analítico, se orienta a establecer las causas que originan un fenómeno determinado. Se trata de un tipo de investigación cuantitativa que descubre el por qué y el para qué de un fenómeno.<sup>23</sup>

##### **Tipo de investigación**

##### **Según el enfoque o paradigma optado, es cuantitativo:**

- Según Hernández, Fernández y Sampieri, para identificar patrones de comportamiento y probar teorías, se realiza una recopilación de datos basada en mediciones numéricas y análisis estadísticos.<sup>23</sup>

##### **Según la intervención del investigador, es observacional:**

- Según Hernández, Fernández y Sampieri, el investigador no interviene; los datos describen los acontecimientos tal y como se desarrollan de forma natural, independientemente del investigador.<sup>23</sup>

##### **Según planificación de la toma de datos, es prospectivo:**

- Según Hernández, Fernández y Sampieri, a medida que se suceden los acontecimientos, se recogen datos y también información significativa para la investigación.<sup>23</sup>

##### **Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio, es transversal:**

- Según Hernández, Fernández y Sampieri, las variables relacionadas con el tratamiento se miden una sola vez.<sup>23</sup>

##### **Según el número de muestras a estudiar, Analítico:**

- Según Hernández, Fernández y Sampieri, los estudios analíticos se caracterizan porque pretenden buscar una hipotética relación entre variables.<sup>23</sup>

## Diseño de la investigación

Dado que su objetivo es cuantificar el impacto de la variable independiente en la variable dependiente, el método es experimental.<sup>23</sup>

Este estudio busco medir el efecto de los colutorios sobre cepas de *S. mutans* ATCC 25175.

$$\frac{\text{GA: } 0_1 \text{ X } 0_2}{\text{GC: } 0_3 \quad 0_4}$$

Donde: G.A. (grupo Experimental)

G.C.: Grupo Control

0<sub>1</sub> y 0<sub>3</sub>: Datos de pre prueba

0<sub>2</sub> y 0<sub>4</sub>: Datos de pos prueba

X: manipulación de variable

### 3.2. Población y muestra

Los cultivos puros de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 constituirán la población.

#### Criterios de selección:

#### Criterios de inclusión:

- Cajas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### Criterios de exclusión

- Placas de Petri contaminadas durante un experimento o que muestren indicios de contaminación tras haber sido inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### 3.2.1. Muestra

Estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo experimental, siendo 10 para *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L al 100%*.; 10 repeticiones al 75% y 10 repeticiones al 50%. También 10 repeticiones para *Mentha piperita L. al 100%*.; 10 repeticiones al 75% y 10 repeticiones al 50%. Asimismo, 10 repeticiones para *Cymbopogon citratus L al 100%*.; 10 repeticiones al 75% y 10 repeticiones al 50%. Se consideraron también 10 repeticiones para el control positivo Clorhexidina 0,12% y 10 repeticiones para control negativo Etanol 70°; todas las repeticiones sobre cepas *Streptococcus mutans ATCC 25175*".

Por ser un estudio in vitro, la población se consideró infinita, por lo que el tamaño de la muestra se determinó por la fórmula de comparación de medias:

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

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:

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

**Muestreo:** La técnica de muestreo fue no probabilística por conveniencia: debido a que las unidades de estudio fueron seleccionadas dada la conveniencia, accesibilidad y proximidad con el investigador.

### 3.3. Variables. Definición y operacionalización

VARIABLES	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
Extracto hidroetanólico	Se evaluará el efecto del extracto hidroetanólico sobre <i>S. Mutans</i> . <sup>20</sup>	Extracto hidroetanólico de <i>Mentha piperita L.</i>	Concentración del colutorio	Razón Continua Cuantitativa	1=50% 2=75% 3=100%
		Extracto hidroetanólico de <i>Cymbopogon citratus L.</i>	Concentración del colutorio	Razón Continua Cuantitativa	1=50% 2=75% 3=100%
<b>Efecto antibacteriano sobre el <i>S. mutans</i></b>	Inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto hidroetanólico de <i>Mentha piperita L.</i> y <i>Cymbopogon citratus L.</i> <sup>18</sup>	ATCC 25175	Diámetro del halo de inhibición	Razón Discreta Cuantitativa	1=Nula (-) (< 8mm) 2=Sensible (+) (8-14 mm) 3=Muy sensible (++) (15-20 mm) 4=Sumamente sensible (+++) (>20 mm)
			Escala de Duraffourd	Razón Discreta Cuantitativa	

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de información**

#### **3.4.1. Técnica**

Observación clínica.

#### **3.4.2. Instrumento**

En un formulario de recogida de datos elaborado para el estudio, se anotaron los valores del efecto antibacteriano.

#### **3.4.3. Procedimiento**

##### **Obtención del extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* y el *Cymbopogon citratus L.***

Las hojas de *Mentha piperita L.* se limpiarán con agua, se esterilizaron con alcohol al 70 por ciento y luego se secarán durante cuatro horas en un horno a 50 grados. Luego se molieron manualmente y se agregarán a un frasco de vidrio ámbar en una proporción de 250 g de material triturado por cada 1000 mL de etanol al 100%. Luego se dejará macerar la mezcla durante una semana mientras se agitaba todos los días.

El producto se someterá a tres filtraciones separadas: una vez usando papel de filtro Whatman No.3, una vez usando papel de filtro Whatman No. 2 y una vez más usando papel Whatman No.1. El sobrenadante filtrado se colocará en un Rotavapor, que eliminará el solvente para producir el extracto, que luego se secará, se pasará y usará para crear concentraciones de 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml. y 5 mg. Inmediatamente después de la preparación, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml, 15 Se utilizarán después (mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml y 20 mg/ml). La planta *Cymbopogon citratus L.* se tratará con la misma técnica.

##### **Obtención de *Streptococcus mutans ATCC 25175* en cultivo puro**

Previo al cultivo de las cepas, el investigador principal realizará un cultivo puro de *Streptococcus mutans ATCC 25175* en la Facultad de Medicina de la

Universidad Nacional de Trujillo en el laboratorio de Microbiología bajo la guía de un microbiólogo. Este cultivo puro será luego confirmado fenotípicamente en el Hospital Regional de Lambayeque en el Laboratorio de Bacteriología del mediante el sistema automatizado Microscan.

### **Reactivación de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

La cepa antes mencionada se revivió en placas de Petri utilizando Agar Sangre (al agar a base de sangre Merck se le añadirá 5% de sangre de carnero desfibrinada). Para crear condiciones anaeróbicas, las placas que contendrán *S. mutans* se incubaron a 37 °C en un frasco Gaspak en un horno de laboratorio. Se utilizará una placa de agar *Mitis Salivarius* (MS) para reproducir *S. mutans* en tubos de ensayo con el fin de preservar las cepas hasta que se terminarán todas las réplicas.

Preparación de medios de cultivo: Se utilizará agar Mueller Hinton por MERCK y caldo Mueller Hinton por MERCK como medio de cultivo; el primero será para el conteo de UFC y el segundo será para crear la suspensión bacteriana que sería analizada y la CIM. Serán producidos de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Preparación y estandarización de inóculos: Se realizará mediante el método Al-Delaimy, que emplea tecnología turbimétrica (nefelómetro MacFarland). Del cultivo puro de *Streptococcus mutans* de 18 horas se elegirán tres colonias bien aisladas de la misma morfología y se tomará una suspensión. elaborado en 5 mL de agua destilada estéril. El objetivo será alcanzar una concentración comparable a la escala 0,5 del nefelómetro MacFarland, o alrededor de 1,5 x 10<sup>8</sup> CFU/ml. Usando un espectrofotómetro UNICO S2100 UV+, se medirá la absorbencia a 625 nm y se encontrará que era apropiada a 0,09 (el procedimiento determinará que debería estar entre 0,08 y 0,10, lo que se sugiere). El enfoque exige utilizar el inóculo producido en 15 minutos.

Concentraciones de preparados de extractos hidroetanólico de *Mentha piperita* L. y *Cymbopogon citratus* L.: Luego de obtendrá el extracto hidroetanólico de

$$\text{Mg de soluto} \times \text{ml de solución solvente} = \text{Concentración mg/ml}$$

*Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.*, se pesará y diluirá en la solución de extracción utilizando el siguiente procedimiento para determinar la concentración a ensayar.

Prueba de susceptibilidad bacteriana: Tanto el método de difusión en disco como el método de recuento de UFC en placa se utilizarán en la prueba de susceptibilidad antibacteriana. Calcular el MIC y CMB en el primer experimento, y cuantificar el diámetro de los halos inhibitorios en el segundo. Para determinar la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos, el CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio) recomienda utilizar ambos enfoques.

Uso del Test de Microdilución en Caldo para determinar la MIC y CMB: El método de microdilución en caldo se utiliza para medir la acción in vitro de un agente antibacteriano contra las bacterias. Se instalarán cuatro microplacas para el experimento, y cada pocillo recibirá 100 l de caldo Mueller-Hinton. Posteriormente se adicionarán diversas concentraciones del agente antimicrobiano a ensayar, que en nuestro caso será el extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* en concentraciones volumétricas de 1mg/ml, 2mg/ml, 3mg/ml, 4mg/ml, 5mg/ ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml, 15 mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml y 20 mg/ml.<sup>12</sup>

La concentración bacteriana final de cada evaluación será de  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Las microplacas se incubarán durante 24 horas a 36 °C en condiciones anaeróbicas después de la inoculación, momento en el que se calcularán la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración bactericida mínima (CMB) de los extractos. La microplaca que se utilizará tiene 96 pocillos, un fondo en U y se esterilizará con UV en una sala de bioseguridad de nivel II.<sup>13</sup>

Se introducen 50 ml de suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans* en tubos de ensayo estériles para iniciar el proceso de preparación. A continuación, se mezclarán inmediatamente utilizando una micropipeta de rango configurable. La concentración bacteriana final de cada evaluación será de  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Las microplacas se incubaron durante 24 horas a 36 °C

en condiciones anaeróbicas después de la inoculación, momento en el que se calcularán la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración bactericida mínima (CMB) de los extractos. La microplaca que se utilizará tiene 96 pocillos, un fondo en U y se esterilizará con UV en una sala de bioseguridad de nivel II. 13

Prueba de difusión en disco: Se eligieran dos colonias bien aisladas con igual morfología del cultivo de 24 horas de *S. mutans* y una solución salina fisiológica estéril de 5 ml en la que se suspendieron. La turbidez de esta suspensión alcanzó 0,5 en la escala de Mc Farland. lo que equivale a alrededor de  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml, según lo confirmado por un espectrofotómetro UV-VISIBLE de la marca UNICO.

### **3.5. Método de análisis de datos**

Para el plan de análisis de ficha de recolección de datos se procesarán en el programa IBM SPSS Statistic v.26 para establecer si existirá diferencias entre los halos de inhibición por extracto evaluado.

Se realizó la prueba de normalidad que verificó que las muestras provienen de una población con distribución no normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Se utilizó la prueba estadística no paramétrica Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del 5%. (Ver anexo 7).

### 3.6. Aspectos éticos

La presente investigación tomará en cuenta los principios éticos contemplados en el Reglamento de integridad científica versión 001, aprobado por Consejo Universitario con Resolución N° 0304-2023-CU-ULADECH Católica, de fecha 31 de marzo de 2023:<sup>24</sup>

**Respeto por el medio ambiente y la biodiversidad.** - Toda investigación debe anteponer el bienestar de los animales, el medio ambiente y las plantas a cualquier objetivo científico, y debe tomar precauciones para prevenir daños y desarrollar formas de disminuir las consecuencias negativas. <sup>24</sup>

**Justicia.**- El investigador debe anteponer el bien público y la justicia a sus propios intereses personales. Además, ejerza un juicio razonable y asegúrese de que las limitaciones de sus conocimientos, habilidades o sesgos no den lugar a prácticas desleales. Toda persona que participe en los procesos, procedimientos y servicios de la investigación, así como cualquier persona que tenga acceso a sus hallazgos, debe recibir un trato justo por parte del investigador. <sup>24</sup>

**Integridad científica.**- El investigador (estudiantes, egresados, docentes y no docentes) debe evitar engaños en todas las fases del estudio; revisar y divulgar los posibles riesgos, ventajas o daños que podrían experimentar los participantes del estudio; y evaluar y declarar la validez de cualquier hallazgo. El investigador también debe proceder con rigor científico, asegurándose de que sus fuentes, técnicas y datos sean confiables. Además, debe garantizar la precisión de cada paso del proceso de investigación, incluida la ideación, creación, análisis y difusión de los resultados. <sup>24</sup>

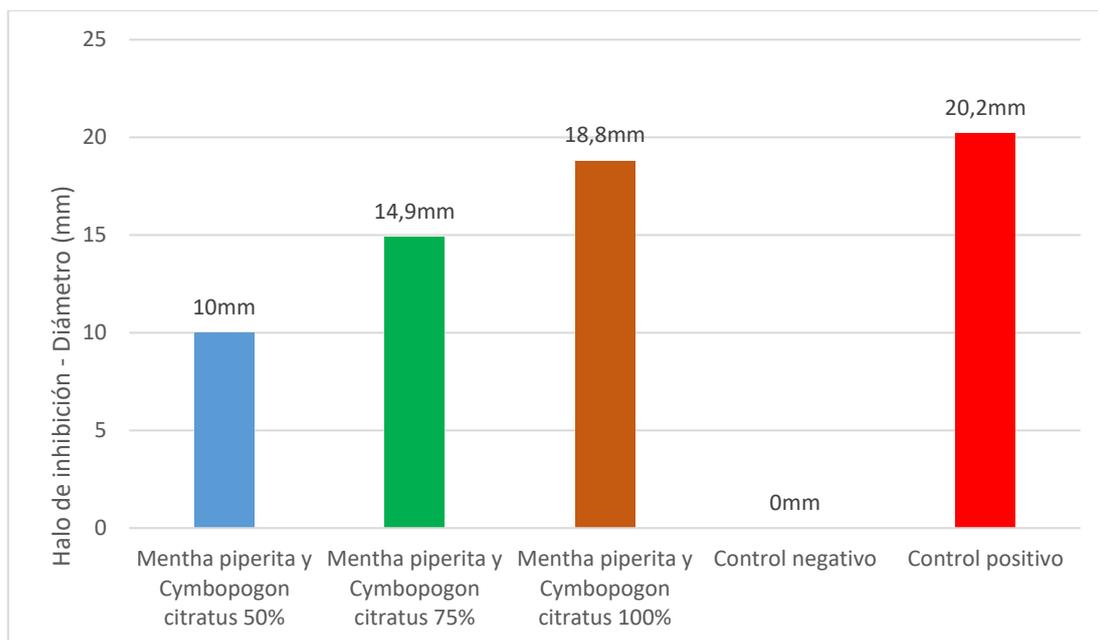
#### IV. RESULTADOS

**Tabla 1.** Efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo - 2021

<i>Extractos</i>	<i>f</i>	<i>Diámetro (mm)</i>		<i>Sig. (p)*</i>
		<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	
<i>Mentha piperita L. y Cymbopogon citratus L. 50%</i>	10	10	0,33	
<i>Mentha piperita L. y Cymbopogon citratus L. 75%</i>	10	14,9	0,36	
<i>Mentha piperita L. y Cymbopogon citratus L. 100%</i>	10	18,8	0,43	0,000
<i>Control Negativo (SSFe)</i>	10	0,00	0	
<i>Control Positivo Gluconato de Clorhexidina 0.12%</i>	10	20,2	0,67	

**Fuente:** Instrumento de recolección de información 2021

*p\**: prueba KRUSKALL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0,05$ )



**Fuente:** Datos de la Tabla 1

Figura 1. Efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 2517.*

**Interpretación:** En la tabla 01, se observa que los extractos evaluados la combinación de los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*; según el promedio del halo de inhibición a la concentración de 50% fue de 10 mm con una desviación estándar de 0,33; a la concentración de 75% fue de 14,9 mm (sensible) con una desviación estándar de 0,43 y a la concentración de 100% fue de 18,8 mm y la desviación estándar fue de 0,43 (muy sensible); el grupo C- no se observó ningún halo de inhibición y el C+ gluconato de Clorhexidina 0,12% fue de 20,2 mm (sumamente sensible).

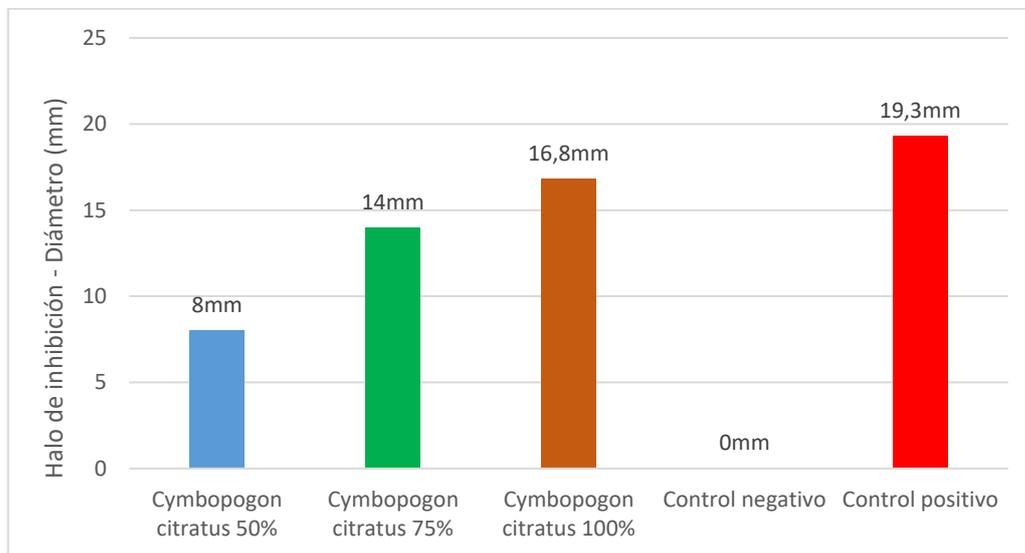
Se realizó la prueba de hipótesis ejecutando la prueba estadística no paramétrica de Análisis de Kruskal Wallis, la cual muestra una significancia estadística  $p=0,000 < 0,05$ ; por lo que se acepta la hipótesis de investigación, lo que indica que los extractos hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) en sus diferentes concentraciones tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans ATCC 25175.*

**Tabla 2.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2021.

Extractos	f	Diámetro (mm)		Sig. (p)*
		Media	Desviación típica	
<i>Cymbopogon citratus</i> L. 50%	10	8	0,13	
<i>Cymbopogon citratus</i> L. 75%	10	14	0,38	
<i>Cymbopogon citratus</i> L. 100%	10	16,8	0,42	0,000
Control Negativo (SSFe)	10	0,00	0	
Control Positivo de Gluconato de Clorhexidina 0.12%	10	19,3	0,72	

**Fuente:** Instrumento de recolección de información 2021

p\*: prueba KRUSKALL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0,05$ )



**Fuente:** Tabla 2

**Figura 2.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Interpretación:**

En la tabla 02, se observa que los extractos evaluados el extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*; según el promedio del halo de inhibición a la concentración de 50% fue de 8 mm (poco sensible) con una desviación estándar de 0,13 mm; a la concentración de 75% fue de 14 (sensible) con una desviación estándar de 0,38 y a la concentración de 100% fue de 16,8mm la desviación estándar fue de 0,42 (muy sensible); el grupo C- no se observó ningún halo de inhibición y el C+ gluconato de Clorhexidina 0,12% fue de 19,3 (sumamente sensible) con una desviación estándar de 0,72.

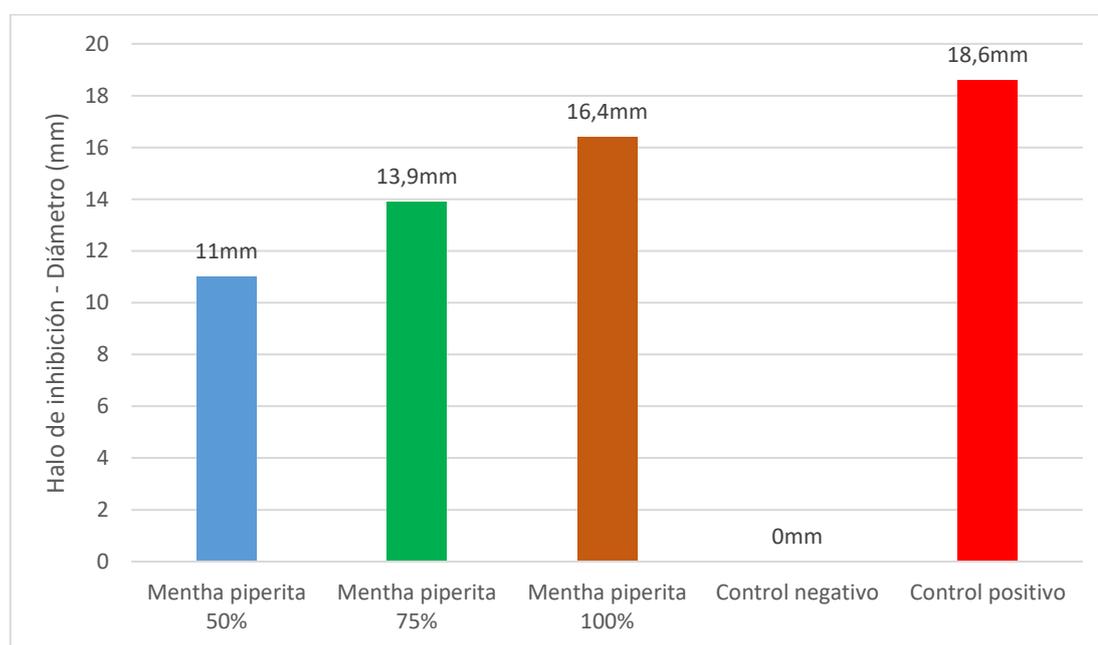
Se realizó la prueba de hipótesis ejecutando la prueba estadística no paramétrica de Análisis de Kruskal Wallis, la cual muestra una significancia estadística  $p=0,000 < 0,05$ ; por lo que se acepta la hipótesis de investigación, lo que indica que el extracto de *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) en sus diferentes concentraciones tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

**Tabla 3.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, Trujillo – 2021.

<i>Extractos</i>	<i>f</i>	<i>Diámetro (mm)</i>		<i>Sig. (p)*</i>
		<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	
<i>Mentha piperita L. 50%</i>	10	11	0,13	
<i>Mentha piperita L. 75%</i>	10	13,9	0,37	
<i>Mentha piperita L. 100%</i>	10	16,4	0,40	
<i>Control Negativo (SSFe)</i>	10	0,00	0	0,000
<i>Control Positivo</i>				
<i>Gluconato de Clorhexidina 0.12%</i>	10	18,6	0,71	

**Fuente:** Instrumento de recolección de información 2021

*p*\*: prueba KRUSKALL WALLIS, nivel de significancia estadística ( $p < 0,05$ )



**Fuente:** Tabla 3

**Figura 3.** Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

### **Interpretación:**

En la tabla 03, se observa que los extractos evaluados el extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*; según el promedio del halo de inhibición a la concentración de 50% fue de 11 mm (sensible) con una desviación estándar de 0,13 mm; a la concentración de 75% fue de 13,9 (sensible) con una desviación estándar de 0,37 y a la concentración de 100% fue de 16,4 mm la desviación estándar fue de 0,40 (muy sensible); el grupo C- no se observó ningún halo de inhibición y el C+ gluconato de Clorhexidina 0,12% fue de 18,6 (sumamente sensible) con una desviación estándar de 0,71

Se realizó la prueba de hipótesis ejecutando la prueba estadística no paramétrica de Análisis de Kruskal Wallis, la cual muestra una significancia estadística  $p=0,000 < 0,05$ ; por lo que se acepta la hipótesis de investigación, lo que indica que el extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) en sus diferentes concentraciones tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

## DISCUSIÓN

Al evaluar el efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanólicos de *Mentha piperita L.* (Menta) y *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, se obtuvo que la concentración del 100 % presentó mayor efecto inhibitorio obteniendo un 18,8 mm; esto presentó una similitud con el estudio realizado por **Cardenas A, Farfán V<sup>9</sup> (Piura, 2021)**, obteniendo un 20,94 mm siendo muy sensible ante la bacteria *Streptococcus mutans*, esto pudo ocurrir por qué ambas plantas poseen el efecto antibacteriano provocando la inhibición de las bacterias como es el caso de *Mentha piperita L.* debido a la sinergia de sus componentes existentes en sus hojas da el efecto antibacteriano y en el caso de *Cymbopogon citratus L.* donde las hojas de esta planta están compuestas por el citral siendo este el más resaltante que le da la propiedad antibacteriana, a la combinación de ambas plantas se refuerzan entre sí esta propiedad inhibiendo a las bacterias como son los *S. mutans*.

Se evaluó el mayor efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, obteniendo que el mayor efecto inhibitorio fue a la concentración del 100 % con un 16,8 y una desviación estándar de 0,42. Esto presentó una coincidencia con las investigaciones de **Rojas G.<sup>12</sup> (Chiclayo, 2019)** obtuvo un 19,5 mm y **Cardenas A, Farfán V<sup>9</sup> (Piura, 2021)** con un 12,19 mm, difiriendo del estudio de **Feitosa V, Dantas R, Wanderley Y, Nascimento W.<sup>4</sup> (Cuba, 2020)** donde solo obtuvo un 9 mm en la concentración del 100 %; esto se sustenta, ya que la planta compuesta por mentol, mentona, neomentol e isomentona, es una mezcla de metabolitos volátiles con actividades antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, escolicidas, inmunomoduladoras, antitumorales, neuroprotectoras, antifatiga y antioxidantes. Puede actuar sinérgicamente con otros agentes para producir efectos antibacterianos sinérgicos contra microorganismos grampositivos y gramnegativos.

Al evaluar el mayor efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*; fue al 100 % con un 16,8 mm y una desviación estándar de 0,40; esto presentó similitud con

el estudio realizado por **Giles M.<sup>8</sup> (Ecuador, 2018)** con un 12,1 mm; **Cardenas A, Farfán V<sup>9</sup> (Piura, 2021)** con un 16,37 mm; **Quintos D.<sup>10</sup> (Chiclayo, 2019)** con un 18 mm y **Guerra M, Valdez R.<sup>11</sup> (Cajamarca, 2019)** con 14,1 mm; esto pudo darse porque *Cymbopogon citratus L.* en su composición fitoquímica se han mostrado la presencia de saponinas, taninos, antraquinonas, flavonoides, fenoles y alcaloides, además de terpenos, aldehídos, alcoholes y ésteres; así mismo en las hojas de la planta encontramos el citral en más del 30 %, como también limoneno, cineol, linalol, terpineol y aldehído, estos componentes son los principales responsables de las propiedades antibacterianas es por esto que existe la inhibición de los *S. mutans* antes esta planta. Al contrario, **Cerin Y.<sup>13</sup> (Trujillo, 2021)** en su investigación no obtuvo ningún efecto antibacteriano de *Cymbopogon citratus L.* frente a la bacteria.

## V. CONCLUSIONES

1. La combinación de los extractos de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* al 100% presentó mayor efecto antibacteriano frente *Streptococcus mutans ATCC 25175*, debido a que se combinan ambos principios activos para generar una mayor efectividad.
2. La concentración al 100% posee mayor efecto inhibitorio del extracto hidroetanólico de la *Cymbopogon citratus L.* (Hierba Luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, debido a que al ser a una concentración al 100% es superior a las demás concentraciones.
3. La concentración al 100% posee mayor efecto inhibitorio del extracto hidroetanólico de la *Mentha piperita L.* (Menta) frente a cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175*, debido a que al ser a una concentración al 100% es superior a las demás concentraciones.

## VI. RECOMENCACIONES

1. Realizar estudios utilizando especies naturales, para verificar si la bacteria utilizada presenta mayor sensibilidad frente a las diferentes concentraciones de la planta.
2. Realizar estudios utilizando otro tipo de extractos, para determinar el efecto antibacteriano de forma individual o combinado.
3. El aporte del investigador se da en combinar el efecto de *Mentha piperita L.* y *Cymbopogon citratus L.* dando el valor agregado de conocer el efecto antibacteriano de esta combinación, para que sirva de base en futuros estudios.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Forssten S, Bjorklund M, Ouwehand A. *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models. *Nutrients* [Internet]. 2010 [citado 05 Jul 2023];2:290–8. Disponible en
2. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Rev CES Odontol* [Internet]. 2013 [citado 05 Jul 2023];26(1):44–56. Disponible en
3. American Type Culture Collection. *Streptococcus mutans* Clarke. ATCC [Internet]. 2009 [citado 05 Jul 2023]; Disponible en
4. Feitosa V, Dantas R, Wanderley Y, Nascimento W. Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales para su uso en el Sistema Único de Salud. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2019 [citado 05 Jul 2023];56(4):34–55. Disponible en
5. Milho C, Silva J, Guimaraes R, Ferreira I, Barros L, Alves M. Antimicrobials from Medicinal Plants: An Emergent Strategy to Control Oral Biofilms. *Appl Sci* [Internet]. 2021 [citado 05 Jul 2023];11(9):4020. Disponible en
6. Mostafa D, Bayoumi F, Taher H, Elissa T. Antimicrobial potential of *Mentha* Spp. essential oils as raw and loaded solid lipid nanoparticles against dental caries. *Res J Pharm Technol* [Internet]. 2020 [citado 05 Jul 2023];13(9). Disponible en
7. Rubio M. Evaluación in vitro antimicrobiana y coagulante de los extractos etanólicos de *Heterotheca inuloides*, *Mentha piperita* L. y *Amphyptergium adstringens* como alternativa terapéutica en Odontopediatría [Internet]. [México]: Universidad Autónoma Nuevo León; 2019 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
8. Giler J. Efecto in vitro antimicrobiano del extracto etanolico de la Hierba Luisa *Cymbopogon citratus* L. sobre *Streptococcus mutans*. [Internet]. [Ecuador]: Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2018 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en

9. Cárdenas A, Farfán V. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus* L. (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. [Piura]: Universidad César Vallejo; 2021 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
10. Quintos D. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* L. “hierba luisa” contra la cepas del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. [Chiclayo]: Universidad Señor de Sipán; 2019 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
11. Guerra M, Valdez R. Actividad antibacteriana del colutorio a base del aceite esencial de las hojas de *Cymbopogon citratus* L. “Hierba Luisa” en cepas aisladas de *Streptococcus mutans* de niños de la I.E. 82003 “Nuestra Señora De La Merced” Cajamarca 2018 [Internet]. [Cajamarca]: Universidad Antonio Guillermo Urrelo; 2019 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
12. Rojas G. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha piperita* L. “Menta” sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Internet]. [Chiclayo]: Universidad Señor de Sipán; 2019 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
13. Cerin Y. Efecto inhibitorio del látex de *Croton lechleri* (Sangre de Grado) y del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* L. (Hierba Luisa), sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Internet]. [Trujillo]: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2021 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
14. Organización Mundial de la Salud. Salud Bucodental [Internet]. Disponible en
15. MINSA. Minsa: Caries dental, gingivitis y periodontitis son enfermedades bucales con mayor prevalencia en menores entre 3 y 15 años [Internet]. Gobierno del Perú. 2021 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
16. Martins S, Álvarez E, Abanto J, Cabrera A, López R, Masoli C, et al. Epidemiología de la caries dental en américa latina. Rev Odontopediatría Latinoam [Internet]. 2021 [citado 05 Jul 2023];4(2). Disponible en
17. Porte L, Braun S, Dabanch J, Egaña A, Andrighetti D. *Streptococcus mutans*:

- Una bacteria que hace honor a su nombre. Rev Chil infectología [Internet]. 2009 [citado 05 Jul 2023];26(6):571. Disponible en
18. Gamboa F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of *Streptococcus mutans*: Research Experiences. Univ Odontol [Internet]. 2015 [citado 05 Jul 2023];33(71):65–73. Disponible en
  19. McKay D, Blumberg J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L. L.). Phytother Res [Internet]. 2006 [citado 05 Jul 2023];20(8):619–33. Disponible en
  20. Herro E, Jacob S. *Mentha piperita* L. (peppermint). Dermatitis [Internet]. 2010 [citado 05 Jul 2023];21(6):327–9. Disponible en
  21. Morillo J, Blaseca I. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* L. sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro. Rev Odontol [Internet]. 2018 [citado 05 Jul 2023];20(2):5–13. Disponible en
  22. Baca L. Efectos antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de: *Foeniculum Vulgare* (Hinojo), *Cymbopogon citrus* (Hierba Luisa), *Origanum vulgare* (Orégano), *Citrus aurantifolia* swingle (Limón) y *Citrus sinesis* (Naranja), frente a Cepas estandarizadas de *Streptococcus mutans*, Cusco 2016 [Internet]. [Cusco]: Universidad Andina de Cusco; 2017 [citado 05 Jul 2023]. Disponible en
  23. Hernández R, Fernandez C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6th ed. México: México: Mc Graw Hill Edition; 2014.
  24. Comité Institucional de Ética en Investigación ULADECH. Reglamento de integridad científica versión 001. [Internet]. Chimbote; 2022 [citado 05 Jul 2023]

## ANEXOS

### Anexo 1: Matriz de consistencia

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p><b>Problema General</b></p> <p>¿Existe efecto antibacteriano de los extractos hidroetanolicos de <i>Mentha piperita</i> L. (Menta) y <i>Cymbopogon citratus</i> L. (Hierba Luisa) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <p>¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico <i>Cymbopogon citratus</i> L. (Hierba Luisa) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p>¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico <i>Mentha piperita</i> L. (Menta) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano de la combinación de los extractos hidroetanolicos de <i>Mentha piperita</i> L. (Menta) y <i>Cymbopogon citratus</i> L. (Hierba Luisa) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <p>-Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico <i>Cymbopogon citratus</i> L. (Hierba Luisa) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>-Evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico <i>Mentha piperita</i> L. (Menta) frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p><b>Ha:</b> Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanolicos de <i>Mentha piperita</i> L. combinado con el extracto hidroetanólico <i>Cymbopogon citratus</i> frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p><b>H0:</b> No existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanolicos de <i>Mentha piperita</i> L. combinado con el extracto hidroetanólico <i>Cymbopogon citratus</i> frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p><b>Variable 1:</b></p> <p>Extractos de <i>Mentha piperita</i> L. y extracto de <i>Cymbopogon citratus</i> L.</p> <p><b>Variable 2:</b></p> <p>Efecto antibacteriano sobre el <i>S. mutans</i></p>	<p><b>Tipo, nivel y diseño</b></p> <p>La investigación es de tipo cuantitativo, observacional, prospectivo, transversal, analítico, de nivel explicativo, y de diseño experimental (correlacional).</p> <p><b>Población</b></p> <p>Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p><b>Muestra</b></p> <p>Estuvo dada por 10 placas Petri por cada extracto hidroetanolicos.</p>

Anexo 2: Instrumento de recolección de información



**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS  
HIDROETANÓLICOS DE *Mentha piperita* L. (MENTA) Y  
*Cymbopogon citratus* L. (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS  
DE *Streptococcus mutans* ATCC 2517**

**Autor:** Benites Flores, Carlos Edilberto

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Extracto Hidroetanólico:**

- Mentha piperita* L. (MENTA) Y *Cymbopogon citratus* L.  
 *Cymbopogon citratus* L. (HIERBA LUISA)  
 *Mentha piperita* L. (MENTA)

Concentración	50%	75%	100 %	C+	C-
Repeticiones	Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (mm)				
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					

### **Anexo 3: Validez del instrumento**

No requiere

#### **Anexo 4: Confiabilidad del instrumento**

No requiere.

## **Anexo 5: Formato de consentimiento informado**

No requiere, se realizó un estudio experimental.

## Anexo 6: Documento de aprobación de institución



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

### CARTA DE ACEPTACIÓN DE ASESORÍA DE LA EJECUCION DEL PROYECTO DE INVESTIGACION

**Título de la tesis:** “Efecto antibacteriano de los extractos hidroetanólicos de *Mentha piperita* (MENTA) Y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2021”

**Investigador:** Benites Flores, Carlos Edilberto

Yo, **Manuela Natividad Luján Velásquez**, **Biólogo – Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Bilógicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 2132**, declaro que he realizado el proceso de asesoramiento en la ejecución de su estudio con el investigador **Benites Flores, Carlos Edilberto**; con fines académicos para la ejecución de su proyecto de tesis.

Trujillo 07 de octubre del 2021.

Cordialmente.

Manuela Natividad Luján Velásquez  
docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología,  
Universidad Nacional de Trujillo

Manuela N. Luján Velásquez  
BIÓLOGO MICROBIÓLOGO  
C.B.P. 2132

## CONSTANCIA

Yo, **Manuela Natividad Luján Velásquez**, Biólogo – Microbiólogo 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 estar asesorando al alumno **Benites Flores, Carlos Edilberto** de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, de la Carrera Profesional De Odontología en la parte microbiológica planeada en el proyecto titulado “EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE MENTHA PIPERITA (MENTA) Y CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, Trujillo – 2021.”

Trujillo 20 de octubre del 2021.

Manuela Natividad Luján Velásquez  
docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología,  
Universidad Nacional de Trujillo

Manuela N. Luján Velásquez  
BIÓLOGO MICROBIÓLOGO  
C.B.P. 2132

## Anexo 7: Evidencias de ejecución

### Prueba de normalidad

---

<b>Pruebas de normalidad</b>			
<i>Cymbopogon citratus L.</i>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
50%	,366	10	,000
75%	,381	10	,000
100%	,609	10	,000
C+	,603	10	,000
C-	.	10	.

---

a. Corrección de significación de Lilliefors

---

---

<b>Pruebas de normalidad</b>			
<i>Mentha piperita L.</i>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
50%	,381	10	,000
75%	,521	10	,000
100%	,481	10	,000
C+	,518	10	,000
C-	.	10	.

---

a. Corrección de significación de Lilliefors

---

---

<b>Pruebas de normalidad</b>			
<i>Cymbopogon citratus L. y Mentha piperita L.</i>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
50%	,426	10	,000
75%	,480	10	,000
100%	,430	10	,000
C+	,518	10	,000
C-	.	10	.

---

a. Corrección de significación de Lilliefors

---

**Interpretación:** Al tener menos de 30 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde observamos que los datos presentan una distribución no normal, es decir con una significancia menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ). Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentan una distribución normal, es decir se hará uso de pruebas no paramétricas.

#### **Criterio para determinar la normalidad**

**P-valor  $\geq 0.05$  Aceptar H0** = Los datos provienen de una distribución normal.

**P-valor  $< 0.05$  Aceptar H1** = Los datos provienen de una distribución no normal.

## Base datos

**Efecto antibacteriano, In vitro, del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon citratus* L. sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determinada mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento.**

Concentración Repeticiones	50%	75%	100 %	C+	C-
	Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (mm)				
1.	8	13	16	20	0
2.	8	12	15	19.5	0
3.	8	12.5	15.5	20	0
4.	7	12	16	20	0
5.	8	12	16	20	0
6.	8	13	16.1	20	0
7.	8	13	16	19.7	0
8.	8	12	16	20	0
9.	8	14	15	20	0
10.	8	13	15.4	20.3	0

**Efecto antibacteriano, In vitro, del extracto hidroetanólico de *Mentha piperita* L. sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, determinada mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento.**

Concentración Repeticiones	50%	75%	100 %	C+	C-
	Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (mm)				
1.	10	13	17	20	0
2.	10	13	18	20	0
3.	11	13,5	16,8	20	0
4.	10	14	18	21	0
5.	10	14	18	20	0
6.	11	14	18	20	0
7.	11	13.9	17.2	20.6	0

8.	10	14	18	20	0
9.	11	14	18	20	0
10.	10	14	17.8	20	0

**Efecto antibacteriano, In vitro, del extracto hidroetanólico de *Mentha piperita L.* más *Cymbopogon citratus L.* sobre *Streptococcus mutans ATCC 25175*, determinada mediante el diámetro (mm) de los halos de inhibición del crecimiento**

Concentración Repeticiones	50%	75%	100 %	C+	C-
	Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano (mm)				
1.	10	14.9	18.4	20	0
2.	09.8	14	18	20	0
3.	10	15	18,8	20	0
4.	10	14	18	21	0
5.	10	15	19	20	0
6.	10	15	18.	20	0
7. -	09.4	14	17.9	20.2	0
8.	10	15	18	20	0
9.	11	14.3	19	20	0
10.	10.2	15	17.8	20	0

## CONSTANCIA

Por medio de la presente, se hace constar que la **Biólogo – Microbiólogo Manuela Natividad Luján Velásquez** 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, colaboro con la elaboración de los extractos hidroetanolicos: *Mentha Piperita (100%), Cymbopogon Citratus (100%) y ambos combinados (1:1)*. Para la tesis: **“EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE MENTHA PIPERITA (MENTA) Y CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBALUISA) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, Trujillo – 2021.”** De Benites Flores, Carlos Edilberto, estudiante de la Escuela Profesional de Odontología de la **UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE**

La actividad fue llevada a cabo desde el 8 hasta el 12 de octubre del 2021.

Manuela Natividad Luján Velásquez  
docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología,  
Universidad Nacional de Trujillo

Manuela N. Luján Velásquez  
BIÓLOGO MICROBIÓLOGO  
C.B.P. 2132

## Constancia de determinación taxonómica



### Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 125 – 2022 - HUT

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:** Magnolidae
- **Super Orden:** Asteranae
- **Orden:** Lamiales
- **Familia:** Lamiaceae
- **Género:** *Mentha*
- **Especie:** *M. piperita*

Muestra alcanzada a este despacho por BENITES FLORES, CARLOS EDILBERTO, identificado con DNI N° 45032496, con domicilio legal en Jr. Bolívar 1239, Huamachuco-La Libertad; Dpto. La Libertad. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la salud, Escuela Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de tesis titulado EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE *Mentha piperita* (MENTA) Y *Cymbopogon citratus* (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

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

Trujillo, 19 de septiembre del 2022



cc. Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com



## Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 0105 – 2022 - HUT

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:** Lilliana
- **Orden:** Poales
- **Familia:** Poaceae
- **Género:** *Cymbopogon*
- **Especie:** *C. citratus* (DC) Stapf
- **Nombre común:** "hierba luisa"

Muestra alcanzada a este despacho por BENITES FLORES, CARLOS EDILBERTO identificado con DNI N° 45032496, con domicilio legal en Jr. Bolívar 1239, Huamachuco-La Libertad; Dpto. La Libertad. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la salud, Escuela Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de tesis titulado EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE *Mentha piperita* (MENTA) Y *Cymbopogon citratus* (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

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

Trujillo, 19 de septiembre del 2022



Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E-mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

## Evidencias de ejecución

### Selección de las plantas

HIERBA LUISA (CYMBOPOGOM CITRATUS) MENTA (MENTHA PIPERITA)



### Lavado

HIERBA LUISA (CYMBOPOGOM CITRATUS)

MENTA (MENTHA PIPERITA)



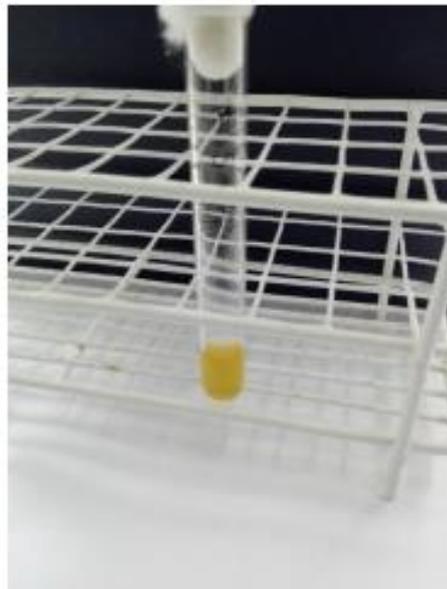
## Preparación De Los Extractos



**S. mutans ATCC 25175 en agar Muller Hinton**



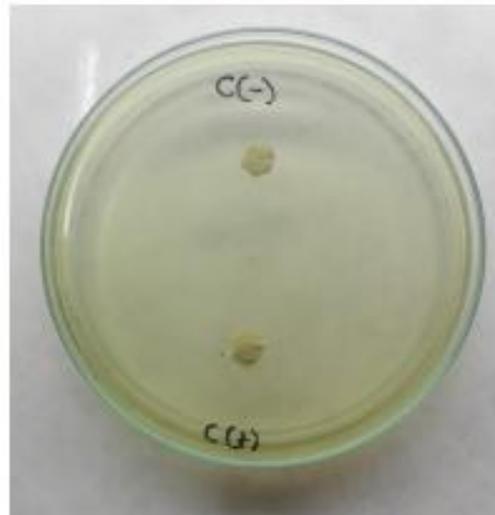
**S. mutans ATCC 25175 en caldo BHI**



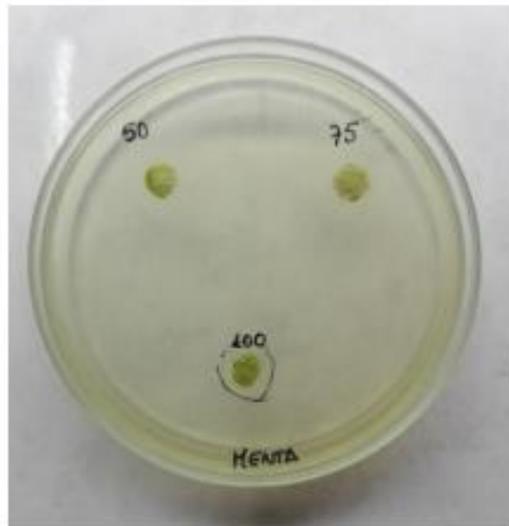
## Inoculación de las placas



**Control positivo**



**Menta piperita**



## Declaración jurada

### DECLARACIÓN JURADA

Yo, BENITES FLORES CARLOS EDILBERTO, identificado (a) con DNI N°45032496, con domicilio real en: Jr. Simon Bolivar #1239, Distrito: Huamachuco, Provincia: Sánchez Carrión, Departamento: La Libertad.

#### DECLARO BAJO JURAMENTO,

En mi condición de Bachiller con código de estudiante 1810081043 de la Escuela Profesional de Odontología, Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, semestre académico 2023-1:

1. Que los datos consignados en la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS HIDROETANÓLICOS DE MENTHA PIPERITA (MENTA) Y CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBA LUISA) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO 2021.

Doy fe que esta declaración corresponde a la verdad

TRUJILLO, 15 de Julio del 2023

  
Firma del estudiante/bachiller  
DNI N°45032496



Huella  
Digital