



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA MENTHA PIPERITA SOBRE EL
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, IN VITRO

Línea de investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Llacsahuanga Jiménez, Santos Angela

Asesor

Chávez Díaz, Cesar Humberto

ORCID: 0000-0002-1914-6742

Jurado

Mendoza Lupuche, Roman

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Quispe Tasayco, Lucia Marisela

Lima - Perú

2025

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA MENTHA PIPERITA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	7%
2	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uan.edu.co Fuente de Internet	1%
5	biohacker.es Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	core.ac.uk Fuente de Internet	<1%



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA MENTHA PIPERITA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, IN VITRO

Línea de investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora

Llacsahuanga Jiménez, Santos Angela

Asesor

Chávez Díaz, Cesar Humberto

ORCID: 0000-0002-1914-6742

Jurado

Mendoza Lupuche, Roman

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Quispe Tasayco, Lucia Marisela

Lima – Perú

2025

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo a Dios en primer lugar porque me brinda vida y salud, a mi padre Manuel por sus consejos que atesoro y que desde el cielo me guía en cada paso que doy, a mi madre Herlinda por su amor y nobleza que me inspira a no claudicar, a mis hermanos por su paciencia y apoyo incondicional, económico, material y moral, a mi novio Hugo por ser mi compañero leal y estar presente durante la carrera profesional y a toda mi familia en general que fueron participe en este objetivo de la vida.

Agradecimiento

Quiero agradecer a Dios por brindarme paciencia y constancia, a mi asesor Mg. Chávez Díaz Cesar Humberto por su tiempo brindado, dedicación y apoyo constante para el desarrollo del presente trabajo de investigación, también agradecer a todos los docentes, personal administrativo y a mi alma mater que me recibió en sus aulas, laboratorios y clínica.

ÍNDICE

RESUMEN	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y Formulación del Problema.....	2
1.2. Antecedentes	2
1.3. Objetivos.....	12
1.3.1. <i>Objetivo general</i>	12
1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>	12
1.4. Justificación	13
1.5. Hipótesis	14
II. MARCO TEÓRICO	15
2.1. Bases Teóricas	15
2.1.1. <i>Medicina alternativa con plantas</i>	15
2.1.2. <i>Menta</i>	15
2.1.3. <i>Caries dental</i>	19
2.1.4. <i>Streptococcus mutans</i>	19
III. MÉTODO	22
3.1. Tipo de Investigación.....	22
3.2. Ámbito Temporal y Espacial.....	22
3.3. Variables.....	22
3.4. Población y Muestra	24
3.5. Instrumentos.....	25
3.6. Procedimientos.....	25
3.7. Análisis de Datos.....	28

3.8. Consideraciones éticas	28
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
VI. CONCLUSIONES.....	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. REFERENCIAS.....	39
IX. ANEXOS	44
9.1 Anexo A	44
9.1.1 Matriz de consistencia	44
9.2 Anexo B	46
9.2.1 Ficha de recolección de datos	46
9.3 Anexo C	49
9.3.1 Elaboración del extracto de la <i>Mentha piperita</i>	49
9.4 Anexo D	59
9.4.1 Análisis microbiológico	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha Piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas.....	26
Tabla 2. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas.....	27
Tabla 3. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 72 horas.....	29
Tabla 4. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24, 48 y 72 horas.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de <i>Mentha piperita</i> al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las 24 horas.....	26
Figura 2. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de <i>Mentha piperita</i> al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las 48 horas.....	27
Figura 3. Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de <i>Mentha piperita</i> al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las 72 horas.....	30

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro. **Método:** El estudio fue de tipo experimental, comparativo, longitudinal y prospectivo. Se tuvo una muestra de 10 placas Petri para cada grupo experimental obteniendo 40 halos de inhibición con cepas de *Streptococcus mutans*. **Resultados:** A las 24 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo un promedio $11,05 \pm 0,54$ mm, que la concentración al 50% obtuvo un promedio de $8,66 \pm 0,39$ mm, que la concentración al 25% obtuvo un promedio $7,73 \pm 0,18$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio de $12,61 \pm 0,40$ mm. A las 48 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo un promedio $11,56 \pm 0,63$ mm, que la concentración al 50% obtuvo un promedio de $9,30 \pm 0,54$ mm, que la concentración al 25% obtuvo un promedio $8,15 \pm 0,32$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio $13,04 \pm 0,37$ mm. A las 72 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo una media de $12,09 \pm 0,54$ mm, que al 50% obtuvo una media de $9,74 \pm 0,58$ mm, al 25% obtuvo una media de $8,53 \pm 0,27$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio $13,35 \pm 0,37$ mm. **Conclusiones:** El extracto con *Mentha piperita* al 100% demostró efecto antibacteriano contra las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Palabras clave: efecto antibacteriano, *Streptococcus mutans*, *mentha piperita*288

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial activity of *Mentha piperita* on *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro. **Method:** The study was experimental, comparative, longitudinal and prospective. A sample of 10 Petri dishes was taken for each experimental group, obtaining 40 inhibition zones with *Streptococcus mutans* strains. **Results:** At 24 hours it was found that the 100% concentration obtained an average of 11.05 ± 0.54 mm, that the 50% concentration obtained an average of 8.66 ± 0.39 mm, that the 25% concentration obtained an average of 7.73 ± 0.18 mm and the chlorhexidine concentration obtained an average of 12.61 ± 0.40 mm. At 48 hours, it was found that the 100% concentration obtained an average of 11.56 ± 0.63 mm, that the 50% concentration obtained an average of 9.30 ± 0.54 mm, that the 25% concentration obtained an average of 8.15 ± 0.32 mm and that the chlorhexidine concentration obtained an average of 13.04 ± 0.37 mm. At 72 hours it was found that the 100% concentration obtained an average of 12.09 ± 0.54 mm, that the 50% obtained an average of 9.74 ± 0.58 mm, that the 25% obtained an average of 8.53 ± 0.27 mm and that the concentration of chlorhexidine obtained an average of 13.35 ± 0.37 mm. **Conclusions:** The extract with 100% *Mentha piperita* demonstrated antibacterial effect against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Keywords: antibacterial effect, *Streptococcus mutans*, *mentha piperita*.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que alrededor de 3.500 millones de personas sufre de problemas bucales, siendo la caries dental la enfermedad bucal más frecuente en la población. La cavidad bucal es un sistema complejo que alberga más de 700 especies de microorganismos, incluidas bacterias, hongos, virus, protozoos y arqueas. Estos microorganismos colonizan los dientes y las estructuras orales sólidas (los implantes, restauraciones y prótesis) en forma de biopelícula, que comúnmente causa caries dental, periodontitis, gingivitis, candidiasis e infección endodóntica. En casos más severos, las biopelículas patogénicas orales pueden causar enfermedades sistémicas. Por lo tanto, la prevención y el control de los biofilms bucales son fundamentales para promover la salud bucal (Maduro et al., 2023).

Uno de los principales problemas en todo el mundo en el campo de la salud son las enfermedades bucales. Lo cuales incluyen a la caries dental, enfermedades periodontales y trastornos orofaciales, siendo estas solo algunas de las enfermedades, llegando a causar daños significativos en nuestra salud (Borhan-Mojabi y Azimi., 2013).

Se consideran evidencias que están asociadas a la salud bucal y condiciones crónicas, como la asociación de mala salud bucal y enfermedades periodontales agresivas con la de enfermedades sistémicas, como enfermedad pulmonar, osteoporosis, accidentes cerebrovasculares, artritis reumatoide, diabetes, infarto y otras enfermedades cardiovasculares (Rauterna et al., 2007).

Las plantas son reservorios viables de fitoquímicos con diversos valores medicinales que forman los ingredientes vitales para varias formulaciones farmacéuticas y herbales. La mayoría de las propiedades medicinales de las plantas se atribuyen a metabolitos secundarios. Estos metabolitos dan color, sabor y aroma a las plantas comúnmente vistos en las industrias alimentarias y de medicamentos (Wei et al., 2023).

Por tal motivo el propósito de esta investigación es evaluar la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

1.1. Descripción y formulación del problema

El uso de agentes para el cuidado bucal compuestos por productos herbales es una antigua costumbre dada por nuestros antepasados en todo el mundo. Como alternativa a los costosos antibióticos y sus efectos secundarios, los remedios vegetales son reconocidos como alternativas importantes por los científicos (Karicheri y Antony, 2016).

Hay estudios de extractos y aceites de diversas plantas medicinales que juega un papel en la salud y bien estar de muchas poblaciones peruanas, por sus propiedades antimicrobianas, analgésico y antifúngicas (Mendoza et al., 2023).

La menta, tiene como nombre botánico: *Mentha piperita*, miembro de Lamiaceae, una gran familia de menta, es una hierba perenne que crece rápidamente y puede alcanzar hasta 1,5 m de altura en condiciones favorables. La especie extremadamente variable *M. piperita*. En algunas regiones, el dolor de garganta, la irritación de la garganta o de la boca se tratan con hojas de menta. Además, también es empleado como analgésico frente a dolores menores, esguinces y para el alivio de la congestión nasal. Mencionando también su poder antiséptico y antiparasitario (Mathur et al., 2011).

Teniendo en cuenta lo expuesto, surge la pregunta ¿Cuál es la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro?

1.2. Antecedentes

Azmi et al. (2024) ejecutaron un estudio con el objetivo, de analizar la eficacia antibacteriana de la hoja de menta contra el crecimiento de *S. mutans* UA159 y sus efectos antibiofilm. Metodología: Este estudio se llevó a cabo experimentalmente con un diseño de grupo de control de post-prueba únicamente, utilizando el método de microdilución en caldo en 6 grupos de prueba, a saber, extracto de hoja de menta con una concentración de 3,125, 6,25,

12,5, 25, 50 y 100% y también dos grupos de control, a saber, el control negativo utilizando agua destilada y el control positivo utilizando clorhexidina al 0,2%. El crecimiento de la biopelícula se determina comparando los valores de densidad óptica (DO) y luego calculando el porcentaje de erradicación de *S. mutans* formación de biopelículas. Resultados: Los resultados indicaron que el extracto de hojas de menta exhibió efectos antibacterianos contra *S. mutans*, donde al 12.5% presento halos de inhibición de 2,35 mm, 25% de 3,67mm al 50% de 4,87 mm, al 100% 7,20mm y y la clorhexidina al 0,12% fue de 10,98 mm. A las 24 horas Conclusión: Se ha demostrado que el extracto de hojas de menta inhibe significativamente el crecimiento de *S. mutans* (hojas de menta sobre el crecimiento de *S. mutans* es proporcional a su concentración; cuanto mayor sea la concentración del extracto, más fuerte será la capacidad inhibitoria.

Mendoza et al. (2024) realizaron una investigación teniendo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, *In vitro*. metodología Se muestrearon 10 placas por cada cepa bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) y *Prevotella intermedia* (ATCC25611). El medio de cultivo utilizado fue Agar sangre. La técnica empleada fue Kirby Bauer, se midieron los halos de inhibición de cuatro discos que fueron colocados en cada placa petri, con las concentraciones del aceite esencial de *Thymus vulgaris* al 50, 75 y 100 %, así como del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% a las 24, 48 y 72 horas. Resultados. luego de que se hiciera los cultivos respectivos. A las 24 horas la actividad antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 10.7 ± 0.27 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* a concentraciones de 100% fue de 28.56 ± 0.61 mm, al 75% fue de 21.76 ± 1.04 mm, mientras que al 50% fue de 14.22 ± 0.76 . conclusion Se encontraron diferencias significativas entre la actividad antimicrobiana del

aceite esencial de *Thymus vulgaris* al 100%, 75%, 50% y *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*.

Mendoza et al. (2023) realizaron un estudio de investigación para evaluar in vitro la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria recutita* (manzanilla) al 50 y 75% contra *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 y *Prevotella intermedia* ATCC 25611 a las 24 y 48 horas. Métodos, La muestra estuvo compuesta por 80 discos y Agar Mueller-Hinton, medio elegido para el cultivo. Para determinar la sensibilidad bacteriana se colocaron discos en cada caja Petri con concentraciones de aceite esencial al 50 y 75%, agua destilada y clorhexidina al 0,12% Posteriormente, los halos de inhibición se midieron en milímetros a las 24 y 48 horas. Resultados, en la medición de 48 horas contra *Prevotella intermedia*, la mayor actividad antimicrobiana se observó en el grupo de clorhexidina al 0,12%, con una zona de inhibición media de $22,07 \pm 0,69$ mm. La concentración del 75% de MREO produjo una zona de inhibición media de $16,10 \pm 0,33$ mm, mientras que la concentración del 50% produjo una zona de inhibición media de $10,49 \pm 0,17$ mm Conclusión: No se encontraron diferencias significativas entre la eficacia antibacteriana de clorhexidina al 0,12% y aceite esencial de *Matricaria recutita* al 50 y 75% sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas.

Loja E. (2023) realizaron una investigación con el objetivo. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto de menta sobre *Streptococcus mutans*. Metodología. se analizaron 72 discos de papel filtro blanco, divididos en seis grupos, G1 correspondió a extracto de menta al 25%, G2 extracto de menta al 50%, G3 extracto de menta al 75%, G4 extracto de menta al 100%, G5 Clorhexidina al 0,12% como control positivo y G6 agua destilada como control negativo. La menta se procesó por maceración hasta obtener el extracto etanólico. Se sumergieron los discos en cada concentración y se colocaron en las cajas Petri cultivadas con *Streptococcus mutans* se midió el halo de inhibición para comprobar la eficacia sobre el

microorganismo a las 24,48 y 72 horas. Resultados. Se determinó que la actividad antibacteriana del extracto de menta para *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 25% tuvo un promedio en los halos de inhibición de 2,33 mm, al 50% de 2,67 mm, al 75% fue de 1,67, al 100% 2,17mm y la clorhexidina al 0,12% fue de 6,67 mm. Se utilizó la prueba estadística de Mann Witney con el SPSS versión 27. conclusiones. Las diferentes concentraciones de extracto de menta son efectivos contra el *Streptococcus mutans*, desde las 24 horas variando su comportamiento según la concentración y el tiempo.

Camele et al. (2021) realizaron una investigación con el fin de identificar los componentes predominantes de la menta piperita 'Kristinka y sus efectos antibacterianos y antifúngicos. Metodología. Se evaluaron 8 placas Petri, con el método de difusión en disco para las bacterias (*clavibacter* M.S., *xanthomonas campestris*, *pseudomonas* S. y *P. siringae*) y con el método de agregación para los hongos (*monilinia*, *aspergillus*, *penicilium* y *botritis*), en concentraciones del aceite esencial de la *Mentha piperita* de 0,1, 1 y 10 mg/ml para las bacterias y 0,1, 1 y 5 mg/ml para los hongos. Además de la concentración de los componentes principales como el mentol y la mentona. Como resultados se encuentra que el aceite esencial de menta mostró un mejor efecto antibacteriano contra *P. siringae* faseolicola con un diámetro de 39,5 mm similar a la tetraciclina 1,6 mg/ml con el diámetro de inhibición de 40mm. Los resultados de la actividad fungicida mostró la mayor inhibición del crecimiento del micelio de *B. cinerea* y *P. expansión* en placas a las dos proporciones evaluadas (1 y 5 mg/mL), mientras que el aceite esencial de menta a 5 mg/mL demostró la mayor inhibición contra *M. fructicola* y *A. níger*. Se evaluó mediante el análisis estadístico de ANOVA y el SPSS versión 13.0 Conclusión: el aceite esencial mostró una actividad antibacteriana frente a las siguientes bacterias patógenas: *P. siringaep*, *V. faseolicola* y *C. michiganensis*; sin embargo, mostró poco efecto contra *P. Savastanoi* y ninguna actividad contra *Campes tris*. Por otra parte, la actividad biológica del

aceite esencial estudiado puede atribuirse en gran medida a su rico contenido en mentol (70,08%) y mentona (14,49%).

Philip et al. (2020) ejecutaron un trabajo de investigación con el fin de contrastar el efecto inhibitorio de diversos naturales (menta, canela, jengibre, romero, regaliz y xantorrizol, farnesol y guayaba) ante el crecimiento bacteriano. Metodología. Se evaluaron 9 placas Petri con las bacterias (*S. mutans* y *S. sanguinis*), se ubicaron cinco pocillos de 5 mm de diámetro en las placas petri con agar Muller-Hilton. Cada pocillo se cargó con una fina espiral de papel de filtro estéril (tres agentes de prueba, clorhexidina al 0.2% y el control de vehículo, 2% DMSO/PBS). Después de la incubación a 37°C durante 24 horas, se evaluó la inhibición bacteriana. Siendo realizado cada experimento tres veces, en tres momentos diferentes. Resultados: Se encontró que la máxima inhibición del crecimiento bacteriano fue del xantorrizol con una concentración de 200µg/ml de (13.2mm y 13,1mm), con respecto al *S. mutans* y *S. sanguinis*, seguido de nuez moscada con una concentración de 200ug/ml y el diámetro de inhibición de (11.8mm y 12.2mm), para *S. mutans* y *S. sanguinis*; la *Mentha piperita* con una concentración de 1µg/ml generó diámetros del halo de inhibición de (9.2mm y 9.4mm) para el *S. mutans* y el *S. sanguinis* respectivamente donde se utilizó la prueba estadística T de student con el Software estadístico SPSS versión 24. Conclusión: varios productos naturales ejercieron efectos antibacterianos significativos.

Oliveira et al. (2020) realizaron un estudio con el objetivo de examinar los efectos antibacterianos y antibiofilm de los aceites esenciales y pastas dentales a base de hierbas contra las bacterias asociadas con enfermedades orales. Metodología, se evaluarón los aceites esenciales de la Canela (*Cinnamomum zeylanicum*), Romero (*Rosmarinus officinalis*), nuez moscada (*Myristica fragrans*), naranja (cítricos *sinensis*), menta (*Mentha piperita*), jengibre (*Zingiber officinale*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y clavo (*Eugenia caryophyllata*), Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), Mandarina (*Citrus reticulata*), cal (*Citrus*

aurantifolia) y Árbol de té (*Melaleuca alternifolia*) contra las bacterias *Streptococcus mutans* ATCC 25175, enterococo *faecalis* ATCC 19433, estafilococo *aureus* ATCC 29213 y *Lactobacillus lactis* 717297. Utilizando el método de difusión de placa perforada. Brevemente, 100 µL de una suspensión que contiene 10 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml de bacterias se esparcieron en placas de Petri que contenían agar Müller-Hinton (HiMedia). Se cortaron orificios con dimensiones diametrales de 5 mm y de longitud 3 mm en el agar sembrado y se llenaron con 20 µL de aceite esencial a 50 mg/mL diluido en Tween 80 (Sigma-Aldrich). Se utilizaron colutorios con Tween 80 y gluconato de clorhexidina al 0,12 % (Perio Gard, Colgate-Palmolive) como controles negativos y positivos, respectivamente. Las muestras fueron incubadas a 37°C por 24 h y se midieron las zonas de inhibición. Resultados: Los aceites esenciales de canela, orégano y tomillo produjeron mejores efectos frente al crecimiento (8–11 mm) en *S. mutans*, *E. faecalis*., *L. lactis*., y *S. Aureus*. La actividad del aceite de canela contra *E. faecalis*. Se asemejó al control positivo (gluconato de clorhexidina). El aceite esencial de clavo mostró una actividad inhibitoria significativa contra *S. Aureus*. Y en la prueba MIC, los aceites esenciales de canela 0.056%, orégano 0.315% y tomillo 0.625% mostraron una inhibición fuerte y moderada *S mutans*. Las pastas dentales tienen una actividad antibacteriana más baja que el control positivo. Sin embargo, 17 de las 18 pastas dentales fueron capaces de inhibir *S. mutans* de crecimiento, con halos de inhibición de 6mm. La significación estadística se midió usando la prueba T estudent Conclusiones: Los aceites esenciales de canela, clavo, orégano y tomillo y las pastas dentales formuladas con estos productos naturales mostraron actividad antibiopelícula y antibacteriana contra las bacterias cariogénicas como el *Streptococcus mutans*.

Krishna et al. (2020) realizaron una investigación con el objetivo de explorar el efecto anti-biopelícula de las diversas combinaciones de extractos de hierbas y aceites esenciales contra *S. mutans* que desempeña un papel central en la causa de la caries dental. Métodos: Se

prepararon por separado y se secaron extractos hidroalcohólicos de *Terminalia chebula* (T. chebula), *Psidium guajava* (P. guajava), *Azadirachta indica* (A. indica) y *Pongamia pinnata* (P. pinnata). Varias combinaciones de extractos de hierbas, así como los aceites esenciales *Syzygium aromaticum* (clavo) y *Mentha piperita* (aceite de menta), se probaron para determinar su potencial anti-biopelícula en la superficie del vidrio. El número de bacterias adheridas (UFC/ml) se determinó por el método de recuento en placa. Resultados: Se encontró que todas las combinaciones de extractos y aceites esenciales han mostrado actividad antibiopelículas. La proporción 2:2:1:1 de extractos y 2:2 de aceites esenciales ha mostrado un menor recuento de bacterias en comparación con todas las demás proporciones probadas. Además, la proporción de extracto de hierbas de 2:2:1:1 ha mostrado una actividad antibiopelícula significativa ($P < 0,01$) en comparación con el enjuague bucal de clorhexidina estándar. Conclusión: Estos hallazgos sugieren que los componentes activos presentes en los extractos combinados podrían crear sinergia Actividad anti-biopelícula debido al efecto de refuerzo de los componentes presentes en la mezcla combinada.

Mandava et al. (2019) ejecutaron un estudio teniendo como objetivo la evaluación del efecto antibacteriano de diferentes plantas medicinales contra el S mutans. Metodología: En él se evaluaron cuatro extractos de las plantas (T. chebula, P juagava, A indica, P pinnata) en diferentes concentraciones de (0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 y 10) mg/ml, también dos aceites esenciales (*Mentha piperita* y *Syzygium aromaticum*) con la concentración de (3.125, 6.250, 12.500, 50.000, 100.000) mg/ml. Y el enjuague bucal de polihierbas de las plantas medicinales mencionadas anteriormente comparando con la clorhexidina al 5%, frente a la glucosiltransferasa del S. mutans. Resultados: el extracto de A. Indica en la concentración de 10mg/ml, obtuvo el 91.647% y presenta mayor inhibición al S. mutans, el T. Chebula en la concentración de (0.312 y 5) mg/ml, presentó un porcentaje de inhibición de 27.667 ± 0.664 y $77.367 \pm 0.939\%$, además los aceites esenciales como la menta piperita en proporciones de

(25 y 100) mg/ml presentó un aumento de inhibición de $75,867 \pm 0,606$ y $88,483 \pm 0,563$ y con respecto al aceite de clavo con una concentración de 25 y 100 mg/ml presentó un valor de inhibición de $58,267 \pm 0,960$ y $70,667 \pm 0,521$ que inhibe la glucosiltransferasa del *S. mutans*. El potencial inhibidor del colutorio oral polihierba se mostró significativo frente al *S. mutans* (95,936) a comparación del colutorio comercial a base de clorhexidina. El análisis estadístico y la cinética enzimática se realizó utilizando el Software Graph Pad Prism 5 Conclusión: La planta medicinal de *A. indica* a una proporción de 10mg/ml, presentó mayor inhibición contra el *S. mutans*, con respecto a otras plantas medicinales, el aceite esencial de la menta piperita tuvo mayor inhibición que el aceite del clavo a una concentración de 100mg/ml. Además, el enjuague bucal de polihierbas preparado con los cuatro extractos de plantas y dos aceites esenciales mostró una inhibición frente a los colutorios comerciales de clorhexidina. Krishna et al. (2020) realizaron un estudio con el fin de explorar el efecto antibiopelícula de las diversas combinaciones de extractos de hierbas y aceites esenciales contra *S. mutans*, quien es la principal causa de la aparición de lesiones cariosas. Métodos: Se prepararon por separado y se secaron extractos hidroalcohólicos de *Terminalia chebula* (*T. chebula*), *Psidium guajava* (*P. guajava*), *Azadirachta indica* (*A. indica*) y *Pongamia pinnata* (*P. pinnata*). Varias combinaciones de extractos de hierbas, así como los aceites esenciales *Syzygium aromaticum* (clavo) y *Mentha piperita* (aceite de menta), se probaron para determinar su potencial antibiopelícula en la superficie del vidrio. El número de bacterias adheridas (UFC/ml) se evaluó mediante el recuento en placa. Encontrándose que todas las combinaciones de extractos y aceites esenciales han mostrado actividad antibiopelículas. La proporción 2:2:1:1 de extractos y 2:2 de aceites esenciales ha mostrado un menor recuento de bacterias en comparación con todas las demás proporciones probadas. Además, la proporción de extracto de hierbas de 2:2:1:1 ha mostrado una actividad antibiopelícula significativa ($P < 0,01$) frente al colutorio de clorhexidina común. Conclusión: Estos hallazgos sugieren que los componentes

activos presentes en los extractos combinados podrían crear sinergia Actividad antibiopelícula debido al efecto de refuerzo de los componentes presentes en la mezcla combinada.

Golestannejad et al. (2018) ejecutaron un estudio teniendo el objetivo de comparar y evaluar la actividad antibacteriana de tres aceites esenciales *Mentha arvensis*, *Mentha piperita* y *Foeniculum vulgare* mil contra *S. mutans*. Esto se desarrolló mediante la difusión en disco, evaluándose 6 placas Petri con una concentración de 3,125, 6,25, 12,5, 25,50 y 100 μ g/ μ l de los aceites esenciales (*M. arvensis*, *M. piperita* y *F. vulgare*) usando discos estériles de 6 mm diámetro que contiene 30 μ l de cada concentración contra la bacteria *S. mutans*. La zona de inhibición se midió después de 24, 48, 72 horas, evaluándose también la concentración inhibitoria mínima (CMI) y la concentración bactericida mínima (CBM). Encontrando como resultado que la *Mentha piperita* con una proporción de 100 μ g/ μ l, tuvo mayor halo de inhibición (10,48, 10,57, 11,25) mm con respecto a *Foeniculum vulgare mill* (9,82, 10,52, 11,06) mm, contra el *S. mutans* a las 24, 48, 72 horas la esencia de la *Mentha arvenses* es más eficaz. Con la menta piperita el CIM Y CBM fue de 10,5 y 16,3 μ g/ml. Donde se utilizó el método One Way ANOVA usando el software SPSS. Concluyendo que el aceite esencial de la *M. piperita*, a 00 μ g/ μ l, mostró un efecto antimicrobiano significativo contra *S. mutans* en comparación con otros dos aceites esenciales, fue más efectivo.

Raghavan et al. (2018) presentaron un trabajo de investigación con el fin de evaluar la eficacia del extracto de la hoja de *Mentha piperita* contra tres patógenos orales. Metodología. En él se evaluaron tres placas Petri, buscando evaluar el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano de la *Mentha P.* y la clorhexidina al 0,2% como control positivo, contra las bacterias, *S. mutans*, *A. actinomycetemcomitans*, y *C. Albicans*, durante 24 y 48 horas. Resultados, el extracto de la *Mentha P.* y la Clorhexidina 0,2% tuvieron un halo de inhibición máximo frente al *S. Mutans* a las 24 horas de $20,16 \pm 0,36$ y $32,64 \pm 1,34$ y a las 48 horas presentaron halos de $34,18 \pm 1,46$ y $40,11 \pm 0,98$. Donde se utilizó la prueba estadística ANOVA y el SPSS

versión 21. Teniendo como conclusión que la *M. piperita* presenta un mejor efecto antimicrobiano frente a los microorganismos orales y se puede utilizar como medicina alternativa y como complemento de la terapia convencional.

Tardugno et al. (2017) presentaron un estudio de investigación con el objetivo de evaluar la composición fotoquímica de los aceites esenciales y sus componentes antimicrobianas. Metodología: evaluaron dos placas Petri, mediante la difusión en agar, para ver los efectos de inhibición, de los aceites esenciales de *E. globulus*, *E. caryophyllata*, *I. verum*, *L. x intermedia*, *Grosso*, *L. intermedius*, *sumiano*, *L. scoparium*, *m. alternifolia*, *M. arvensis*, *M. communis*, *M. piperita*, *R. officinalis*, *S. officinalis*, *T. capitatus* y vulgares, contra la actividad inhibitoria de *Lactobacillus* spp. Y *S. mutans*, escogiendo solo cinco extractos (*E. caryophyllata*, *L. scoparium*, *R. officinalis*, *T. capitatus* y *vulgaris*) del grupo inicial para una investigación adicional sobre la actividad antimicrobiana. Los resultados obtenidos en este segundo cribado fueron interesantes al tener en cuenta que los aceites esenciales se diluyeron al 0,5% v/v. Resultados: Los aceites esenciales de *M. arvensis* asociado con *E. caryophyllata* y *Scoparium*, con una concentración de 0,5%. la actividad antimicrobiana. mostró una actividad débil tanto en relación 2:1 como 1:2 (v/v), aunque *M. arvensis* y *R. officinalis* la asociación fue poco activa y la asociación entre *M. arvensis* y *T. capitatus*, y *M. arvensis* y *vulgaris*; en ambos casos, el doble de la cantidad de aceite esencial con respecto al aceite esencial de *M. arvensis* aumentó la actividad antimicrobiana. Se usó la prueba estadística de ANOVA con el SPSS versión 21 Conclusión. El aceite esencial de *R. officinalis* mostró una buena actividad contra todas las cepas de *Lactobacillus* spp. y la cepa de *S. mutans* mostró el valor más bajo de MIC (1 µL/mL). Y los efectos inhibitorios más leves contra las dos cepas de *Lactobacillus* spp. y *S. mutans* se obtuvieron con *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. communis*, *S. officinalis*, *T. capitatus* y *vulgaris*.

Wiwattanarattanabut et al. (2017) presentaron un estudio donde el objetivo fue de evaluar los efectos antimicrobianos y antiplaca de algunas hierbas medicinales contra *S. mutans* y *Lactobacillus casei*. Metodología: se evaluaron 21 placas Petri, para evaluar el efecto inhibitorio de diferentes aceites esenciales al 20% de su concentración extraídos de la albahaca dulce (*Ocimum basilicum*), Corteza de canela(*Cinnamomum zeylanicum*), hinojo dulce(*Foeniculum vulgare*), lima kaffir (*Citrus hystrix*), pimienta negra (*Piper negro*), menta (*Mentha piperita*) y menta verde (*Mentha spicata*) contra las bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans* KPSK2 y *Lactobacillus casei*), mediante la difusión sobre el disco de agar, teniendo como control positivo la clorhexidina al 0.2% y DMSO al 10% como control negativo, y también se utilizó el método microdilución en caldo, donde se determinó el CMI Y MBC. Resultados: la máxima inhibición bacteriana planctónicas fue del aceite esencial de la corteza de la canela con una concentración del 20%, con un halo de inhibición de $32,17 \pm 1,32$ Para el *S mutans* y $17,33 \pm 1,03$ para *Lactobacillus casei*, además los valores del CMI y CBM del aceite esencia el canela mostro mayor inhibición de 0.8% para el *mutans* y 0.16% para *lactobacillus*. Se usó la prueba estadística de ANOVA y el SPSS versión 18 Conclusión: Los aceites esenciales de canela, albahaca, la menta piperita, menta verde, hinojo, lima caffir y pimienta negra poseen efectos antiplaca y anticariogénicos, especialmente la corteza de canela, muestra potentes propiedades medicinales que incluyen antimicrobiano (contra las bacterias cariogénicas planctónicas).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

1.3.2. Objetivos específicos

Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de *Mentha piperita* al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas.

Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de *Mentha piperita* al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 48 horas.

Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de *Mentha piperita* al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas.

1.4. Justificación

1.4.1. Teórica

La presente investigación nos ayudará a extender el conocimiento sobre la existencia de los efectos y usos en odontología de las plantas medicinales como la *Mentha piperita* que presenta actividades antimicrobianas para prevenir las patologías de mayor incidencia relacionadas a enfermedades bucales en nuestra población como las lesiones cariosas, inflamación gingival y afecciones periodontales, enfermedades de alta prevalencia a nivel nacional e internacional.

1.4.2. Práctica

En el aspecto practico, este estudio nos permitirá al profesional tener más alternativas para crear productos como colutorios o pastas dentales, medicina natural, compuestos por elementos propios de esta planta con propiedades antimicrobianas que pueda reducir así las enfermedades más frecuentes en la cavidad bucal. En términos prácticos, este estudio proporcionará al profesional más opciones para la creación de productos como colutorios o pastas dentales, medicamentos naturales. Estos últimos deben incluir compuestos químicos

originarios de esta planta con características antimicrobianas que puedan disminuir de esta manera las enfermedades más comunes en la cavidad oral.

Se buscará contrastar el efecto antimicrobiano de la *Mentha piperita* con el gluconato de clorhexidina, que se utiliza normalmente en las consultas de odontología, para así considerarlo como una opción natural. Además de fomentar el estudio de otras plantas medicinales presentes en nuestro país, gracias a su diversidad botánica.

1.4.3. Social

En lo social, este análisis favorecería a los pacientes afectados por las enfermedades más comunes, al ofrecer productos naturales de fácil acceso e incluso más asequibles que no tienen efectos negativos como los productos de higiene oral tradicionales. Por otro lado, se sensibilizará a la población acerca de las ventajas de la *Mentha piperita* como agente antibacteriano, lo que podría convertirse en una opción para prevenir y tratar las enfermedades bucales más habituales en la sociedad. Siendo una opción con mejores beneficios, menores riesgos y destacando su accesibilidad para la población en general.

1.5. Hipótesis

Existe una buena actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Medicina alternativa con plantas*

El uso de plantas medicinales o productos naturales ha sido una de las estrategias más exitosas para el descubrimiento de nuevos medicamentos. Ya se ha informado que existe un gran potencial antibacteriano en los compuestos extraídos de plantas y con esto nos adentramos en un mundo lleno de posibilidades frente a la búsqueda del componente ideal frente a los microorganismos (Mandava et al., 2019).

Es una alternativa atractiva a los biocidas orales tradicionales para la prevención de caries a largo plazo. Se ha demostrado que los fitoquímicos reducen el desarrollo de la placa dental, influyen en la adhesión bacteriana y reducen los síntomas de las enfermedades orales (Philip et al., 2019).

2.1.2. *Menta*

Las mentas son plantas herbáceas con una colección de más de 60 especies pertenecientes a la familia Lamiaceae originarias de la cuenca mediterránea y extendidas por todo el mundo, ya era considerada en la medicina egipcia, griega y roma debido a sus atributos positivos para la salud de la población (Raghavan et al., 2018).

Las mentas se utilizan como agentes aromatizantes en alimentos, bebidas, gomas de mascar y dulces, Se considera una verdura de hoja saludable debido a sus vitaminas y nutrientes minerales (Wei et al., 2023).

Algunas especies comunes del género *Mentha* incluyen *M. rotundifolia*, *M. arvensis*, *M. piperita*, *M. pulegium*, *M. longifolia*, *M. aquatica*, *M. spicata*, y *M. suaveolens* (Eftekhari et al., 2021).

2.1.2.1. *Mentha piperita*. Pertenece a la familia Lamiaceae, siendo de las más utilizadas en todo el mundo, esta planta por naturaleza se originó por un híbrido espontáneo

natural entre *M. viridis* y *M. acuática*, es originaria en las regiones mediterráneas, hacia el este en Asia y en Europa (Raghavan et al., 2018).

La menta se cultiva a partir de rizomas y se cosecha al comienzo de la floración para obtener el máximo rendimiento de aceites esenciales de alta calidad (Zhao et al., 2022).

La morfología de la menta piperita, presenta una altura de 30-100 cm, su hoja es verde oscuro, glabras o por debajo de las venas erizadas y densamente glandulares, ricas en polifenoles, la flor es Color blanca, lóbulos con halo rosa, verticiláster en forma de espiga en las puntas de tallos y ramas (Fecka et al., 2023).

Cerca del 80% de los habitantes, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), muestran interés en el uso de la medicina tradicional (Wei et al., 2023).

2.1.2.2. Taxonomía de la menta piperita. Es de orden: Tubuliflorae. Familia: Labiatae (Lamiaceae). Género: *Mentha*. Especie: *Mentha piperita*. Nombre común: Menta. Principio activo: Mentol, mentona (Trevisan et al., 2017).

2.1.2.3. Fotoquímica de la menta piperita. En sus componentes el mentol representó alrededor del 36 %, la mentona el 21 %, el acetato de mentilo el 7 %, el eucaliptol el 7 %, la isomentona el 5 %, el neomentol el 4 %, el mentofurano el 3 %, el dimoneno el 2 %, el b-cariofileno el 2 %, la pulegona el 1 % y b-pineno 1%, los cuales son componentes que contribuyeron a la salud humana (Fecka et al., 2023).

Los principales componentes volátiles de la menta incluyen: mentol, mentona, acetato de mentilo, mentofurano y 1,8-cineol, etc. y Los componentes no volátiles presentes en la menta son: flavonoides, ácidos fenólicos, aminoácidos, nucleótidos, terpenoides, Los principales componentes activos de la menta tienen efectos antiinflamatorios y antivirales; mientras que el mentol y el cineol tienen una buena actividad antibacteriana (Fecka et al., 2023).

Además, la *M. piperita* es rico en compuestos fenólicos, como saponinas, ácido ursólico, rutina, quercetina, naringenina y kaempferol (Parastar et al., 2023).

Los compuestos fenólicos son conocidos por sus propiedades antioxidantes y se encuentran entre las fuentes más importantes de antioxidantes en la dieta de los humanos. Las propiedades antioxidantes de la menta piperita son importantes para prevenir procesos inflamatorios y dislipidémicos, así como varias enfermedades crónico y degenerativas como diabetes y enfermedades cardiovasculares (Skrypnik et al., 2022).

Las hojas de *M. piperita* contienen principalmente flavonoides, ácidos fenólicos y algunos de los compuestos son mentol, mentona, ácido cafeico, acetaldehído, alcohol amílico, ésteres de mentilo, limoneno, pineno, glucósidos cardiales, felandreno, cadineno, pugelona y sulfuro de dimetilo (Trevisan et al., 2017).

Los componentes de la menta consisten principalmente en mentol, mentona, neomentol e iso-mentona, es una mezcla de metabolitos secundarios biológicamente activos con actividades antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales (Zhao et al., 2022).

Estudios previos revelaron que la mayoría de los aceites esenciales de menta son ricos en pulegona, mentona, mentol, carvona, 1,8-cineol, limoneno y β cariofileno. Con respecto a la composición química de la menta, algunos estudios han analizado su composición química y los principales constituyentes individuales y encontraron que el porcentaje respectivo de diferentes especies de menta variaba según el origen de la planta (Camele et al., 2021).

2.1.2.4. Principales efectos de la menta piperita. Son las siguiente:

A. *Propiedades antioxidantes de la M. Piperita.* Existe un interés creciente en la utilización de antioxidantes naturales de origen vegetal debido a su naturaleza más segura y beneficios medicinales en comparación con las formulaciones sintéticas. En este sentido, los componentes obtenidos mediante extractos y aceites esenciales de diversas plantas con efectos

curativos y beneficiosos, se han ido investigando como una fuente prometedora de agentes antioxidantes efectivos (Tafrihi et al., 2021).

Entre los solventes empleados, extractos metanólicos de *M. piperita* las hojas mostraron niveles cuantitativos más altos de fenoles y flavonoides totales. Sin embargo, los antioxidantes cualitativos significativos se observaron en los extractos etanólicos de *M. piperita* con eriocitrina, ácido rosmarínico y naringenina-7-o-glucósido. Los extractos de *M. piperita* mostraron una propiedad antioxidante significativa evidenciada por una mayor reducción de hierro (III), una mayor eficiencia en DPPH, ABTS⁺ y H₂O₂ propiedades de eliminación de radicales libres. Informes recientes determinaron los compuestos químicos volátiles en *M. piperita* y evidenciaron sus propiedades (Wei et al., 2023).

B. Actividad antibacteriana de *M. Piperita*. Las actividades antibacterianas de *M. piperita* se han investigado ampliamente. Los extractos pueden potencialmente inhibir el incremento de diversos microorganismos bacterianos Gram⁺ y Gram⁻. El mentol, un alcohol monoterpénico cíclico, tiene una buena actividad antimicrobiana, Se identificó como el principal compuesto antimicrobiano de *M. piperita*. es un mecanismo inhibitor relacionado con la membrana. Asimismo, la función antibacteriana de los terpenoides también sugirió que su sitio de acción estaba en la bicapa de fosfolípidos, lo que modificaría la permeabilidad de la membrana y provocaría la fuga de sustancias intracelulares. En relación a la Menta piperita, se encontró que su extracto a base de acetato de etilo tenía mayor actividad inhibitoria antibacteriana, seguido por los extractos de cloroformo, etanol y metanol, el aceite de *M. piperita* es más eficaz frente a microorganismos Gram⁺ sobre las Gram⁻. Esto podría deberse a la existencia de lipopolisacáridos presentes en las bacterias Gram⁻, encontrándose en su membrana más externa lo que podría aumentar su resistencia a las sustancias antibacterianas (Wei et al., 2023).

La creciente evidencia indica que la menta piperita puede proteger farmacológicamente los sistemas gastrointestinal, hepático, renal, cutáneo, respiratorio, cerebral y nervioso, y ejercer efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos (Zhao et al., 2022).

2.1.3. *Caries dental*

La enfermedad de caries dental se puede definir como una disbiosis mediada por biopelículas que involucra cambios en la composición y función del microbioma, que puede llevar a la pérdida de minerales en los tejidos dentinarios (esmalte y dentina) por el ácido producido por bacterias orales seleccionadas, como resultado de la fermentación de la dieta. Cuando el proceso de fermentación se ve favorecido por la ingestión excesiva y/o frecuente de azúcares fermentables, la capacidad amortiguadora de la saliva no es suficiente para neutralizar el desafío ácido y la reducción constante del pH (Ribeiro y Paster, 2023).

El ambiente ácido afecta la actividad metabólica de los microorganismos orales y exhibe una selección inducida por ácido, aumentando las proporciones de bacterias acidogénicas y acidúricas, tales como *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), que es una de las principales bacterias cariogénicas que generan una caída prolongada en el valor de pH de la biopelícula cariogénica, lo que lleva a la desmineralización del tejido dental duro y al desarrollo de caries dental cuando el valor cae por debajo de 5,5 o menos (Wang et al., 2023).

La OMS menciona que existe una notable disparidad en los programas preventivos entre naciones, conllevando a que la caries dental siga siendo un problema significativo de salud oral. Siendo esta una dolencia crónica e infecciosa que requiere la participación de diversos factores de riesgo biológicos, personales y comunitarios. Cada táctica para controlar la caries debe considerar el entorno social y de salud, enfocándose en la supresión de los factores de riesgo (Zanini et al., 2022).

2.1.4. *Streptococcus mutans*

El *Streptococcus mutans* se presenta como una bacteria en forma de cocos, altamente patogénico, de naturaleza Gram+, de facultad anaeróbica, con una alta energía libre superficial y una alta tendencia a adherirse a superficies como el esmalte dental, además de ser un predecesor indiscutible de la caries dental, comúnmente hallado en la boca (Montenegro et al., 2023).

Streptococcus mutans codifica glucosil transferasa (GTF) que pueden convertir los almidones de la dieta en polímeros extracelulares como el glucano. Este último puede unirse a la película dental y luego permitir la unión de otras bacterias, incluidas *S. sanguinis*, *S. oralis* y *Lactobacillus* sp. Los GTF mejoran la formación de biopelículas y promueven la colonización de bacterias cariogénicas (Iacopetta et al., 2023).

Esta bacteria produce un proceso fisiológico y de transcripción conocido como respuesta de tolerancia ácida, un atributo que facilita la defensa de la célula en la amortiguación del citoplasma mediante alteraciones en la composición lipídica de la membrana en un entorno de diversidad ecológica como la que se encuentra en la cavidad oral (Montenegro et al., 2023).

Uno de los mecanismos patogénicos más importantes de esta bacteria es su capacidad de adherencia mediante interacciones electrostáticas y químicas para adherirse a las superficies dentales y otras bacterias a partir de sus componentes moleculares (ácidos teicoicos/lipoteicoicos, glucosil/fructosil transferasas y proteínas de unión) involucrados en una matriz extracelular compleja. También actúa como fermentador de varios compuestos fermentables (glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, insulina y salicina) que producen ácidos (ácidos lácticos, propiónico, acético y fórmico) que resultan del proceso de desmineralización del esmalte dental (Nafarrate-Valdez et al., 2022).

A su vez, reduce el pH de los tejidos dentarios como el esmalte y la dentina por debajo de un nivel crítico en el rango de 5.2 a 5.5 lo que resulta en la desmineralización de la estructura dental. La desmineralización del esmalte dental, es un proceso de disolución de los cristales

de apatita y la pérdida neta de calcio (Ca^{2+}), magnesio (Mg^{2+}), fósforo destino (PO_4^-), y otros iones de la superficie del diente. En tal sentido, la pérdida de Ca^{2+} determina principalmente el grado de progresión de la caries (Nafarrate-Valdez et al., 2022).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Experimental, comparativo, longitudinal y prospectivo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El extracto hidroetanólico de la *Mentha piperita* fue elaborada en el Laboratorio del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM y el análisis microbiológico se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villareal durante el año 2024.

3.3. Variables

3.3.1. *Variable dependiente*

Actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*.

3.3.2. *Variable independiente*

Extracto de *Mentha piperita* al 25%, 50% y 100%

Gluconato de clorhexidina al 0.12%

3.3.3. *Variable interviniente*

Tiempo.

3.3.4. Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Indicador	Escala	Valores
Actividad antimicrobiana	Atributo que tiene un elemento o sustancia para generar la inhibición o muerte bacteriana.	Medida del halo de inhibición	Cuantitativa de Razón	Halos de inhibición en milímetros
Extracto de Mentha piperita	Extracto elaborado a base de hojas de Mentha piperita y que están en diferentes concentraciones.	Concentración del extracto de Mentha piperita	Cualitativa Ordinal	- 25% - 50% - 100%
Tiempo	Tiempo del cultivo expuesto al extracto	Horas	Cuantitativa	- 24 horas - 48 horas - 72 horas

3.4. Población y muestra

La población estudiada estuvo conformada por cultivos de la cepa de *Streptococcus mutans* dispuestas en placas Petri.

La muestra se formó con las placas Petri con cultivos de la cepa de *Streptococcus mutans* que cumplan con los requisitos de selección, el número por cada grupo experimental se obtuvo mediante la fórmula de diferencia de medias, con los datos de nuestro antecedente directo, el estudio de Raghavan et al. (2018).

$$N = \frac{(Z_a + Z_b)^2 \cdot (s_1^2 + s_2^2)}{(x_1 - x_2)^2}$$

Donde:

α = Posibilidad de error tipo I

β = Posibilidad de error tipo II

Z_a = Riesgo deseado= 1,96 (95%)

Z_b = Poder estadístico= 1,28 (90%)

s = desviación estándar

$$n = \frac{(1,96 + 1,28)^2 (8,74)}{(5,43)^2}$$

$$n = \frac{(10,4976)(2)(8,74)}{29,48}$$

$$n = 3,11 = 4$$

Teniendo como resultado 3.11, lo que nos indica un mínimo de 4 cultivos por grupo, pero, para tener un resultado más preciso, se analizó 10 cultivos por grupo estudiado.

3.4.1. Criterios de Selección

3.4.1.1. Criterios de inclusión. Placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans*. Placas Petri con cepas de *S. mutans* en buen estado de conservación. Placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans* evaluadas a las 24, 48 y 72 horas.

3.4.1.2. Criterios de exclusión. Placas Petri con cepas contaminadas. Placas Petri que no generaron cultivos de *S. mutans*. *S. mutans* en mal estado de conservación sobre placas Petri.

3.5. Instrumentos

3.5.1. Materiales

Ficha de recolección de datos, hisopos, placas Petri, papel kraft, Matraces Erlenmeyer, tubos de prueba, pinzas y mechero.

3.5.3. Insumos

Clorhexidina 0.12% Perioaid, agua destilada Alkofar, agar Muller Hilton y alcohol al 96°.

3.5.4. Equipos

Incubadora Incucell, esterilizador Memmert, autoclave Daihan Scientific, balanza digital Gehaka, cocina eléctrica Vissioner y regla Vernnier digital.

3.6. Procedimientos

3.6.1. Elaboración del Extracto Hidroetanólico de *Mentha piperita*

Se empezó a investigar el lugar de procedencia del cultivo de la planta de la *Mentha piperita*, una vez identificado la procedencia de la especie en el herbario de la Universidad Nacional Agraria de la Molina, se recolecto una muestra para la determinación taxonómica de la especie en el Herbario del Museo de Historia Natural de la UNMSM.

Se esperó un tiempo de 4 meses para el crecimiento y maduración hasta su periodo de floración para así obtener su mayor beneficio en la elaboración del extracto.

Se recolecto 2kg de hojas de menta piperita, donde fueron trasladadas a las instalaciones del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM.

Posteriormente las hojas de *Mentha piperita* fueron lavadas, separadas del tallo y secadas a temperatura ambiente. Se rotularon en 4 bolsas herméticas, luego fueron llevadas al

laboratorio del Centro de Control Analítico de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, para la elaboración del extracto hidroetanólico de la *Mentha piperita*.

En el laboratorio, las hojas de *Mentha piperita* fueron secadas encima de papel kraft y llevadas a la estufa para un secado final en un periodo de 4 días. Una vez pasado el tiempo se procedió a moler las hojas secas en partículas más pequeñas. A continuación, se pesó la cantidad de 500 gramos y se vertió en un frasco ámbar con una mezcla de alcohol 96° (500mL) y agua destilada (500mL) durante 7 días, en los cuales diariamente fue homogenizado, pasado el tiempo se filtró el extracto con la ayuda de la bomba de vacío, luego se vertió en dos platos de secado y se realizó la concentración de éste con la ayuda de la estufa a 40°C en un lapso de 4 días. Posteriormente, se retiró los dos platos de la estufa y se procedió con el raspado donde se obtuvo el extracto hidroetanólico de la *Mentha piperita* que se vertió en un frasco herméticos de vidrio de coloración ambar, con refrigeración controlada a 4 °C. Luego este extracto fue diluido a las concentraciones de 25%, 50% y 100%.

3.6.2. Obtención de la Cepa

La cepa empleada fue de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obtenido en el laboratorio peruano de biología molecular Gen-Lab, que posee una acreditación de investigaciones que aseguran su estado.

3.6.3. Preparación de los Medios de Cultivos

Se esterilizó las 10 placas Petri, los matraces Erlenmeyer, los tubos de prueba, y pinzas en el autoclave a 121°C por 15 minutos y 15 libras de presión, luego se escurrió y se empaquetó con papel Kraft donde se llevó a la esterilizadora a 180°C por 1 hora.

Para la preparación del medio de cultivo se utilizó el agar Müller Hinton y de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Con la ayuda del matraz Erlenmeyer se suspendió 300 ml de agua destilada estéril y 19 gramos del agar Müller Hinton, con una tapa de algodón estéril se agitó la mezcla y se llevó a ebullición, donde se obtuvo una disolución homogénea.

A continuación, se llevó el matraz con la mezcla al autoclave a 121°C por 15 minutos y 15 libras de presión y se dejó enfriar aproximadamente a 40°C para poder retirar el medio de cultivo en un estado líquido. Consecuentemente se realizó el vaciado de 20ml aproximadamente de la mezcla a las diez placas Petri previamente esterilizadas, donde se dejó reposar hasta que se solidifique a temperatura de ambiente, siempre acompañado con el mechero a una distancia no mayor a 20cm para evitar cualquier contaminación del medio ambiente.

Posteriormente se llevó las placas con el medio de cultivo solidificados a la incubadora a 37°C por 24 horas para control. Transcurrido las 24 horas se revisó las placas con el medio de cultivo para verificar que estén en buen estado y sin presencia de colonias contaminadas.

3.6.4. Análisis Microbiológico

En la activación de la cepa de *Streptococcus mutans* se utilizó una placa Petri con el medio de cultivo de agar Muller Hilton en estado sólido y con la ayuda de un hisopo de punta de algodón se realizó el sembrado con el método de difusión y siempre acompañado en cada momento con el mechero a una distancia no mayor de 20 cm. Posteriormente se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas, donde se obtuvo las colonias.

Una vez obtenido las colonias y con la ayuda de un hisopo de punta de algodón estéril se embebió en agua destilada para extraer las colonias del *Streptococcus mutans* donde se sembró la cepa por el método de difusión o Kirby Bauer en toda la superficie y girando en un ángulo de 60° en las diez placas Petri con el medio de cultivo agar Müller Hinton y acompañado con el mechero a una distancia no mayor de 20 cm.

Una vez realizado el sembrado y con la ayuda de una pinza se colocó los discos en forma equidistantes y embebidos en las concentraciones previamente preparadas del extracto hidroetanólico de la *Mentha piperita* al 100%, 50% y 25%, como control positivo la clorhexidina al 0.12% y como control negativo el agua destilada en las diez placas petri.

A continuación, se llevó las diez placas petri a la incubadora a 37°C donde fue programada por 72 horas, se realizó las lecturas a las 24, 48 y 72 horas los halos de inhibición, donde se midieron con una regla Vernier digital y se registraron en la ficha recolección de datos.

3.7. Análisis de Datos

Para el análisis estadístico se formó una base de datos en Microsoft Excel, siendo llevado al programa SPSS Statistics 25, realizándose el análisis descriptivo de los datos para cuantificar los halos de inhibición. Se evaluó la normalidad a través del test de Shapiro-Wilks y se optó por la prueba paramétrica ANOVA, aplicarse una significancia estadística de $p < 0.05$ en todas las pruebas realizadas.

3.8. Consideraciones éticas

El Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal otorgó la aprobación para la realización de esta investigación. Además, se respetaron los estándares de bioseguridad y las regulaciones de la práctica de laboratorio para la obtención de resultados fiables, previniendo sucesos negativos que comprometan la calidad de los resultados. Además, se honraron las referencias de autores respetando la propiedad intelectual y normas APA.

IV. RESULTADOS

En el presente estudio, fue evaluada la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro, por medio de la medición de la longitud de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas.

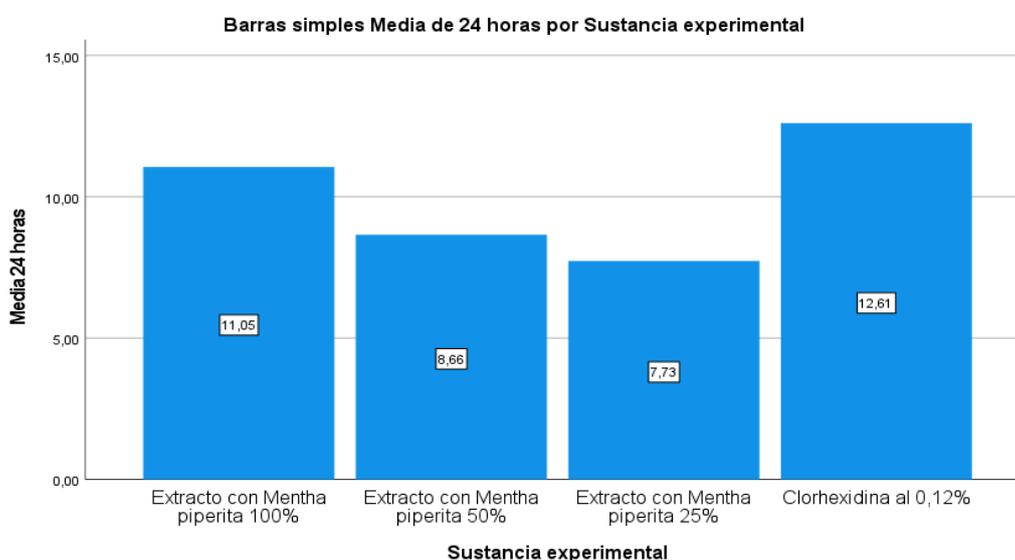
Tabla 1

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas

Sustancia experimental	24 horas				Valor p
	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	
Extracto con Mentha piperita 100%	11,05	0,54	10,22	11,80	<0,001
Extracto con Mentha piperita 50%	8,66	0,39	8,25	9,56	
Extracto con Mentha piperita 25%	7,73	0,18	7,46	7,99	
Clorhexidina al 0,12%	12,61	0,40	12,15	13,50	

Figura 1

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas



Nota. De la tabla 1 y figura 1 se observa que con respecto a los halos de inhibición de la *Mentha piperita* y la clorhexidina a las 24 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo un promedio de $11,05 \pm 0,54$ mm, que la concentración al 50% obtuvo un promedio de $8,66 \pm 0,39$ mm, que la concentración al 25% obtuvo un promedio de $7,73 \pm 0,18$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio de $12,61 \pm 0,40$ mm. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) al realizar la Prueba ANOVA.

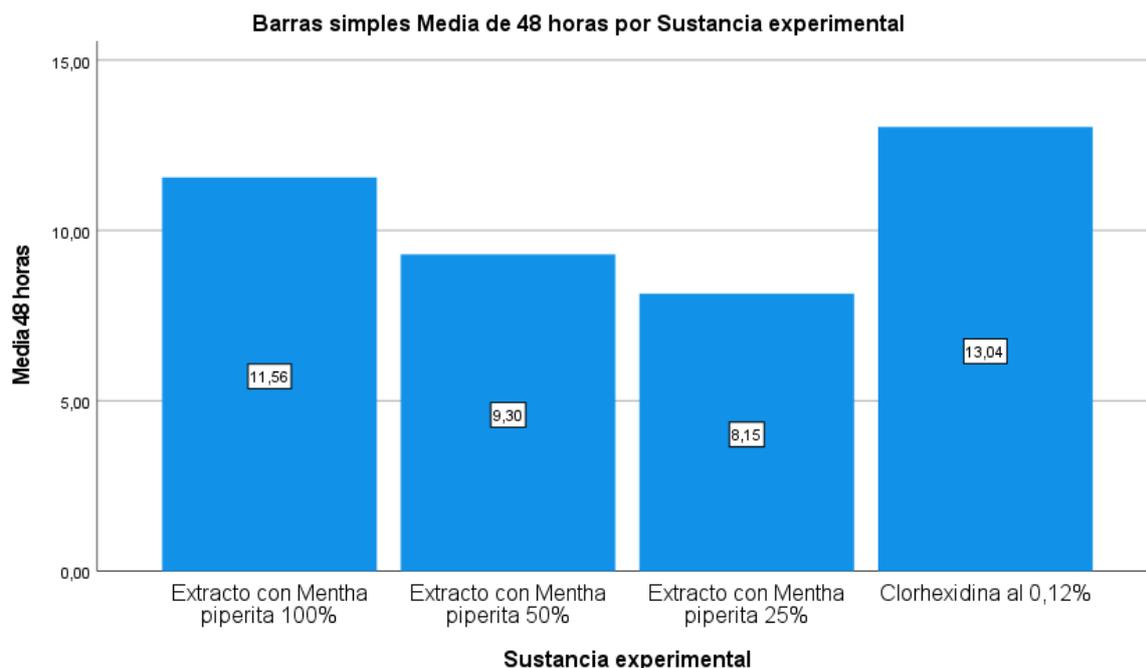
Tabla 2

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas

Sustancia experimental	48 horas				Valor
	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	p
Extracto con Mentha piperita 100%	11,56	0,63	10,70	12,50	<0,001
Extracto con Mentha piperita 50%	9,30	0,54	8,65	10,50	
Extracto con Mentha piperita 25%	8,15	0,32	7,70	8,50	
Clorhexidina al 0,12%	13,04	0,37	12,67	13,60	

Figura 2

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas



Nota. De la tabla 2 y figura 2 se observa que con respecto a los halos de inhibición de la Mentha piperita y la clorhexidina a las 48 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo un promedio de $11,56 \pm 0,63$ mm, que la concentración al 50% obtuvo un promedio de $9,30 \pm 0,54$ mm, que la concentración al 25% obtuvo un promedio de $8,15 \pm 0,32$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio de $13,04 \pm 0,37$ mm. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) al realizar la Prueba ANOVA.

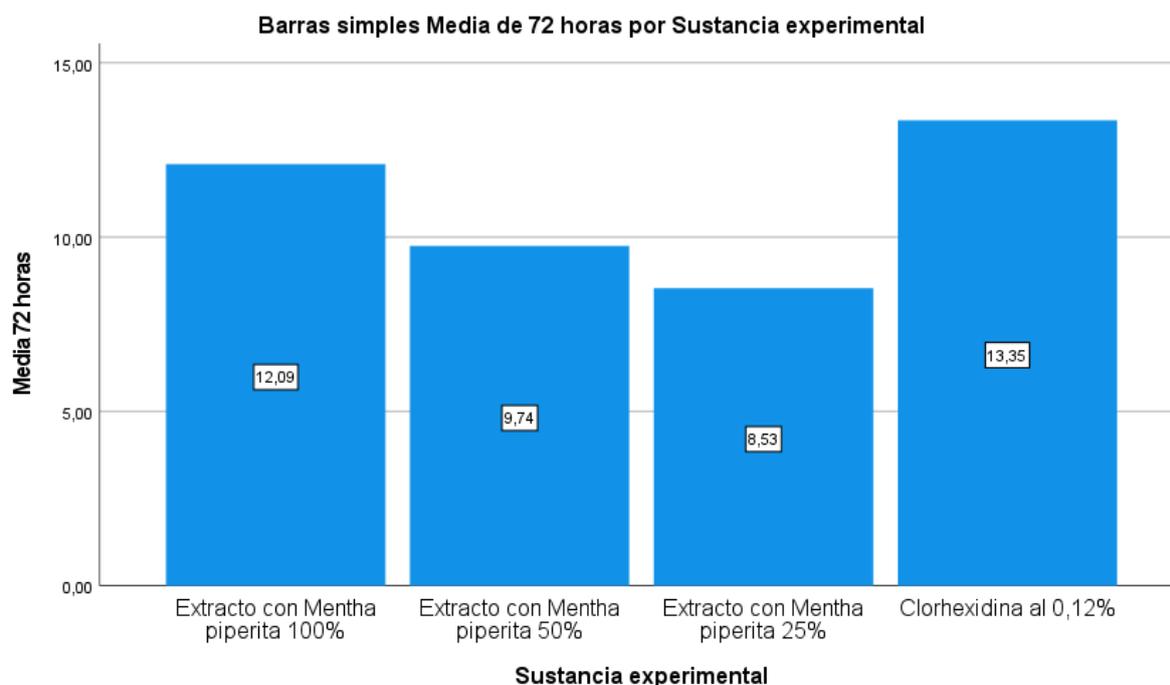
Tabla 3

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 72 horas

Sustancia experimental	72 horas		Valor		
	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	
Extracto con Mentha piperita 100%	12,09	0,54	11,30	12,88	<0,001
Extracto con Mentha piperita 50%	9,74	0,58	9,10	11,20	
Extracto con Mentha piperita 25%	8,53	0,27	7,98	8,89	
Clorhexidina al 0,12%	13,35	0,37	12,88	13,89	

Figura 3

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 72 horas



Nota. De la tabla 3 y figura 3 se observa que con respecto a los halos de inhibición de la Mentha piperita y la clorhexidina a las 72 horas, se encontró que la concentración al 100% obtuvo un promedio de $12,09 \pm 0,54$ mm, que la concentración al 50% obtuvo un promedio de $9,74 \pm 0,58$ mm, que la concentración al 25% obtuvo un promedio de $8,53 \pm 0,27$ mm y que la concentración de clorhexidina obtuvo un promedio de $13,35 \pm 0,37$ mm. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) al realizar la Prueba ANOVA.

Tabla 4

Halos de inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24,48 y 72 horas

Sustancia experimental		Media	Desviación estándar	Valor p
Extracto con Mentha piperita	24 horas	11,05	0,54	<0,001
100%	48 horas	11,56	0,63	
	72 horas	12,09	0,54	
Extracto con Mentha piperita	24 horas	8,66	0,39	<0,001
50%	48 horas	9,30	0,54	
	72 horas	9,74	0,58	
Extracto con Mentha piperita	24 horas	7,73	0,18	<0,001
25%	48 horas	8,15	0,32	
	72 horas	8,53	0,27	
Clorhexidina al 0,12%	24 horas	12,61	0,40	<0,001
	48 horas	13,04	0,37	
	72 horas	13,35	0,37	

Nota. De la tabla 4 se observa que en los extractos al 100%, 50% y 25% existen diferencias a las 24,48 y 72 horas estadísticamente significativas ($p < 0,001$) al realizar la prueba ANOVA

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente trabajado de investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de la *Mentha piperita* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

En nuestros resultados encontramos a las 24 horas, que el extracto de *Mentha piperita* al 100% obtuvo un promedio de $11,05 \pm 0,54$ mm. Mientras que el resultado de Raghavan et al. (2018) encontró un promedio de $20,16 \pm 0,36$ mm. Y con respecto a la clorhexidina como control positivo en nuestro estudio se encontró $12,61 \pm 0,40$ mm y Raghavan et al. (2018) encontraron un promedio de $32,64 \pm 1,34$ de la clorhexidina. Resultados que fueron los más altos porque a pesar de utilizar extractos de *Mentha piperita*, nuestro extracto fue de tipo hidroetanólico, mientras que el de Raghavan fue de tipo acuoso.

Por otro lado, Loja (2023) encontró que a las 24 horas el extracto de *Mentha piperita* al 50% obtuvo un promedio de $0,83 \pm 0,835$ mm y el extracto al 25% obtuvo un halo de $0,58 \pm 0,515$ mm. También Azmi et al. (2024) encontró que a las 24 horas el extracto de *Mentha piperita* al 50% obtuvo un promedio de $4,87 \pm 4,12$ mm y el extracto al 25% obtuvo un halo de $3,67 \pm 3,30$ mm, en comparación a nuestros resultados en el que se encontró $8,66 \pm 0,39$ mm en el extracto al 50% y $7,73 \pm 0,18$ mm en el extracto al 25%; resultados que son mayores a estos dos antecedentes. Y esto se puede deber a que los extractos hidroetanólicos como el nuestro, pueden presentar mayor estabilidad ante los microbios debido al contenido de agua que tiene en comparación a extractos en base a etanol puro.

En nuestros resultados encontramos a las 48 horas, que el extracto de *Mentha piperita* al 100% obtuvo un promedio de $11,56 \pm 0,63$ mm. Mientras que el resultado de Raghavan et al. (2018) encontró un promedio de $34,18 \pm 1,46$ mm. Y con respecto a la clorhexidina como control positivo en nuestro estudio se encontró $13,04 \pm 0,37$ mm y Raghavan et al. (2018) encontraron un promedio de $40,11 \pm 0,98$ de la clorhexidina. Resultados que fueron los más

altos porque a pesar de utilizar extractos de *Mentha piperita*, nuestro extracto fue de tipo hidroetanólico, mientras que el de Rghavan fue de tipo acuoso.

Por otro lado, Loja (2023) encontró que a las 48 horas el extracto de *Mentha piperita* al 50% obtuvo un promedio de $2,42 \pm 1,621$ mm y el extracto al 25% obtuvo un halo de $1,92 \pm 1,24$ mm, en comparación a nuestros resultados en el que se encontró $9,30 \pm 0,54$ mm en el extracto al 50% y $8,15 \pm 0,32$ mm en el extracto al 25%. La diferencia entre los resultados puede deberse a que los extractos hidroetanólicos como el nuestro, pueden presentar mayor estabilidad ante los microbios debido al contenido de agua que tiene en comparación a extractos en base a etanol puro.

En nuestro resultado encontramos a las 72 horas, que el extracto de la *Mentha piperita* al 100% obtuvo un promedio $12,9 \pm 0,54$ mm mientras que el resultado de Loja (2023) encontró un promedio de $2.17 \pm 0,937$ mm, en lo cual se observa una gran diferencia entre los promedios y esto puede deberse también al tipo de extracto, sin embargo, se debe realizar más investigaciones con respecto a mayores tiempos de evaluación de la inhibición bacteriana ya que existen pocos estudios sobre ello.

La respuesta mostrada por el extracto de *Mentha piperita* contra las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24, 48 y 72 horas, con significancia estadística, es un hallazgo prometedor que merece un análisis profundo. En primer lugar, estos resultados sugieren que los componentes activos del extracto de *M. piperita* poseen una actividad antibacteriana sostenida en el tiempo contra *S. mutans*, un patógeno clave para la formación de lesiones cariosas.

En el ámbito profundo de la salud bucodental, estos hallazgos sugieren que el extracto de *M. piperita* podría ser un candidato prometedor para el desarrollo de nuevos agentes preventivos o terapéuticos contra la caries dental. Su origen natural podría hacerlo atractivo

como alternativa o complemento a los tratamientos convencionales, especialmente en un momento en que existe un creciente interés por las terapias basadas en productos naturales.

Esto no solo tiene implicaciones para el manejo de la caries dental, sino que también permite la apertura de nuevas puertas de investigación en el área de la odontología preventiva y fitoterapia aplicada a la salud bucal.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Se demostró que el extracto de la *menta piperita* al 25%, 50% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre la cepa de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

6.2. La clorhexidina al 0,12% y el extracto de *Mentha piperita* al 100% demostraron los valores más altos de efecto antibacteriano contra las cepas de *Streptococcus mutans ATCC 25175* sobre las medidas del extracto de menta piperita al 25% y 50% a las 24, 48 y 72 horas.

6.3. La clorhexidina al 0,12% y el extracto con *Mentha piperita* al 100% no mostraron diferencia significativa, obteniendo valores de halos de inhibición similares, encontrándose ambos con la misma potencia de efecto antibacteriano.

VII. RECOMENDACIONES

7.1 Se recomienda ampliar el estudio para incluir diferentes concentraciones del extracto de *Mentha piperita*, con el fin de determinar la dosis óptima que inhibe el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Esto permitiría establecer una relación dosis-respuesta más precisa y potencialmente identificar la concentración mínima inhibitoria del extracto contra esta bacteria cariogénica.

7.2 Es aconsejable realizar ensayos clínicos controlados para evaluar la eficacia del extracto de *Mentha piperita* en la prevención de caries dental en humanos. Estos estudios deberían incluir un seguimiento a largo plazo de los participantes para determinar los efectos del extracto sobre la salud bucal en condiciones reales y su posible incorporación en productos de higiene oral.

7.3 Se sugiere investigar y utilizar los efectos de la *Mentha piperita* en otro tipo de bacterias, para conocer los efectos que puedan tener sobre estas.

VIII. REFERENCIAS

- Azmi, A., Altaf, A., Jeffrey, J., Ferlita, F., Djohan, S. y Soerachman, B. (2024). Antibacterial and antibiofilm activity of mint leaves (*Mentha piperita* L) extracts against *Streptococcus mutans* UA159: a laboratory experiment. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 26(1), 126-136. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol36no1.52744>
- Camele, I., Gruľová, D., y Elshafie, H. S. (2021). Chemical Composition and Antimicrobial Properties of *Mentha × piperita* cv. 'Kristinka' Essential Oil. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1567. <https://doi.org/10.3390/plants10081567>
- Eftekhari, A., Khusro, A., Ahmadian, E., Dizaj, S. M., Hasanzadeh, A., y Cucchiarini, M. (2021). Phytochemical and nutra-pharmaceutical attributes of *Mentha* spp.: A comprehensive review. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(5), 103106. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103106>
- Fecka, I., Bednarska, K., y Kowalczyk, A. (2023). In Vitro Antiglycation and Methylglyoxal Trapping Effect of Peppermint Leaf (*Mentha × piperita* L.) and Its Polyphenols. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(6), 2865. <https://doi.org/10.3390/molecules28062865>
- Golestannejad Z, Gavanji S, Mohammadi E, Motamedi A, Bahrani M, Rezaei F, Larki B, Amin Mojiri, y Bakhtari A. (2017). Comparison of antibacterial activity of essential oils of *Foeniculum vulgare* Mill, *Mentha arvensis* and *Mentha piperita* against *Streptococcus mutans*. *Advanced Herbal Medicine*, 3(1), 3-13. <https://www.researchgate.net/publication/326246562>
- Iacopetta, D., Ceramella, J., Catalano, A., D'Amato, A., Lauria, G., Saturnino, C., Andreu, I., et al. (2023). Diarylureas: New Promising Small Molecules against *Streptococcus mutans* for the Treatment of Dental Caries. *Antibiotics*, 12(1), 1-13 <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics12010112>

- Karicheri R, Antony B. (2016). Antibacterial and antibiofilm activities of peppermint (*Mentha piperita* linn) and menthol mint (*mentha arvensis* linn) essential oils on aggregatibacter actinomycetemcomitans isolated from orodental infections. *A Journal Following UGC Guidelines*, 3(7), 577-581. <https://www.researchgate.net/publication/305127574>
- Krishna, S. G., Reddy, K. A., Kumar, M. S., Ramu, G., Rajeswari, B. U., y Kiranmai, M. (2020). Effect of polyherbal combinations and essential oils against biofilm of *Streptococcus mutans*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(1), 264-67. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(1\).264-67](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(1).264-67)
- Loja, R. (2023). Estudio in vitro de la Actividad antimicrobiana del extracto de Menta sobre el *Streptococcus mutans*. [Tesis de pregrado, Universidad Católica de Cuenca]. Repositorio de Investigacion Universidad Catolica de Cuenca. <https://dspace.ucacue.edu.ec/home>
- Maduro, J., Tavares, L., Oshiro, J., Besegato, J., Gobbo, P., De Souza, A., y Chorilli. (2023). Anitmicrobial photodynamic therapy mediated by menthylene blue-loaded polymeric micelles against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* biofilms. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 41, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103285>
- Mandava, K., Batchu, U. R., Kakulavaram, S., Repally, S., Chennuri, I., Bedarakota, S., y Sunkara, N. (2019). Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against *S.mutans* glucosyltransferase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1-8. <https://doi:10.1186/s12906-019-2608-3>
- Mathur, A., Prasad, G.B., Rao, N., Babu, P., y Dua, V.K. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha piperita* L. *Rasayan Journal Chemistry*, 4(1), 36-42. <https://www.researchgate.net/publication/230635960>
- Mendoza, R., Quispe, L., Tasayco, L., Chiong, L., Huamán, S., Solis, G., Tecse, A. y Alvitez, D. (2024). Antibacterial efficacy of *Thymus vulgaris* (thyme) oil against

- Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia: In vitro. *Cátedra Villarreal Posgrado*, 3(1), 64-72. <https://doi.org/10.62428/rcvp2024311836>
- Mendoza, R., Alvitez, D., Chiong, L., Silva, H., Mauricio, F. y Mayta, F. (2023). Antibacterial Efficacy of Matricaria recutita Essential Oil against Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia: In Vitro Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 24(8), 551-555. <https://www.thejcdp.com/doi/pdf/10.5005/jp-journals-10024-3543>
- Montenegro, O., Villacrés, B., Armas, A., y Lara, D. (2023). Influencia a nivel sistémico del Streptococcus mutans presente en caries y prótesis dentales: una revisión bibliográfica. *Revista OACTIVA UC Cuenca*, 8(1), 57-64. <https://doi.org/10.31984/oactiva.v8i1.747>
- Nafarrate-Valdez, R. A., Martínez-Martínez, R. E., Zaragoza-Contreras, E. A., Áyala-Herrera, J. L., Domínguez-Pérez, R. A., Reyes-López, S. Y., Donohue-Cornejo, A., Cuevas-González, J. C., Loyola-Rodríguez, J. P., y Espinosa-Cristóbal, L. F. (2022). Anti-Adherence and Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles against Serotypes C and K of *Streptococcus mutans* on Orthodontic Appliances. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 58(7), 877. <https://doi.org/10.3390/medicina58070877>
- Parastar, H., Farahpour, M. R., Shokri, R., Jafarirad, S., y Kalantari, M. (2023). Acceleration in healing of infected full-thickness wound with novel antibacterial γ -AlOOH-based nanocomposites. *Progress in biomaterials*, 12(2), 123–136. <https://link.springer.com/article/10.1007/s40204-022-00216-4>
- Philip, N., Leishman, S., Bandara, H., y Walsh, L. (2020). Growth Inhibitory Effects of Antimicrobial Natural Products against Cariogenic and Health-Associated Oral Bacterial Species. *Oral health y preventive dentistry*, 18(1), 537–542. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a44307>
- Raghavan, R., Devi, M. P. S., Varghese, M., Joseph, A., Madhavan, S. S., y Sreedevi, P. V. (2018). Effectiveness of Mentha piperita Leaf Extracts against Oral Pathogens: An in

- vitro Study. *The journal of contemporary dental practice*, 19(9), 1042–1046.
<https://www.thejcdp.com/doi/JCDP/pdf/10.5005/jp-journals-10024-2378>
- Rautemaa, R., Lauhio, A., Cullinan, M. P., y Seymour, G. J. (2007). Oral infections and systemic disease--an emerging problem in medicine. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(11), 1041–1047. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01802.x>
- Ribeiro, A. y Paster, B. (2023) Dental caries and their microbiomes in children: what do we do now?, *Journal of Oral Microbiology*, 15(1), 1-13.
<https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2198433>
- Skrypnik, L., Golovin, A., y Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of *Lamiaceae* plants grown in a temperate climate. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 14(1), 1-10.
<https://doi.org/10.31083/j.fbe1401003>
- Soares, M. (2013). Antimicrobial natural products. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*, 1(1), 932-939.
<https://www.researchgate.net/publication/259330963>
- Tafrihi, M., Imran, M., Tufail, T., Gondal, T. A., Caruso, G., Sharma, S., Sharma, R., Atanassova, M., Atanassov, L., Valere Tsouh Fokou, P., y Pezzani, R. (2021). The Wonderful Activities of the Genus *Mentha*: Not Only Antioxidant Properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(4), 1118. <https://doi.org/10.3390/molecules26041118>
- Tardugno, R., Pellati, F., Iseppi, R., Bondi, M., Bruzzesi, G., y Benvenuti, S. (2018). Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of

- essential oils on oral pathogenic bacteria. *Natural product research*, 32(5), 544–551.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1329730>
- Trevisan, S., Menezes, A., Barbalhio, S., y Landgraf, E. (2017). Propierties of mentha piperita: a brief review. *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(1), 309-313.
<https://www.researchgate.net/publication/317290799>
- Wang, X., Li, J., Zhang, S., Zhou, W., Zhang, L., y Huang, X. (2023). PH-activated antibiofilm strategies for controlling dental caries. *Frontiers in Cellular Infection Microbiology*. 13, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1130506>
- Wei, H., Kong, S., Jayaraman, V., Selvaraj, D., Soundararajan, P., y Manivannan, A. (2023). Mentha arvensis and Mentha × piperita-Vital Herbs with Myriads of Pharmaceutical Benefits. *Horticulturae*, 9(2), 224. <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae9020224>
- Wiwattanarattanabut, K., Choonharuangdej, S., y Srithavaj, T. (2017). In Vitro Anti-Cariogenic Plaque Effects of Essential Oils Extracted from Culinary Herbs. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(9), DC30–DC35.
<https://doi.org/10.7860//2017/28327.10668>
- Zanini, M., Tenenbaum, A., y Azogui-Lévy. (2022). La caries dental, un problema de salud pública. *Stomatologie, chirurgie orale et maxillo-faciale*, 26(1), 1-8.
[https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(22\)46042-9](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(22)46042-9)
- Zhao, H., Ren, S., Yang, H., Tang, H., Guo, C., Liu, M., Tao, Q., Ming, T., y Xu, H. (2022). Pepermint essential oil: its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 154, 1-13.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>

IX. ANEXOS

9.1. Anexo A

9.1.1. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
<p>¿Cuál es la actividad antibacteriana de la <i>Mentha piperita</i> sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana de la <i>Mentha piperita</i> sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de <i>Mentha piperita</i> al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el 	<p>Existe una buena actividad antibacteriana de la <i>Mentha piperita</i> sobre el <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro</p>	<p>Variable dependiente</p> <ul style="list-style-type: none"> - Actividad antimicrobiana contra <i>Streptococcus mutans</i> <p>Variable independiente</p> <ul style="list-style-type: none"> - Extracto de <i>Mentha piperita</i> <p>Variable interviniente</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tiempo 	<p>Tipo de investigación</p> <p>Experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo</p> <p>Población y muestra</p> <p>La población fueron las placas petri con cultivos de <i>Streptococcus mutans</i></p>

	<p>Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 24 horas.</p> <ul style="list-style-type: none">- Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas.- Determinar los halos inhibición antibacteriana in vitro del extracto de Mentha piperita al 25%, 50% y 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 72 horas.			<p>La muestra estuvo conformada por 10 placas petri para cada grupo experimental obteniendo 40 placas petri con cepas de Streptococcus mutans</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

9.2. Anexo B**9.2.1. Ficha de recolección de datos**

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS					
	MENTHA PIPERITA AL 25%	MENTHA PIPERITA AL 50%	MENTHA PIPERITA AL 100%	CONTROL CLORHEXIDINA 0,12%	CONTROL AGUA DESTILADA
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN A LAS 48 HORAS					
	MENTHA PIPERITA AL 25%	MENTHA PIPERITA AL 50%	MENTHA PIPERITA AL 100%	CONTROL CLORHEXIDINA 0,12%	CONTROL AGUA DESTILADA
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

LONGITUD DE HALO DE INHIBICIÓN A LAS 72 HORAS					
	MENTHA PIPERITA AL 25%	MENTHA PIPERITA AL 50%	MENTHA PIPERITA AL 100%	CONTROL CLORHEXIDINA 0,12%	CONTROL AGUA DESTILADA
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

9.3. Anexo C

9.3.1. *Elaboración del extracto de la Mentha*

9.3.1.1. Recolección de la muestra



Recolección de hojas de Mentha piperita



Obtención de los 2 kg de hojas de Mentha Piperita

9.3.1.2. Taxonomía de la muestra



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

CONSTANCIA N° 144-USM-MHN-2023

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (estéril) recibida de **Santos Angela Llacsahuanga Jiménez**, Bachiller de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal ha sido estudiada y clasificada como: *Mentha x piperita* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Lamiales

FAMILIA : LAMIACEAE

GÉNERO : *Mentha*

ESPECIE : *Mentha x piperita* L.

Nombre vulgar: “Menta”

Procedencia: UNALM - Lima

Determinado por: Bach. Julio Torres Martínez.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 3 de julio de 2023

Dra. Joaquina Alban Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-034, Lima 14, Perú

Telfs. (511)471-0117, 470-4471
265-6819, 619-7000 anexo 5703

e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
<https://museo hn.unmsm.edu.pe>

9.3.1.3. Boleta de pago de la muestra



FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGRARIO

Jr. Camilo Carrillo N° 325 - Jesús María - Lima - Lima

Punto de emisión : Av. La Molina s/n La Molina - Lima - Lima

Página Web: www.fidaweb.com

RUC: 20101259014
BOLETA DE VENTA ELECTRÓNICA
B194 - 00003412

Fecha : 09/11/2023
Identificación: DOC. NACIONAL DE IDENTIDAD
N° Identificación: 01136720
Nombre: varios
Dirección: ---

DESCRIPCIÓN	UND.	CANTIDAD	PRECIO UNIT.	IMPORTE
PLANTA AROMATICA MENTA PIPERITA	NIU	25.00	2.00	50.00

SON: CINCUENTA Y 00/100 SOLES

TOTAL GRAVADA	TOTAL EXONERADA	TOTAL DSCTO.	VALOR VENTA	IMPUESTO	ISC	IMPORTE TOTAL
S/ 0.00	S/ 50.00	S/ 0.00	S/ 50.00	S/ 0.00	S/ 0.00	S/ 50.00

Autorizado mediante resolución N° 0320050000973 /SUNAT

be43EL/IThf/zE8aaPt6fWxaz80=

Puede descargar su comprobante desde el sitio: <http://consulta.fidaweb.com.pe>

9.3.1.4. Elaboración del Extracto



Lavado de hojas de Mentha Piperita.



Las hojas de Mentha piperita después de ser lavadas serán secadas al medio ambiente encima de papel kraff.



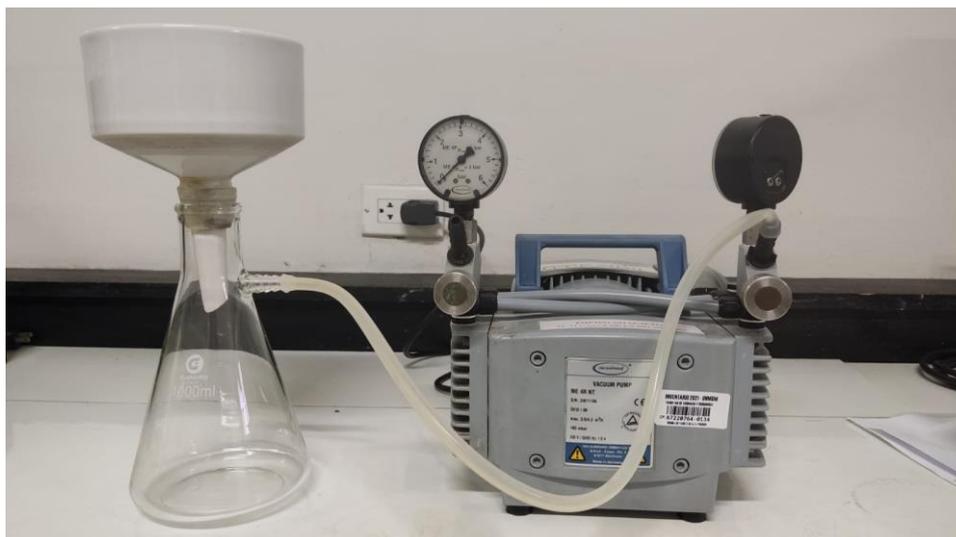
Hojas en la estufa para el secado.



Después de 4 días de secado se procede a moler las hojas secas para la preparación del extracto.



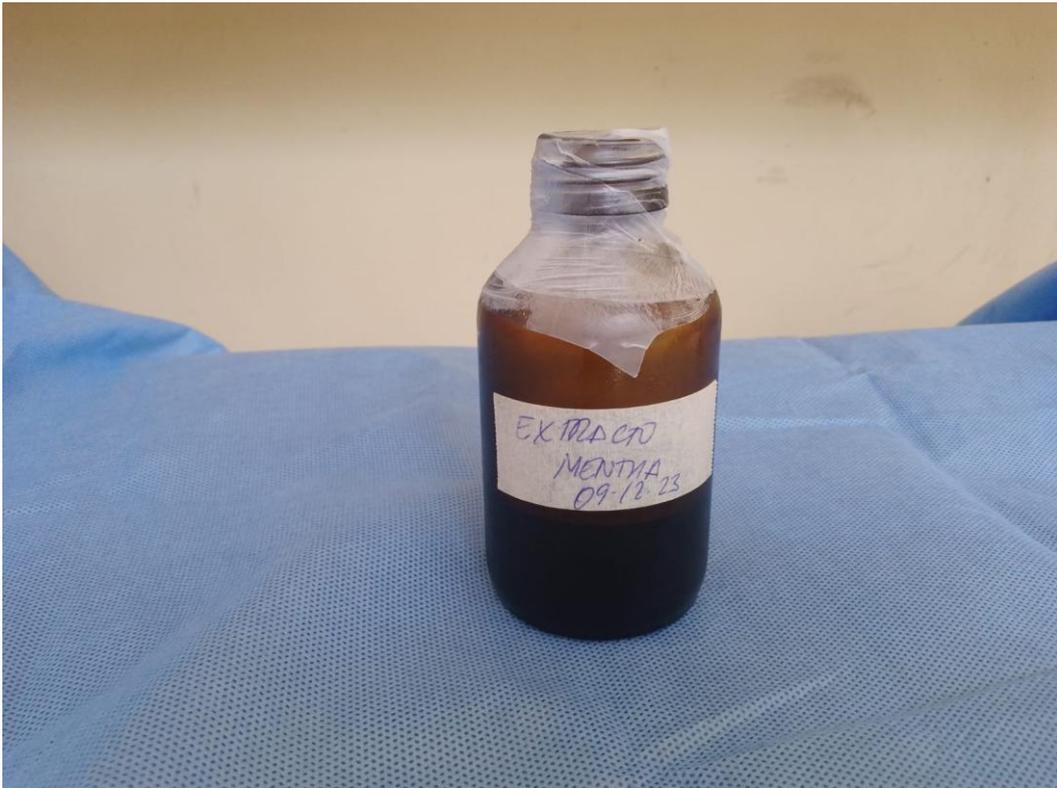
Una vez triturada la muestra se procede a pesar la cantidad de 500 gramos y verterla en un frasco ambar con una mezcla de alcohol 96° (500mL) y agua destilada (500mL) por un lapso de 7 días en los cuales diariamente se estará homogenizando.



Pasado los siete días de extracción se procede a filtrar el extracto con ayuda de la bomba de vacío para luego verterlo en platos de secado y realizar la concentración de este con la ayuda de la estufa a una temperatura de 40°C por un periodo de cuatro días.



Filtrado del Extracto de *Mentha piperita*.



El extracto obtenido es vertido en un frasco ámbar y almacenado en refrigeración a una temperatura de 4°C para su uso.

9.3.1.5. Reporte del análisis del extracto



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
 Universidad del Perú. Decana de América
 Facultad de Farmacia y Bioquímica
 CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO – CCA



REPORTE DE ANÁLISIS N° 00375-CCA-2023

SOLICITADO POR* : SANTOS ANGELICA LLACSAHUANGA JIMENEZ
 DIRECCIÓN* : MZ D LT 6 SIMON BOLIVAR-MOTUPE SJL
 MUESTRA* : HOJAS DE "*Mentha piperita*"
 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : 4 PAQUETES DE 250g
 VARIEDAD RECEPCIONADA* : -
 PRINCIPIO ACTIVO* : - N° CAS*: -
 NÚMERO DE LOTE* : -
 CANTIDAD : 1Kg. Aprox.
 ORDEN DE ANÁLISIS : 0325-2023
 FECHA DE RECEPCIÓN : 09 de noviembre del 2023
 FECHA DE FABRICACIÓN* : -
 FECHA DE VENCIMIENTO* : -
 EJECUCIÓN DEL ENSAYO : Del 11 DE NOVIEMBRE de 2023 al 06 DE DICIEMBRE de 2023
 FECHA DE EMISIÓN : 06 de DICIEMBRE de 2023

ENSAYO	CONCENTRACIÓN	RESULTADOS
EXTRACTO HIDROETANOLICO	100% (peso/volumen)	Conforme



 Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elecuano
 Director del Centro de Control Analítico

*Datos proporcionados por el cliente.
 Los resultados son válidos solo para la muestra enviada.

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puro N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 619-7000 anexo 4824 - 982949135 – Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

9.3.1.6. Constancia de análisis microbiológico



Universidad Nacional
Federico Villarreal

FACULTAD DE
ODONTOLOGIA

"Año de la recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

DEPARTAMENTO ACADÉMICO

CONSTANCIA

EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO ACADEMICO DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL, DEJA CONSTANCIA:

Que la **Bach. SANTOS ANGELA LLACSAHUANGA JIMENEZ** ha realizado su trabajo de investigación en el Laboratorio de MICROBIOLOGIA, Titulado: *EFFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA MENTHA PIPERITA SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC, IN VITRO*, la misma que fue asesorada por el Docente: SIERRA GARMENDIA LAZARO ROBERTO.

Asimismo, dicho trabajo de investigación, se realizó del 13/06 al 26 de 07/2024

Por lo tanto, se le expide la presente **CONSTANCIA** a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Pueblo Libre, marzo del 2025


Dr. **Paul Orestes Mendoza Murillo**
Director
Departamento Académico

9.4. Anexo D

9.4.1. Análisis Microbiológico

9.4.1.1. Cepa del Streptococcus Mutans ATCC25175



Cepa del Streptococo Mutans

9.4.1.2. Factura de la Cepa



GenLab
del Perú

Gen Lab del Perú S.A.C

Jr. Capac Yupanqui N°. 2434

Lince - Lima - Perú

Central Telefónica

(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501

Email : ventas@genlabperu.com

Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260

**FACTURA
ELECTRONICA**

F002-002976

Page 1 of 1

Fecha emisión : 28/11/2023	RUC : 20170934289
Cliente: UNIVERSIDAD NAC. FEDERICO VILLARREAL	
Dirección: CAL.CARLOS GONZALES NRO. 285 RES. SAN MIGUEL SAN MIGUEL - LIMA - LIMA - Peru	
Tipo Mov. : ANTICIPOS	
Lugar de destino : Jirón Puno 1002 - Lima	

G.Remisión	Orden Compra: GL - 23 / 061476	N° Pedido : 034956	Fecha Vcto : 28/11/2023
-------------------	------------------------------------------	------------------------------	-----------------------------------

Código	Descripción	Cant	U/M	Valor Unit.	Dscto	Sub-Total
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1.00	UND	425.3700	0.00	425.37



CONTADO			
Cuotas	Forma Pago	Importe	Fecha Venc.
1	Contado S/	501.94	28/11/2023
	Retención(3.00%) S/	0.00	
	Detracción(0.00) S/	0.00	
	Penalidad		
	Monto Pendiente de Pago S/	501.94	

Sub-Total	425.37
Anticipo	
Op. Gravada	S/
IGV 18%	76.57
Importe Total S/	501.94

QUINIENTOS UNO CON 94/100 SOLES

Representación Impresa de la Factura Electrónica
Consulta : <http://cpe.genlabperu.com>

Observaciones de SUNAT :

La FACTURA numero 20501262260-01-F002-002976, ha sido aceptada

Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el interes legal correspondiente.

Sirvanse Realizar el Depósito Respectivo a las Sigüientes Ctas Bancarias:

BCP Soles 193-1440607-0-84

BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

9.4.1.3. Certificación de la Cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

SPECIFICATIONS: Product Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-36** Reference Number: ATCC® 25175™* Passage from Reference: 3 Expiration Date: 2024/12/31	RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Kalina E George Release Date: 2023/02/01
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1)	
See attached ID System results document.	
Other Features/ Challenges: Results	
(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative	 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div> <div style="text-align: center;">  ATCC Licensed Derivative </div> <div style="text-align: center;"> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 </div> </div>	

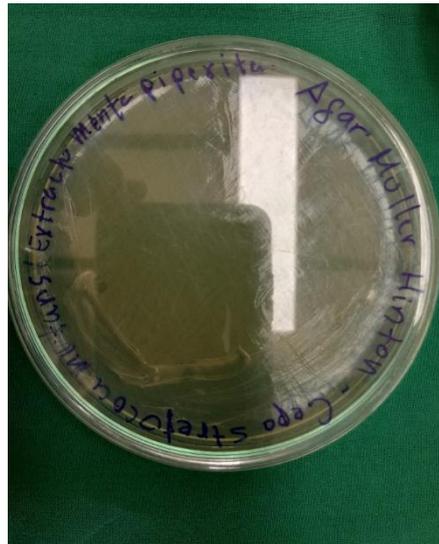
9.4.1.4. Preparación del agar Müller Hinton



Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.



Se preparó 19gr de agar Mueller y se suspendió en un matraz de erlemeyer con 300ml de agua destilada estéril. Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg2 durante 15 minutos. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri.



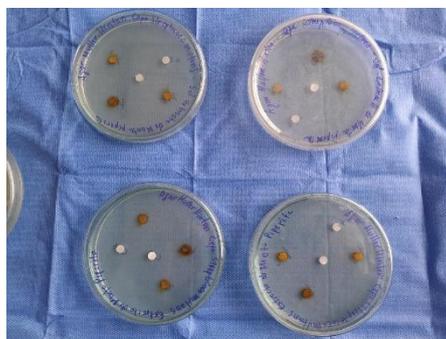
Después de autoclavar se vertió el preparado en placas Petri de vidrio esteriles y uego se lleva a la incubadora por 15 minutos.

9.4.1.5. Sembrado de la Cepa del Streptococcus mutans



Preparación de las colonias e inoculación a las placas.

9.4.1.6. Colocación de los discos de papel con las concentraciones

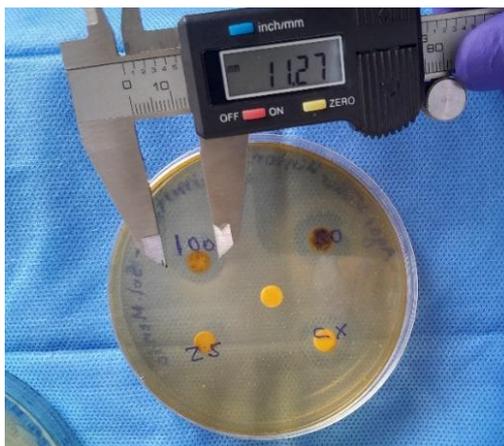


Concentraciones de la muestra al 100%, 50% y 25% y sembrado



9.4.1.7. Lectura de los halos de inhibición

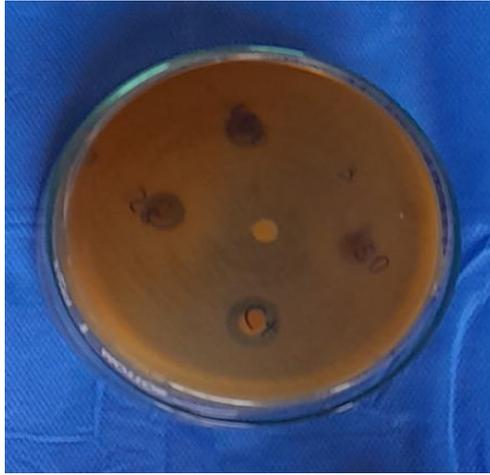
Las 10 placas de las diluciones de la muestra y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24, 48 y 72 horas.



Halos de inhibición de *Mentha piperita* y clorhexidina contra *Streptococcus Mutans* a las 24 horas



Halos de inhibición de *Mentha piperita* y clorhexidina contra *Streptococcus Mutans* a las 48 horas



Halos de inhibición de *Mentha piperita* y clorhexidina contra *Streptococcus Mutans* a las 72 horas