



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) Y CLORHEXIDINA FRENTE AL
STREPTOCOCCUS MUNTANS IN VITRO

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Cayturo Corrales, Wendy Yoshy

Asesora:

Chacón Gonzales, Doris Maura

ORCID: 0000-0003-4845-0791

Jurado:

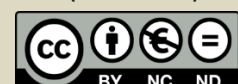
Salazar Sebastian, Alejandro Magno

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Mejia Ticona, Lourdes Alicia

Lima - Perú

2024



EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) Y CLORHEXIDINA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUNTANS IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

22%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	5%
2	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	upc.aws.openrepository.com Fuente de Internet	1%
6	www.cop.org.pe Fuente de Internet	1%
7	scielo.sld.cu Fuente de Internet	1%
8	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) Y CLORHEXIDINA FRENTE AL
STREPTOCOCCUS MUNTANS IN VITRO

Línea de Investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Caytairo Corrales, Wendy Yoshy

Asesora:

Chacón Gonzales, Doris Maura

ORCID: 0000-0003-4845-0791

Jurado:

Salazar Sebastian, Alejandro Magno

Chuna Espinoza, Jorge Dante

Mejia Ticona, Lourdes Alicia

Lima– Perú

2024

Dedicatoria

A Dios por guiarme y no abandonarme en todo momento.

A mis padres por su gran amor y apoyo incondicional en toda mi vida por enseñarme el verdadero amor, por motivarme siempre a superarme y no rendirme frente a mis objetivos.

A mi hermana y personas especiales que estuvieron conmigo a lo largo de esta etapa brindándome su apoyo.

Agradecimiento

Agradezco a Dios por estar conmigo en cada momento siendo mi soporte y fortaleza.

A mis padres por su apoyo y amor incondicional en todo momento.

A la Universidad Nacional Federico Villareal y a todos mis docentes.

A la Mg. Doris Chacón por brindarme sus conocimientos en la realización de mi tesis.

INDICE

Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	2
1.2. Antecedentes	3
1.3. Objetivos.....	7
- Objetivo General.....	7
- Objetivos Específicos.....	7
1.4. Justificación	8
1.5. Hipótesis	9
II. MARCO TEÓRICO	10
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	10
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.....	26
3.7. Análisis de datos.....	30
IV. RESULTADOS.....	32
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	44
VI. CONCLUSIONES.....	46
VII. RECOMENDACIONES.....	47

VIII. REFERENCIAS.....	48
IX. ANEXOS.....	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sumario estadístico del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC- 25175) a las 24 horas.....	31
Tabla 2. Sumario estadístico del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC - 25175) a las 48 horas.....	33
Tabla 3. Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.....	35
Tabla 4. Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.....	37
Tabla 5. Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del control negativo, extracto de Muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas y las 48 horas.....	40

INDICE DE FIGURAS

Figura 01. Distribución del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.....	32
Figura 02. Distribución del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.....	34
Figura 03. Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.....	36
Figura 04. Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.....	38

Resumen

Objetivo: Precisar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Método: se hizo un estudio prospectivo. Se realizó de 60 placas, utilizando tres concentraciones diferentes del extracto hidroetanólico (0.12%, 50% y 100%), se relacionó con el control positivo de clorhexidina al 0.12% a las 24 y 48 horas. Luego se evaluó la capacidad antibacteriana, se utilizó el procedimiento Prueba H de Kruskal-Wallis. Además, se realizó el ensayo posts-hoc por pares de Dunn de comparaciones múltiples. Para comparar los periodos, se empleó el ensayo de Wilcoxon y la prueba t de Student. **Resultados:** Se mostró que, a las 24 y 48 horas, el extracto hidroetanólico de muña al 100% obtuvo un halo inhibitorio de 20.79 mm y 20.12 mm, correspondientemente. En comparación, el extracto al 50% expuso un halo menor de 15.69 mm y 15.12 mm, mientras que la clorhexidina al 0.12% presentó un halo de 17.95 mm y 17.22 mm. Se observó que el extracto hidroetanólico de muña al 100% tuvo un superior halo de inhibición en comparación con la clorhexidina ($p < 0.05$). **Conclusiones:** a las 24 y 48 horas, se obtuvo que el extracto hidroetanólico de muña al 100% obtuvo mejores resultados y valores medios. Estos hallazgos proporcionan evidencia científica para observar la capacidad antibacteriana del extracto hidroetanólico de muña en odontología.

Palabras clave: eficacia antibacteriana, extracto hidroetanólico, *Streptococcus mutans*, muña.

Abstract

Objective: Determine the in vitro antibacterial efficacy of the hydroethanolic extract of *Minthostachys mollis* (muña) and chlorhexidine against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Method: a prospective study was carried out. It was carried out with 60 plates, using three different concentrations of the hydroethanolic extract (0.12%, 50% and 100%), and was related to the positive control of 0.12% chlorhexidine at 24 and 48 hrs. Then the antibacterial efficacy was evaluated, the Kruskal-Wallis H Test method was used. In addition, Dunn's post-hoc pairwise multiple comparisons test was performed. To compare times, the Wilcoxon test and Student's t test were used. **Results:** showed up, after 24 and 48 hrs, the 100% hydroethanolic muña extract obtained an inhibitory halo of 20.79 mm and 20.12 mm, respectively. In comparison, the 50% extract showed a smaller halo of 15.69 mm and 15.12 mm, while the 0.12% chlorhexidine presented a halo of 17.95 mm and 17.22 mm. It was observed that the 100% hydroethanolic extract of muña had a greater inhibitory halo compared to chlorhexidine ($p < 0.05$). **Conclusions:** at 24 and 48 hours, it was found that the 100% hydroethanolic extract of muña obtained better results and average values. These findings provide scientific evidence to observe the antibacterial efficacy of the hydroethanolic extract of muña in dentistry.

Keywords: Antibacterial efficacy, hydroethanolic extract, streptococcus mutans, muña.

I. INTRODUCCIÓN

La salud bucodental es un componente crucial de la salud pública, y su abordaje efectivo es esencial para prevenir y controlar enfermedades bucodentales. En 2017, el Ministerio de Salud (MINSA) realizó una evaluación exhaustiva de las acciones tomadas por los centros de salud a nivel nacional para la prevención de enfermedades bucodentales. Esta iniciativa subraya la importancia de abordar de manera integral las condiciones bucales, considerando el impacto significativo que estas enfermedades tienen en la población. La catalogación de las enfermedades bucodentales como una problemática de salud pública destaca la necesidad de estrategias efectivas y enfoques innovadores para su prevención y tratamiento.

En la exploración de alternativas para el tratamiento de complicaciones de salud pública, se ha contemplado un creciente interés en el uso de medicina natural. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha distinguido la importancia de los productos naturales y ha impulsado la investigación en la obtención de recientes medicamentos de origen de extractos o aceites esenciales de plantas. La aplicación de procedimientos avanzados, como la cromatografía de gases unida a espectrometría de masas (GC/MS), permite la identificación y separación efectiva de componentes presentes en estos productos naturales. Este enfoque representa un paso significativo hacia la obtención de nuevos tratamientos, explorando el potencial terapéutico de las plantas en el contexto de la salud bucal.

En el ámbito de la investigación de la susceptibilidad de patógenos que afectan la salubridad bucal, diversos métodos han sido empleados, proporcionando una evaluación precisa de la sensibilidad de patógenos específicos, incluyendo *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Estas herramientas permiten analizar de manera detallada la eficacia de diferentes sustancias, como extractos de plantas, en la inhibición de

estos patógenos, abriendo nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos más efectivos en el ámbito de la salud bucal (Cedeño 2019; Peña y Gutiérrez, 2017; Torrenegra et al., 2016).

1.1 Descripción y Formulación del Problema

Varios investigadores, como Machado y Reyes (2021), han demostrado que *Streptococcus mutans* es el causante predominante responsable de la caries en la cavidad oral, debido a su alta virulencia y su habilidad para invadir las superficies retentivas de los dientes. La capacidad de producir cantidades significativas de ácidos a potencial de hidrógeno (pH) bajo vincula a los lactobacilos con el desarrollo de lesiones cariosas. La saliva desempeña funciones esenciales para mantener la homeostasis bucal y preservar la salud de los tejidos orales. En los finales años, se ha empleado la saliva como principio de estudio no invasivo y como un medio complementario de diagnóstico. *Streptococcus mutans*, clasificado como una bacteria anaerobia facultativa Gram positiva, forma parte del microbiota de la cavidad bucal. Según las investigaciones, se ha instaurado que *Streptococcus mutans* es la principal causa de enfermedades bucodentales, como la caries bucal. (Berkowitz, 1975; Mechado y Reyes, 2021).

Ciertos cambios fisiológicos en la saliva pueden tener efectos negativos en la salud bucal. Estos efectos no solo afectan las encías, sino también los dientes de los pacientes. La saliva experimenta una reducción en su capacidad de regular el pH y un aumento en la presencia de microorganismos acidogénicos. Estos cambios pueden tener consecuencias adversas para la salud bucal. (como por ejemplo el *Streptococcus mutans*), pueden tener efectos sobre la salud bucodental. en la indagación de posibilidades para el procedimiento de complicaciones de salud pública, ha habido un crecido interés en el uso de medicina natural. La OMS reconoce la magnitud de los productos naturales y promueve la investigación en la obtención de recientes medicamentos a partir de extractos o también aceites esenciales de plantas. La aplicación de procedimientos avanzados. Este enfoque simboliza un avance significativo para obtener nuevos

tratamientos, explorando el potencial terapéutico de las plantas en el ámbito de la salud bucal (Cedeño 2019; Peña y Gutiérrez, 2017; Torrenegra et al., 2016).

Tenemos el uso de la clorhexidina como enjuague bucal para el tratamiento no invasivo y preventivo, puesto que se ha probado su eficacia y eficiencia para el control de microorganismos desencadenantes de las más frecuentes patologías bucales. La clorhexidina se relaciona al grupo de las biguanidas, es una sustancia antiséptica que presenta una labor bactericida y fungicida, encontrándose en la lista de fármacos esenciales de la OMS, catalogado según la Food and Drug Administration (FDA) en el grupo B (OMS, 2016).

Peña y Gutiérrez (2017), en nuestro país, Perú, demostró el efecto antimicrobiano la *Minthostachys mollis*, que ha evidenciado efectos de una serie de bacterias en vías respiratorias bajas. A nivel oral, el aceite esencial, que a su vez son productos naturales de gran valor e importancia económica, ha argumentado tener propiedades antibacterianas *Staphylococcus aureus* y sobre *Klebsiella pneumoniae* (Peña y Gutiérrez, 2017; Salas, 2015; Torrenegra et al., 2016).

La evidencia científica, Paucar et al. (2020), nos muestra estudios in vitro que prueban el efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% sobre el microbiota bucal; sin embargo, no se encuentran estudios que prueben la eficiencia del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones y su comparación con la clorhexidina a similares concentraciones frente a cepas bacterianas como la *Streptococcus mutans*. Se plantea la siguiente interpelación:

¿Cuál es la eficacia antibacteriana del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina frente al *Streptococcus mutans*?

1.2 Antecedentes

Navarro (2021) en Puno, Perú en su trabajo de investigación planteo como propósito principal estimar de que el efecto antimicrobiano del extracto de muña en comparación con la

Clorhexidina al 0.12 % ante las cepas del *Streptococcus mutans*. Para la realización de esta investigación se consiguió 10 ml aceite esencial de muña a partir de 10 kg de esta planta trabajadas a diferentes concentraciones. Se adaptó la metodología de Kirby Bauer para definir el efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans*. Para el estudio de los resultados se utilizó como prueba estadística la prueba “T” y el ANOVA los cuales permitieron concluir que el aceite de muña a concentraciones del 25% tiene inhibitorio in vitro ante el *Streptococcus mutans* lo cual deja de manifiesto como evidencia científica en el campo de la odontología el uso del aceite esencial de muña.

Paucar et al. (2021) guiaron a cabo una exploración en Lima, Perú, con la finalidad de establecer la acción del extracto de *Minthostachys mollis* en distintas concentraciones en comparación con la doxiciclina y el fluconazol frente a *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, a las 24, 48 y 72 horas. Utilizaron 15 placas por subgrupo para estimar el efecto inhibitorio de todas las densidades, dando un total de 360 pocillos. Mediante cromatografía de gases junto a espectrometría de masas, se relacionaron los componentes químicos del aceite esencial. El efecto inhibitorio se examinó utilizando el sistema de difusión de Kirby-Bauer en Agar Columbia y Agar Muller Hinton. El estudio estadístico se efectuó utilizando la prueba Analysis of Variance (ANOVA) y Tukey. Los resultados dieron que los componentes químicos principales identificados fueron pulegona (30,17 %) y mentona (16,55 %). Los halos de inhibición del extracto de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas frente a *Porphyromonas gingivalis* fueron de 10,2 mm, 9,8 mm y 9,6 mm respectivamente; frente a *Staphylococcus aureus* fueron de 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm respectivamente; y finalmente, frente a *Candida albicans* fueron de 9,8 mm, 8,9 mm y 8,5 mm respectivamente. Se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % mostró la mejor actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas*

gingivalis y *Candida albicans* a las 24 horas. Sin embargo, este efecto antimicrobiano disminuye a medida que pasa el tiempo.

Bonifacio (2019) realizó un estudio con el propósito de equiparar el efecto antibacteriano in vitro de cuatro dimensiones de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* American Type Culture Collection (ATCC) 25175. Se obtuvo un aceite esencial el cual empleo el método de destilación por arrastre de vapor de agua, obteniendo 10 ml después del proceso. Este fue diluido para obtener cuatro concentraciones al 5%, 10%, 25% y 50%. El efecto antimicrobiano se dio mediante el método de Kirby Bauer. Los valores promedio de los halos de inhibición fueron de 9.6 mm al 5% de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis*, 10.3 mm al 10%, 17.9 mm al 25% y 22.9 mm al 50%. Como conclusión de la investigación, se encontró que el aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* al 50% mostró un mayor efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en comparación con las otras tres concentraciones.

Mejía y Silva (2019) llevaron a cabo un estudio titulado "Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* kunth griseb (muña) Y *Dodonaea viscosa* (chamana) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*". El objetivo del estudio fue equiparar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales. La metodología utilizada consistió en la obtención de los aceites esenciales mediante el método de arrastre por vapor de agua. Se realizaron diluciones del aceite en concentraciones del 10%, 50% y 100%. El efecto antimicrobiano se determinó utilizando el método de Kirby Bauer. Se encontró que *Minthostachys mollis* tiene efecto sobre *S. aureus* en todas las densidades, mientras que *Dodonaea viscosa* solo tiene efecto a densidades del 50% y 100%. Por otro lado, *P. aeruginosa* es sensible al aceite esencial de *Minthostachys mollis* solo a densidades del 10% y 50%, y al aceite esencial de chamana solo a concentración del 100%.

Como conclusión, se determinó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* es significativamente más efectivo que el aceite esencial de *Dodonaea viscosa* (chamana).

Espinoza et al. (2018) condujo un estudio en Perú para evaluar in vitro la efectividad antifúngica del extracto metanólico de *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepas de *Candida albicans*. Se obtuvieron extractos metanólicos de las hojas, tallos y raíces de *Minthostachys mollis*. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto se acordó mediante el método de microdilución y se evaluó la citotoxicidad utilizando la línea celular Madin Darby Canine Kidney (MDCK). Los resultados mostraron que el extracto de hojas y tallos de *Minthostachys mollis* presentó una mayor actividad fungistática frente a *Candida albicans*, con halos de inhibición de 47.72 ± 6.67 mm y 46.58 ± 6.42 mm respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos extractos. La CMI fue de 46.87 mg/ml, 93.75 mg/ml y 1500 mg/ml para hojas, tallos y raíces respectivamente. Como conclusión, se determinó que el extracto metanólico de *Minthostachys mollis* tiene actividad fungistática y fungicida contra cepas de *Candida albicans*. Ninguno de los extractos resultó ser tóxico para las líneas celulares.

Peña y Gutiérrez (2017) llevaron a cabo una búsqueda en Perú con la finalidad de demostrar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en las vías respiratorias. Se obtuvo el aceite esencial mediante el sistema de hidrodestilación. El estudio mostró un efecto antimicrobiano en *Staphylococcus aureus*, con un halo de inhibición de 19,3 mm, y de 8,0 mm frente a *Klebsiella pneumoniae*. Sin embargo, las cepas de *Staphylococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no presentaron halos de inhibición. Como conclusión del estudio, se determinó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) tiene un efecto antibacteriano frente a dos cepas frecuentes de las vías respiratorias bajas.

Aigaje y Zurita (2017) llevaron a cabo una investigación in vitro en Quito, Ecuador, con el objetivo de determinar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en concentraciones del 25%, 50% y 100% frente a *Porphyromonas gingivalis*. Se obtuvo un aceite esencial empleando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, adquiriendo 10 ml después del método. Luego, este aceite fue disuelto para conseguir tres concentraciones: 25%, 50% y 100%. Se utilizó clorhexidina al 0,12% y ampicilina de 10ug como controles positivos, y agua como control negativo. Los resultados mostraron que la efectividad antimicrobiana en la concentración del 25% alcanzó un halo promedio de 11,2 mm, en la concentración del 50% la efectividad alcanzó una media de 9,6 mm, y en la concentración del 100% se logró un promedio de 13,6 mm, siendo esta última la más eficaz. Los controles positivos mostraron ser muy sensibles y sumamente sensibles, mientras que el control negativo no mostró efectividad.

Quichca (2016) Lima, Perú llevaron a cabo un estudio Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro, La población estuvo conformada por 40 placas Petri con cepas de *Porphyromonas gingivalis*, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50%,100% así como Clorhexidina al 0.12% y agua destilada obteniendo como resultado que las concentraciones al 50% y 100% del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presentaron un halo de inhibición de $6.72 \pm 0.37\text{mm}$ y $10.81 \pm 0.79\text{mm}$ respectivamente a las 24 horas, mientras que $5.83 \pm 0.51\text{mm}$ y $8.24 \pm 0.75\text{mm}$ a las 48 horas respectivamente, mientras que la Clorhexidina mostró un halo de inhibición de $15.8 \pm 0.73\text{mm}$ a las 24 horas y $15.98 \pm 0.80\text{mm}$ a las 48 horas frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %, 100% son menos eficaces que la Clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas Gingivalis* a las 24 y 48 horas.

1.3 Objetivos

Objetivo General

Estimar la eficacia antimicrobiana in vitro de la Clorhexidina en enjuague al 0,12% y del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* al 0,12%, 50% y 100% frente a *Streptococcus mutans*.

Objetivos Específicos

- Limitar in vitro el diámetro de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de muña (*Minthostachys mollis*) al 0.12%, 50% y 100% in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* 24 horas.
- Delimitar in vitro el diámetro de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de muña (*Minthostachys mollis*) al 0.12%, 50% y 100% in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans* 48 horas.
- Definir in vitro el diámetro de halo de inhibición de la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* 24 horas.
- Definir in vitro el diámetro del halo de inhibición de la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* 48 horas.
- Comparar el promedio de diámetro del halo de inhibición del extracto hidroetanólico de muña (*Minthostachys mollis*) al 0.12%, 50% y 100% y clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas.

1.4 Justificación

- *Teórico*

El vigente estudio pretende recomendar a los expertos odontólogos la posibilidad de acudir a la medicina natural como terapia en la salud bucal, así como el uso de plantas naturales

como la *Minthostachys mollis* en la preparación de soluciones antimicrobianas sobre la flora bucal mixta causante y/o desencadenante de enfermedades bucales.

- ***Social***

La divulgación de esta investigación tiene como finalidad brindar a los pacientes la información necesaria sobre la terapia preventiva, la importancia de una buena salud bucal y las acciones que se deberían tomar frente a esta situación; así mismo, la promoción y la prevención permitirá una mayor clase de vida en pacientes con limitaciones en la higiene bucal. También permitirá reducir gastos al buscar un antiséptico comercial frente a los microorganismos patógenos bucales como el Perio-Aid al 0.12% (Digluconato de Clorhexidina 0,12% y Cloruro de Cetilpiridino).

- ***Práctico/clínico***

Además, en el ámbito clínico, permitirá tener alternativas y/o coadyuvantes para el manejo y los controles que deberá tener cada persona ante patologías bucales que se presentan con frecuencia como, la caries dental y las periodontopatías, y a su vez reduciendo y/o eliminando los efectos adversos que puedan presentarse. Esta terapia alternativa no exclusiva de las pacientes gestantes, busca llegar a introducir la solución de *Minthostachys mollis* por su efectividad antimicrobiana mayor o igual al que de la clorhexidina al 0,12%, también permitiría reducir costos en la adquisición del producto comercial de clorhexidina y disminuirá o anularía los efectos adversos por ser un producto natural.

1.5. Hipótesis

Existe eficacia antibacteriana del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* (muña) al 0,12%, 50% y 100% frente al *Streptococcus mutans* en relación con el grado de eficacia antibacteriana de la Clorhexidina al 0,12% frente a la inhibición del *Streptococcus mutans* cepa ATCC 2575.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases Teóricas sobre el Tema de Investigación

2.1.1 Nutrición

La dieta esencial para una buena salud bucal; además, de ser esencial, una dieta adecuada también es crucial para el impulso de la salud bucal. Un tercio de los casos de carcinogénesis bucal están relacionados con la nutrición, que también interfiere con el desarrollo de la mucosa craneofacial y oral y tiene un impacto significativo en cómo se manifiestan los problemas dentales y periodontales. La comida afecta la salud de una persona y puede causar que se manifiesten enfermedades de la boca. Para actualizar el conocimiento sobre el resultado de la dieta en la salud dental, se realizó una revisión de la literatura.; sin embargo, también es estimada uno de los causantes de riesgo más significativo de una buena salud bucal, es decir, una buena alimentación y nutrición ayuda a prevenir dolencias bucales recurrentes como la enfermedad periodontal y caries dental que hasta el día de hoy siguen siendo comunes, afectando a gran parte de la población. Una dieta cariogénica contribuye la aparición de caries dental, son sinérgicos, esto no solo está determinado por el tipo de alimento que consumimos, sino también por regularidad con la que ingerimos, una buena nutrición permite tener una boca saludable y eficiente para realizar la masticación de los alimentos que ingerimos, siendo el primero paso de nuestra digestión (Crespo et al., 2021; Rodríguez, 2009).

La caries dental es el padecimiento más común y la dieta tiene un impacto significativo en su desarrollo. Se distingue por el hecho de que es una enfermedad influenciada por una serie de variables, incluyendo la anatomía dental, la alimentación, la presencia de placa bacteriana y microorganismos. La duración de la afección, el componente salival, el sistema inmunológico, el nivel socioeconómico, el grado de educación, el modo de vida y la exposición a los fluoruros son otras variables relevantes. Los carbohidratos de la dieta son por lo general los coligados a la formación de caries dental, estos son metabolizados por los microorganismos responsables

de producir ácidos que atacan principalmente al esmalte, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, provocando su desmineralización (Guzmán et., 2022; Ralph et al., 1996).

El carbohidrato principalmente asociado con la presencia de caries es:

- Sacarosa: Conocido como azúcar común, es un disacárido formado por glucosa y fructosa, forma unos compuestos llamados glucanos a los que las bacterias se adhieren firmemente, es considerado el más cariogénico (Ralph et al., 1996).

Los componentes dietéticos incluyen el calcio de los productos lácteos y vegetales y el fosfato de las comidas ricas en proteínas como los cereales y los de origen animal que son beneficiosos para la remineralización de los dientes y la reducción de la enfermedad periodontal. La ingesta de almidón y azúcar, especialmente en niños y adolescentes, ha aumentado recientemente y ambos tienen un papel epidemiológico importante. La sacarosa y otros carbohidratos, como la lactosa y fructosa, también están relacionados con la presencia de caries dental. Estos carbohidratos poseen bajo peso molecular, lo que les permite ser accesible en la saliva. Esta propiedad facilita su difusión dentro del biofilm y los hace biodisponibles para ser hidrolizados por los microorganismos acidúricos presentes en la cavidad oral, produciendo ácido láctico como producto final. Es notable tener en cuenta que el descenso del pH a un nivel crítico después de consumir sacarosa es inmediato, mientras que con los almidones puede tardar horas. Sin embargo, esto no significa que los almidones no sean cariogénicos, ya que la amilasa presente en la saliva puede descomponerlos en glucosa. (Guzmán et., 2022; Ralph et al., 1996).

Encontramos diversos artículos en los que se demuestra que existe una asociación entre la dieta cariogénica y la caries dental, en un estudio sobre Factores de riesgo ligado con la caries dental en niños de círculos infantiles. Los factores de riesgo fundamentalmente afiliados con la llegada de la caries dental fueron la ingestión no controlada de una dieta cariogénica y la higiene bucal deficiente (Rodríguez et al., 2009).

2.1.2 Clorhexidina

La clorhexidina es el antibacteriano con mayores estudios y demostrado como el más apto para la inhibición de la flora saliva y el biofilm. Se considera un agente antiplaca estándar dorado, contra el cual se mide la eficacia de otros agentes antiplaca y antigingivitis. Su capacidad puede atribuirse a propiedades bacteriostáticas y bactericidas y su sustentividad dentro de la cavidad oral. Las propiedades antimicrobianas de la clorhexidina se atribuyen a su molécula bicatónica, y esta misma propiedad es la base de su efecto secundario más común, la tinción dental extrínseca (Marthur et al., 2011).

La inhibición del biofilm por parte de la clorhexidina fue analizada por primera vez por Schroeder (Schroeder, 1969). Los biofilms hechos de polímeros extracelulares son formados por microorganismos cuando se adhieren a superficies tanto vivas como no vivas, incluidas las de dispositivos médicos permanentes. Los microorganismos se adhieren tenazmente a la superficie y son muy resistentes al tratamiento antimicrobiano bajo esta condición. Los investigadores deben crear métodos de detección y evaluación confiables, analizar cómo las biopelículas contribuyen a la resistencia a los medicamentos antimicrobianos y establecer una conexión entre la contaminación por biopelículas y la infección de la piel para comprender y manejar mejor las biopelículas en los dispositivos médicos permanentes. Los pacientes pueden experimentar una inhibición del crecimiento de la placa cuando se administra poco después de una inyección de sulfato de ácido láurico bucal antisepsia (Cova et al., 2020; Schroeder, 1969).

2.1.2.1 Toxicidad, Seguridad y Efectos Colaterales. La clorhexidina reduce su imbibición por medio de la piel y las mucosas, incluyendo el tubo digestivo. Por lo tanto, no hay anuncios de toxicidad sistémica por su aplicación tópica o ingestión, ni evidencia de teratogenicidad en modelos animales. La clorhexidina es bien aceptada, incluso en infusiones endovenosas en animales, y se ha aplicado a humanos sin consecuencias graves. En estudios con roedores, la dosis letal 50 (. LD 50) por vía oral es de 1800 mg/kg. y por vía endovenosa

es de 22 mg/kg. Sin embargo, su introducción en el oído medio puede causar hipoacusia neurosensorial, y no se puede aplicar en el oído externo si el tímpano no está perforado.

La clorhexidina tiene una amplia acción antimicrobiana contra virus grampositivas y gramnegativas, así como algunos hongos, levaduras y ciertos virus como el virus de hepatitis B (HBV) y el virus de inmunodeficiencia humana (HIV). No hay documentación de resistencia bacteriana por su uso bucal a largo plazo, ni evidencia de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. El uso prolongado de clorhexidina bucal puede provocar un ligero cambio en la flora oral hacia microorganismos menos sensibles, pero esto se revierte raudamente al finalizar el intervalo de estudio de dos años.

El empleo de clorhexidina puede tener efectos secundarios locales reversibles, como el tono marrón de los dientes, la lengua y las restauraciones estéticas dentales de silicato y resina. También puede causar una alteración momentánea del gusto, erosión de la mucosa bucal con enjuagues al 0,2% de clorhexidina, tumefacción de las glándulas parótidas y un aumento en el grosor del cálculo supragingival.

En términos de toxicidad sindrómica, los efectos de la clorhexidina en humanos son muy bajos y no se ha observado defensa microbiana oral detectada. Aunque algunos profesionales y pacientes expresan preocupación por el contenido alcohólico del 12% en algunos preparados de clorhexidina, no existe evidencia epidemiológica que demuestre una asociación entre el uso de enjuagues bucales con alcohol y el cáncer bucal.

En casos de calentamiento extremo, la clorhexidina puede generar 4-cloroanilina, un compuesto que se ha probado ser carcinogénico y mutagénico este constituido en los preparados de clorhexidina, y los productos disponibles no superan los 5 ppm incluso después de exposiciones prolongadas a temperaturas superiores a 40°C. No se ha demostrado la metabolización de la clorhexidina a 4-cloroanilina en estudios con animales.

Es importante tener en cuenta que estos son resultados y hallazgos científicos, pero siempre se sugiere asesorarse a un profesional de la salud antes de utilizar cualquier producto o tratamiento.

2.1.2.2 Sustantividad de la Clorhexidina. La propiedad de los medicamentos de ser absorbidos y vincularse a los tejidos blandos y duros se conoce como sustentividad, y esta característica fue descubierta por primera vez en correlación con la clorhexidina en los años 70. En esta investigación se continuaron los estudios para conseguir más información sobre los factores que pueden dañar la retención del fármaco en la cavidad oral. Se demostró que la sustentividad está influenciada por la concentración del medicamento, su pH, temperatura y el tiempo de contacto con las estructuras bucales. Esta característica de la clorhexidina está afiliada con su capacidad para conseguir concentraciones efectivas durante períodos prolongados, lo que la hace especialmente adecuada para inhibir la formación de placa dental.

Después de su descubrimiento en la investigación sobre la malaria a finales de la década de 1940, la clorhexidina se ha convertido en uno de los antisépticos más usados en las prácticas dentales. Se ha encontrado que tiene un grande espectro antibacteriano, lo que denota que no solo es efectiva contra gérmenes, sino incluso contra otras bacterias como ciertos hongos y virus. Debido a su capacidad de adherirse a la queratina y causar menos irritación en la piel en comparación con otros medicamentos, también tiene una acción residual (Bonesvoll et al., 1974; Cova et al., 2020).

2.1.2.3 Mecanismo de Acción. La clorhexidina, un agente antimicrobiano ampliamente utilizado en productos de cuidado personal y soluciones antisépticas, ejerce su acción a través de un mecanismo multifacético que aborda la viabilidad y proliferación de microorganismos. Su efectividad se basa en la interacción con las membranas celulares, interfiriendo con varios procesos biológicos esenciales para la supervivencia de bacterias y otros microorganismos.

En primer lugar, la clorhexidina se une a la superficie de las células microbianas, alterando la permeabilidad de las membranas celulares. Este proceso conduce a la fuga de componentes celulares esenciales, como iones y moléculas intracelulares, comprometiendo la homeostasis celular y resultando en la disrupción de las funciones vitales de los microorganismos.

Además, la clorhexidina exhibe propiedades bacteriostáticas y bactericidas al interferir con la síntesis de ácidos nucleicos. Al penetrar en las células microbianas, la clorhexidina se une al ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), inhibiendo la replicación y la transcripción. Este mecanismo impide la capacidad de los microorganismos para generar información genética nueva y, por lo tanto, interrumpe su capacidad de reproducción y crecimiento.

Otro aspecto clave del mecanismo de acción de la clorhexidina es su capacidad para precipitar las proteínas celulares. Al interactuar con las proteínas de la membrana y del citoplasma, la clorhexidina induce la formación de complejos insolubles, lo que resulta en la desnaturalización de las proteínas y el daño de su funcionalidad. Esta acción tiene un impacto significativo en la funcional y completitud estructural de las células microbianas, contribuyendo a la eficacia general del agente antimicrobiano.

Es importante destacar que la clorhexidina muestra una actividad antimicrobiana de amplio espectro, afectando a una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias grampositivas, gramnegativas y algunos hongos. Su capacidad para abordar diferentes aspectos de la viabilidad celular hace que la clorhexidina sea un agente antimicrobiano versátil y eficaz en diversas aplicaciones, desde la higiene bucal hasta la preparación quirúrgica.

2.1.2.4 Dosificación y Concentración de Clorhexidina. La eficacia de la clorhexidina en el control de la placa y la gingivitis ha sido demostrada en concentraciones del 0,2 % y 0,1 %. No obstante, su uso conlleva la aparición de efectos secundarios, como tinciones, irritación

de tejidos blandos y formación de cálculos, los cuales son dependientes de la dosis. Se ha observado que la dosis más efectiva contra el biofilm se logra mediante colutorios con concentraciones de clorhexidina del 0,20 % y 0,10 %, alcanzando una dosis de 0,20 mg/día. La variación en el uso entre estas concentraciones implica ajustes en el volumen de colutorio y el tiempo de aplicación. En el caso de colutorios del 0,20 %, se recomienda un volumen de 10 ml durante al menos 30 segundos, mientras que para el 0,10 % se aconseja un volumen de 15 ml durante 60 segundos. Así, el empleo de concentraciones más altas, como el 0,20 %, requiere un menor volumen y tiempo de enjuague en comparación con concentraciones más bajas, como el 0,12 %, para lograr una dosis prácticamente equivalente. La clorhexidina ha representado un avance importante en odontología preventiva, destacándose por su eficacia en la prevención de placa bacteriana en los tejidos de la boca, lengua y dientes, así como en el tratamiento de la gingivitis. Aunque existen productos de libre comercio y recetados por dentistas que ofrecen una potente acción protectora sobre las encías, se debe tener en cuenta que los productos de venta libre no siempre presentan la misma eficacia. (Cova et al., 2020; Grossman et al., 1989; Løe et al., 1976; Segreto et al., 1986).

2.1.3. Plantas Medicinales

Las plantas medicinales son empleadas en la medicina alternativa para abordar diversas afecciones. La porción de la planta destinada a propósitos medicinales, conocida como droga vegetal, puede administrarse en diversas formas farmacológicas, comprimidos, cremas, entre otras. Las propiedades antimicrobianas de estas plantas, atribuidas a la presencia de terpenoides en los aceites esenciales, han sido explicadas. En respuesta al incremento de la demanda de servicios médicos tradicionales, especialmente en áreas rurales, la OMS insta a los países a establecer y aplicar leyes, normativas y reglamentos que satisfagan las necesidades de salud. Este llamado se centra en el desarrollo del conocimiento necesario para gestionar activamente la medicina alternativa y tradicional (MTC). La OMS aboga por la integración de la MTC en

la prestación de servicios de salud y en el autocuidado de la salud como parte del impulso hacia la cobertura universal de salud. Este enfoque tiene como objetivo mejorar la garantía de calidad, seguridad, uso adecuado y eficacia de la medicina tradicional china (Gallegos, 2017; Serrano, 2006).

Así mismo, La OMS reconoce el interés global en el uso de plantas medicinales, incluyendo su potencial para combatir infecciones. A continuación, se presentan algunos puntos que resumen la posición de la OMS sobre el uso de plantas medicinales en el contexto de infecciones:

2.1.3.1 Importancia Cultural y Tradicional. La OMS reconoce que el uso de plantas medicinales tiene profundas raíces en diversas culturas y tradiciones en todo el mundo. Muchas comunidades han utilizado remedios a base de plantas para tratar diversas dolencias, incluyendo infecciones.

2.1.3.2 Necesidad de Investigación Científica. La OMS destaca la importancia de llevar a cabo investigaciones científicas rigurosas sobre las plantas medicinales. Se aboga por evaluar estos productos mediante métodos científicos estandarizados.

2.1.3.3 Desarrollo de Guías y Normativas. La OMS sugiere la necesidad de desarrollar guías y normativas para garantizar la calidad, seguridad y eficacia de las plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de infecciones. Estos estándares pueden ayudar a proteger la salud pública y proporcionar pautas claras.

2.1.3.4 Colaboración con la Medicina Convencional. La OMS aboga por una colaboración armoniosa entre la medicina tradicional y la medicina convencional. Se reconoce que algunos tratamientos originados de plantas medicinales pueden complementar las opciones de tratamiento convencionales y mejorar el acercamiento a la atención médica, especialmente en comunidades donde los recursos son limitados.

2.1.3.5 Riesgos y Efectos Secundarios. La OMS subraya la importancia de reconocer que, si bien algunas plantas medicinales pueden tener propiedades terapéuticas, también pueden presentar riesgos y efectos secundarios. La identificación y evaluación adecuadas de estos riesgos son fundamentales para respaldar la seguridad de los pacientes.

Es fundamental destacar que la OMS no respalda ciegamente todos los usos de plantas medicinales y enfatiza la necesidad de basar las recomendaciones en evidencia científica sólida. Además, la OMS señala que el uso de plantas medicinales no debe reemplazar las terapias médicas convencionales probadas y efectivas, especialmente en el tratamiento de infecciones graves.

2.1.4 Aceites Esenciales

Los aceites y extractos esenciales son brebajes de compuestos volátiles con características aromáticas que se destilan principalmente de las plantas; a menudo son líquidos y rara vez sólidos. No se reintegran al metabolismo celular ya que representan el resultado final del metabolismo secundario en muchas células vegetales. Aunque existen muchos otros remedios a base de hierbas, el primero es el mate o infusión, que se calienta el agua sobre la planta para separar o extraer los ingredientes medicinales de la planta. En consecuencia, la maa se usa tradicionalmente como antiséptico y analgésico, en afecciones del sistema renal y respiratorio, carminativo, antiinflamatorio (tomando el brebaje de tallos y hojas), antihemorrágico con el empleo de hojas sobre heridas lacerante, y como depurativo junto con otras plantas. aromático. Aunque su uso en la medicina occidental aún suscita considerables sospechas, es ampliamente aceptado en la medicina tradicional de las naciones orientales, donde son comunes las investigaciones sobre sus actividades y su administración como tratamientos (Hensel et al., 2020; Junior et al., 2020; Kaur et al., 2020). Aproximadamente 3.000 aceites esenciales se conocen en este momento, 300 de ellos con importancia en las industrias alimentaria, agrícola y farmacéutica. La mayoría de estos aceites están aprobados

para su uso en nutrición humana y animal como aditivos alimentarios por la FDA. como productos generalmente reconocidos como agentes seguros Generally Recognized As Safe (GRAS). (Hensel et al., 2020; Morales, 1973).

2.1.5 *Minthostachys Mollis*

Minthostachys mollis, bajo la denominación genérico de muña, es una planta oriunda que aumenta en distintas zonas de la serranía peruana. Son arbustos aromáticos ampliamente extendidos en las zonas andinas trepadores o de ramas amplias con flores pequeñas dispuestas de forma variada. Las brácteas algunas veces son foliáceas. Presenta estambres pequeños a la mitad del tubo corolar, en su mayoría un poco por debajo de la corola. Se distinguen especies de por lo menos tres géneros diferentes, los cuales pertenecen a la familia de las laminaceas: *Minthostachys*, *Satureja* y *Hedeona* (Pawer et al., 2018; Salmón, 1994).

La muña reside en los diferentes pisos ecológicos, en la provincia de Lima, la muña se adquiere mayoritariamente a través de ventas informales (sin registro sanitario) y en menor medida a través de ventas legítimas. Para obtener el registro de los recursos naturales, es necesario analizar los principios activos que contienen mediante una prueba fitoquímica. Esta prueba nos permite relacionar los diferentes tipos de metabolitos presentes en el extracto seco de la planta mediante el uso de una variedad de reactivos, cuyas reacciones, como precipitados y cambios de color, indican la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, etc. Adicionalmente, se requieren estudios clínicos que permitan determinar la toxicidad que pueda presentar la muña. Es usada por lo general para el tratamiento de dolencias de vías respiratorias y digestivas. Otros nombres vulgares con los que se conoce a esta planta son: Muña negra, polvo silvestre, coz, muña-muña, huycha, arash muña, kon, orcco-muña (Pawer et al., 2018; Palacios, 1997).

2.1.5.1 Tipos de Muña. La muña es una planta originaria de los Andes, especialmente de países como Perú, Ecuador y Bolivia. Existen diferentes tipos de muña, cada uno con características particulares y usos específicos. A continuación, se precisa algunos de los tipos de muña más comunes *Minthostachys mollis* Es la especie más conocida y utilizada. Sus hojas son de forma lanceolada y tienen un agradable aroma mentolado. Se utiliza en infusiones para tratar problemas digestivos, resfriados y dolores de cabeza. También se usa en la cocina para dar sabor a platos y bebidas. *Minthostachys verticillata*: También conocida como muña negra, es una variedad de muña con hojas más pequeñas y tallos más delgados. Tiene un aroma intenso y se utiliza con fines medicinales similares, *Minthostachys setosa* Esta especie de muña se caracteriza por sus hojas más grandes y peludas. Se utiliza tradicionalmente en infusiones para aliviar problemas digestivos y respiratorios.

Cabe mencionar que existen otras variedades de muña que pueden presentar diferencias en su apariencia y propiedades. Estos son solo algunos ejemplos de los tipos más comunes de muña y sus usos principales. Es importante consultar fuentes confiables y expertos en botánica para obtener información más detallada sobre cada tipo de muña y sus propiedades específicas (Pawer et al., 2018; Weberbauer, 1945).

2.1.5.2 Moléculas Presentes en *Minthostachys mollis*. Según Guerra e Inga, indica que la componente de la muña es: aceite esencial, saponinas, taninos, glicósidos, mucílagos, alcaloides y esteroides. Además, fósforo, hierro, abarca carbohidratos, calcio, trazas de vitamina B1, mentol y esencias, la presencia de flavonoides, aminoácidos, triterpenos y químicos fenólicos. El extracto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* también muestra acción antibacteriana contra *S. aureus*. Por ello, puede ser empleado como un antimicrobiano adicional dentro de la medicina natural (Inga y Guerra, 2000; Campo et al., 2017).

- **Pulegona:** La pulegona es un ingrediente destacado presente en *Minthostachys mollis*, también conocida como muña. Este compuesto es un monoterpeno que confiere a la planta su

característico aroma mentolado. La pulegona ha sido objeto de interés en la investigación debido a sus propiedades medicinales, entre las que se incluyen efectos analgésicos y antiinflamatorios. Además, se ha observado que la pulegona posee propiedades antimicrobianas, lo que sugiere su potencial aplicación en el tratamiento de infecciones. No obstante, se debe tener precaución con su uso en concentraciones elevadas, ya que altas dosis de pulegona pueden tener efectos tóxicos, y por ende, se requiere una evaluación cuidadosa de su seguridad en diversas aplicaciones. (Infantes, 2019).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

La investigación es prospectiva, longitudinal y también experimental.

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

La investigación realizada se llevó a cabo en el año 2023, la extirpación de la muestra y el análisis microbiológicos se desarrolló en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en la Facultad de Farmacia y Bioquímica durante el año 2023.

3.3 Variables

3.3.1. *Variable Dependiente*

Efecto antibacteriano

3.3.2. *Variable Independiente*

Extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* (muña)

3.3.3. *Grupo control positivo*

Clorhexidina al 0.12%

3.3.4. Operacionalización de Variables

Variables	Determinación conceptual	Dimensiones	Indicador	Escala	Valor
Efecto antibacteriano	Capacidad de un componente de eliminar o reprimir el crecimiento microbiano que se desarrolla en un determinado medio dado	Crecimiento de cepa bacteriana sobre placas Petri inoculadas con <i>Streptococcus mutans</i>	Diámetro del halo de inhibición, medido en milímetros y en base a las pautas de Duraffourd. Halo de inhibición	De razón (mm)	Medición de diámetro del halo de inhibición en milímetros
Extracto hidroetanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña)	Sustancia química natural que tiene un efecto bactericida o bacteriostático.	Concentración mínima inhibitoria Concentración mínima bactericida	Concentración del extracto hidroetanólico de muña al 0,12%, 50% y 100%.	Nominal	0,12% 50% 100%

3.4. Población y Muestra

3.4.1. Población

Se utilizó cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) obtenidas del Laboratorio Gen-Lab.

3.4.2. Muestra

Para la magnitud de espécimen se tomó en consideración los antecedentes de estudios, así como el uso de pruebas estadísticas paramétricas para el contraste de hipótesis los cuales requieren un número mínimo para evidenciar una tendencia de normalidad en los datos recolectados por lo que se determinó una muestra de 60 placas petri con cepas de *Streptococcus mutans*, 12 por cada grupo (Menthostachys mollis al 0,12%, 50%, 100%, agua destilada y clorhexidina).

Fórmula para comparación de medias:

$$n_0 = \frac{2(Z_\alpha + Z_\beta)^2 S^2}{d^2}$$

Donde:

$$Z_\alpha = 1.96$$

$$Z_\beta = 0.84$$

$$S^2 = 0.8$$

$$d^2 = 2.6$$

Para el presente estudio se aplica la fórmula de comparación de medias para grupos con varianzas distintas, con los datos obtenidos de antecedentes se obtiene que el tamaño de muestra mínimo por grupo fue de 5 placas petri, para el actual estudio se obtuvo un tamaño de muestra de 5 como mínimo por cada grupo. La muestra final fue considerando un tamaño de muestra de 12. Antecedente: “Grado de eficacia del aceite esencial de *Menthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro. Lima 2016”.

3.4.3. Muestreo

La unidad de análisis es un microorganismo de la especie aislada y de interés para el estudio (*Streptococcus mutans* ATCC® 25175).

3.4.4. Criterios de inclusión

- Se requiere placas con siembra apta para *Streptococcus mutans*
- Se necesita placas que luego del proceso de incubación presentaron halos de inhibición con condiciones adecuadas.

3.4.5. Criterios de exclusión

- Placas Petri que luego del proceso de incubación no presentaron halos de inhibición en condiciones adecuadas.
- Se excluye de esta investigación cualquier otro tipo de bacteria.

3.5. Instrumentos

En este presente proyecto se utilizó los siguientes equipos, materiales e insumos.

3.5.1. Materiales

Dentro de los materiales usados tenemos; placas Petri de material de vidrio con diámetro de 90 mm x altura de 15 mm. Asa de drigalsky, se utilizó tubos con tapa rosca de 150 mm, usamos 5mL de viales de vidrio con micropipetas de 20-200 μ L y puntas para micropipeta 0.5- 5ml. se utilizó micropipetas calibradas 20-200 μ L y 0,5-5ml, usamos frascos de vidrio 500ml y 200ml con tapa rosca, también se usó gradilla , varias espátulas , sacabocado con diámetro interno de 6mm , papel craft, asa bacteriológica, usamos también escala de Mac Farland , baguetas de vidrios, indicador multiparámetro de esterilización, vernier digital .

3.5.2. Insumos

- Se usó caldo de corazón-cerebro de la marca Merck
- Necesitamos Agar de corazón-cerebro de la marca Merck
- También usamos Agar Mueller Hinton de la marca Merck

- Streptococcus mutans ATCC 25175
- Requerimos Agua destilada
- Cloruro de sodio grado bacteriológico marca Oxoid
- Alcohol 96°

3.5.3. Equipos

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490
- Mechero Bunsen

3.6. Procedimientos

3.6.1. Elaboración del Extracto Hidroetanólico

Se recogió las plantas de muña de la provincia de Tarma, departamento de Junín, Perú. Se recolecto hojas verdes y talluelos de *Minthostachys mollis*, del departamento de Junín, provincia de Tarma, se encuentra ubicada a 3080 m.s.n.m. Las cuáles serán conservadas a temperatura de ambiente sin desecar, exponer al sol o lavarlos hasta el momento de la extracción.

Se lavo y seco 1 kilo de hojas de muña para ser llevadas a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) en la facultad de Farmacia y Bioquímica.

Escoger las plantas de muña, lavarlas y secarlas a temperatura ambiente, Una vez secada las hojas de muña en la estufa a 40° por un periodo de 6 días estas se van a pulverizar para poder realizar la extracción. Posteriormente pesar 600g de las hojas trituradas y

ablandadas en un frasco oscuro por una duración de 2 semanas en la oscuridad con 1500 ml de alcohol a 96° y 1500 de agua purificada, que serán agitado diariamente y refrigeradas. Luego del tiempo de ablandación se filtra el extracto con papel filtro Whatman. El extracto filtrado se vierte en los platos de secado y el extracto es colocado en la estufa a 40oC hasta observar la reducción del mismo hasta la tercera parte del volumen inicial. El extracto obtenido es vertido en un frasco ámbar para su uso a diferentes concentraciones 0.12% (p/v) = Se peso 12mg y se disolvió en 100mL en una mezcla de etanol /agua (50:50) 50% (p/v) = Se peso 5g y se disolvió en 10mL en una mezcla de etanol /agua (50:50)100% = muestra tal cual.

3.6.2. Obtención de Cepa

La cepa empleada en este estudio fue el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, conseguido en el laboratorio de biología molecular Gen-Lab del Perú, dado que cuenta con certificación de estudios que aseguran su condición.

3.6.3. Preparación de Medios de Cultivos

- Se realizaron los siguientes procedimientos de elaboración de medios de cultivo en el laboratorio:
- Se habilitó 20 ml de caldo de corazón-cerebro dependiendo las indicaciones del elaborador, utilizando 37 gr. de caldo para un litro de agua purificada. Esta mezcla se esterilizó en autoclave y se dividió en dos tubos de ensayo.
- Se prepararon 100 ml de agar de cerebro-corazón siguiendo las enseñanzas del elaborador, utilizando 52 gr. de agar para un litro de agua purificada. Esta mezcla se esterilizó en autoclave y se refrescó en un baño María a una temperatura de 45-50°C. Luego, se vertió en placas Petri estériles.

- Se verificó el pH de cada lote de agar Mueller Hinton, el cual debe estar entre 7.0 y 7.6. Esta medición se efectuó sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de la autoclave.

3.6.4. Activación de la Cepa

Las cepas se mantenían refrigeradas a una temperatura de 4-8°C en placas que contenían agar de corazón-cerebro. En relación a cada cepa, se cogió un dominio utilizando un asa bacteriana y se inoculó en ductos que contenían caldo de corazón-cerebro infértil. Posteriormente, los tubos se colocaron en una incubación a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

3.6.5. Preparación del Inóculo

A continuación de dominios intactas de bacterias *Streptococcus mutans* ATCC -25175, se cogió un número específico de dominios y se diluyeron en ductos de ensayo que contenían 10 ml de solución salina estéril (NaCl al 0.9%). Estas diluciones se realizaron de manera que las soluciones resultantes tuvieran una turbulencia relacionada al tubo N°1 de la escala de MacFarland, lo cual indica una densidad de aproximadamente 3×10^8 ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro). Las soluciones resultantes de estas diluciones obtuvieron una densidad de aproximadamente 1×10^8 ufc/ml.

3.6.6. Inoculación de Placas

Se añadieron 100 ul por cada daño bacteriano que fue experimentado (con una concentración de 1×10^8 ufc/ml) a 12 placas que contenían agar de Mueller Hinton. Utilizando una espátula de Drigalsky, se dispersaron los inóculos de manera uniforme en todas las placas, asegurándose de obtener un aumento homogéneo. Para lograr esto, se arrastró el asa de manera equidistante y compacta sobre toda la superficie de la placa.

3.6.7. Formación de Pocillos

Se desinfectó el sacabocados con etanol y se expuso al fuego del mechero para esterilizarlo. A continuación, se realizaron los pocillos en las placas, haciendo un total de 5 por cada una. Es importante que los pocillos estén ubicados a una distancia de mayor a 15 mm de la orilla de la placa y que estén distribuidos de tal modo que no tenga un recubrimiento en los cercos de inhibición.

3.6.8. Sembrado de las Muestras y Controles

Se utilizaron un total de 12 placas para las muestras. Esto incluyó un control positivo, un control negativo y tres concentraciones diferentes del extracto de muña. En cada placa, se realizaron un total de 5 pocillos. Para cada muestra, se sembraron 40uL en una fuente de cada placa Petri. El control negativo o espécimen blanco consistió en agua neutra, mientras que el control positivo fue Clorhexidina al 0.12% (PERIO.AID). En cada placa, se sembraron 40uL en una fuente de cada placa Petri.

3.6.9. Incubación

Las 12 placas de las diluciones del espécimen y los controles fueron trasladados a una incubadora a 37°C durante 24 horas.

3.6.10. Fase Post Analítica

Después de un período de incubación de 24 horas, se comenzó a estudiar cada placa. Se esperaba contemplar zonas de inhibición que fueran uniformemente circulares y que estuvieran rodeadas por una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completas en milímetros, tomando como referencia el centro de cada pocillo. Esta medición se realizó en tres ocasiones para cada pocillo. Los valores

obtenidos en las tres mediciones fueron promediados y redondeados para ser reportados como una cantidad entera.

3.7 Análisis de datos

Se usó el programa Excel creando una base de datos, y posteriormente las respuestas fueron enviados y procesados con el paquete estadístico SPSS®. (Statistical Package for the Social Sciences) versión 24. Luego en el análisis descriptivo, se usó medidas de tendencia central y de dispersión para definir la conducta de la variable dependiente investigada. Luego, para el análisis inferencial, luego fue necesario realizar primero la prueba de H de Kruskal-Wallis, cuyos resultados demostraron la necesidad de utilizar pruebas no paramétricas. Por lo tanto, se compararon los halos de inhibición utilizando la prueba de comparación de pares de Dunn.

3.8 Consideraciones Éticas

De conformidad con los comienzos establecidos en el Informe Belmont y la Norma Ética en la Investigación del Ministerio de Salud del 2011, autorizada según: R.J. N° 032-2012-J-OPE/INS: y debido a que esta investigación no presenta riesgo alguno y en cumplimiento con los aspectos éticos, este estudio se desarrollará conforme a los siguientes criterios:

- La averiguación se llevará a cabo cuando se obtenga la autorización: de la Oficina de Grados y Gestión del Estudiante de la Universidad Nacional Federico Villarreal.
- La categoría de la investigación es considerada sin riesgo.

Los resultados obtenidos estarán a disposición de la Universidad y serán empleados con fines científicos para la comunidad odontológica en general.

IV. RESULTADOS

En este análisis se empleó extractos hidroetanólico de muña en densidades de 0.12%, 50 %, 100% con el objetivo de poder estimar el efecto antibacteriano in vitro encima de los sembrados de cepas *Streptococcus mutans* ATCC -25175 en 12 espécimen en periodos de 48 y 24 horas.

Tabla 1

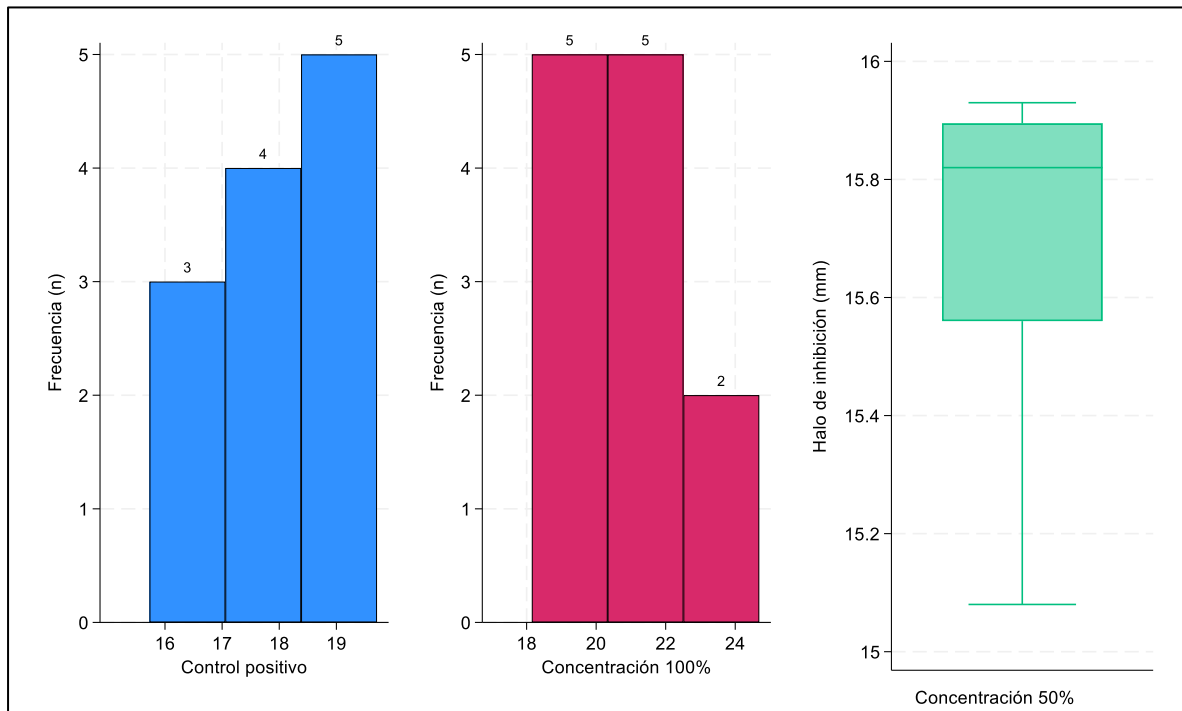
Sumario estadístico del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC- 25175) a las 24 horas.

Grupos.	N	Mda.	Desv. Est.	Mediana.	DIC	Min.	Max.
Control positivo	12.00	17.95	1.25	18.29	1.69	15.73	19.71
Control negativo	9.00	6.00	0.00	6.00	0.00	6.00	6.00
Concentración 100%	12.00	20.79	1.98	20.62	2.76	18.15	24.69
Concentración 50%	12.00	15.69	0.28	15.82	0.34	15.08	15.93
Concentración 0.12%	9.00	6.00	0.00	6.00	0.00	6.00	6.00

Nota. Esta tabla muestra que la media de cerco de inhibición de extracto de muña al cien por ciento fue superior con una estimación de 20.79 mm con una desviación estándar respecto a la media de 1.98 mm, un valor menor a este fue el de control positivo con 17.95 mm y una desviación estándar respecto a la media de 1.25 mm, así como el de extracto de muña al 50 % con un valor de 15.69 mm con una desviación estándar respecto a la media de 0.28 mm. El menor valor lo presentó los controles negativo y extracto de muña al 0.12% con valores similares alrededor de 6 mm respecto al halo de inhibición.

Figura 1

Distribución del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.



Nota. En el gráfico, se observa que la media de halo de inhibición de extracto de muña al 100% se presentó alrededor de 18 y 22 mm. Respecto del extracto de muña al 50% la mediana está próximo a los 16 mm.

Tabla 2

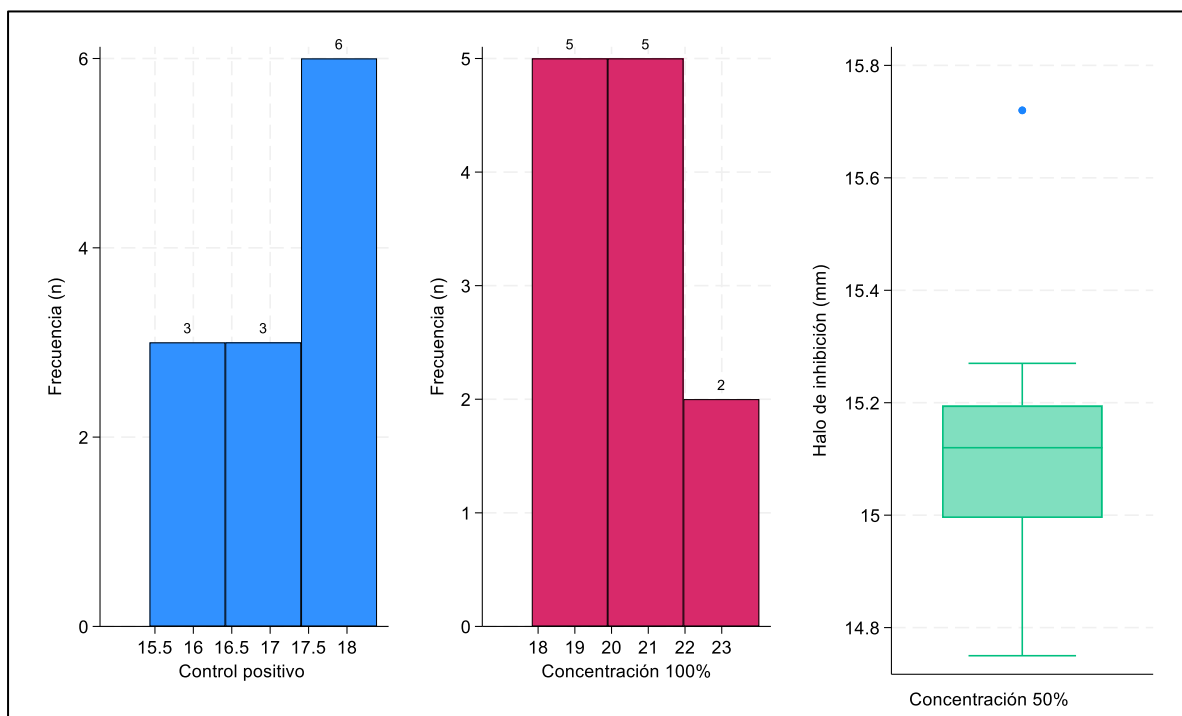
Sumario estadístico del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC - 25175) a las 48 horas.

Grupo.	N	Mda.	Desv. Est.	Mediana.	DIC	Min.	Max.
Control positivo	12	17.2	1.08	17.53	1.76	15.43	18.39
Control negativo	12	6.00	0.00	6.00	0.00	6.00	6.00
Concentración 100%	12	20.12	1.89	20.09	2.85	17.83	24.02
Concentración 50%	12	15.12	0.24	15.12	0.20	14.75	15.72
Concentración 0.12%	12	6.00	0.00	6.00	0.00	6.00	6.00

Nota. Esta tabla indica que la media de cerco de inhibición de extracto de muña al 100% fue superior con una estimación de 20.12 mm con una desviación estándar respecto a la media de 1.89 mm, un valor menor a este fue el de control positivo con 17.22 mm y una desviación estándar respecto a la media de 1.08 mm, así como el de muña al 50 % con un cerco de inhibición de 15.12 mm con una desviación estándar respecto a la media de 0.24 mm. El menor valor lo presentó los controles negativo y extracto de muña al 0.12% con valores similares de halo de inhibición de 6 mm.

Figura 2

Distribución del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.



Nota. En el gráfico, se observa que la media de halo de inhibición de extracto de muña al 100% se presentó alrededor de 18 y 22 mm. Respecto del extracto de muña al 50% la media esta próximo entre 14 y 15.4 mm.

Tabla 3

Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.

Prueba H de Kruskal-Wallis				
Grupo	Obs	Rank sum		
Control positivo	12	446		
Control negativo	9	85.5		
Extracto de muña al 100%	12	567		
Extracto de muña al 50%	12	301		
Extracto de muña al 0.12%	9	85.5		
chi2(2) with ties = 40.105				
Prob = 0.0001				
Dunn's Pairwise Comparison of halo by grupo				
Row Mean	Control positivo	Control negativo	Extracto de muña al 100%	Extracto de muña al 50%
Control	4.06			
negative	0.01			
Extracto de muña al 100%	-1.60	5.55		
Extracto de muña al 50%	0.05	0.01	3.52	
Extracto de muña al 0.12%	1.92	2.29	0.01	2.29
	0.03	0.01	5.55	
	4.06	0.00		
	0.01	0.50	0.01	0.01

Planteamiento de hipótesis

Ho: No existen diferencias en el efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 24 horas.

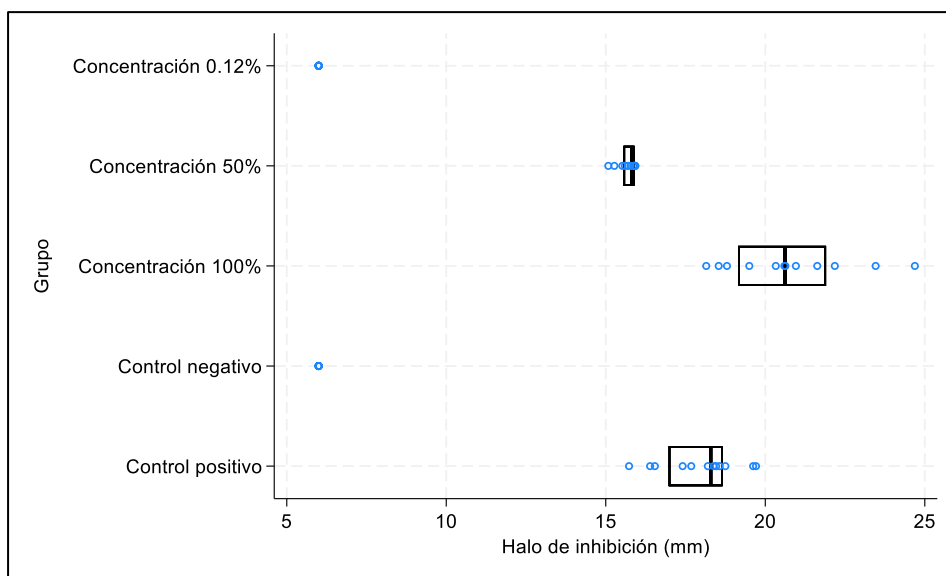
H1: Existen diferencias en el efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 24 horas.

Regla de decisión: $p < 0.05$ se rechaza la H_0 .

Nota. $p=0.0001$, se determinó que existen diferencias en el resultado antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 24 horas. Además se realizó la prueba de comparaciones múltiples post-hoc por pares de Dunn, con este ensayo se concluyó que existían diversidad entre control positivo vs control negativo ($p= 0.01$), control positivo vs extracto de muña al 50% ($p= 0.03$), control positivo vs extracto de muña al 0.12% ($p= 0.01$), extracto de muña al 100% vs control negativo ($p=0.01$), extracto de muña al 50% vs control negativo ($p=0.01$), extracto de muña al 100% vs extracto de muña al 50% ($p=0.01$), extracto de muña al 100% vs extracto de muña al 0.12% ($p=0.01$), extracto de muña al 50% vs extracto de muña al 0.12% ($p=0.01$).

Figura 3

Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas.



Nota. En el gráfico, se observa que la media de halo de inhibición de extracto de muña al 100% se presentó alrededor del 20 mm y mayor al del extracto de muña al 50% con un valor aproximado de 15 mm.

Tabla 4

Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.

Prueba H de Kruskal-Wallis				
Grupo	Obs	Rank sum		
Control positivo	12	520		
Control negativo	12	150		
Extracto de muña al 100%	12	642		
Extracto de muña al 50%	12	368		
Extracto de muña al 0.12%	12	150		
chi2(2) with ties = 56.396				
Prob = 0.0001				
Dunn's Pairwise Comparison of halo by grupo				
Row Mean	Control positivo	Control negativo	Extracto de muña al 100%	Extracto de muña al 50%
Control positivo	4.47			
Control negativo	0.01			
Extracto de muña al 100%	-1.47	-5.94		
	0.07	0.01		
Extracto de muña al 50%	1.84	-2.63	3.31	
	0.03	0.01	0.01	
Extracto de muña al 0.12%	4.47	0.00	5.94	2.63
	0.01	0.50	0.01	0.01

Planteamiento de hipótesis

Ho: No existen diferencias efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 48 horas.

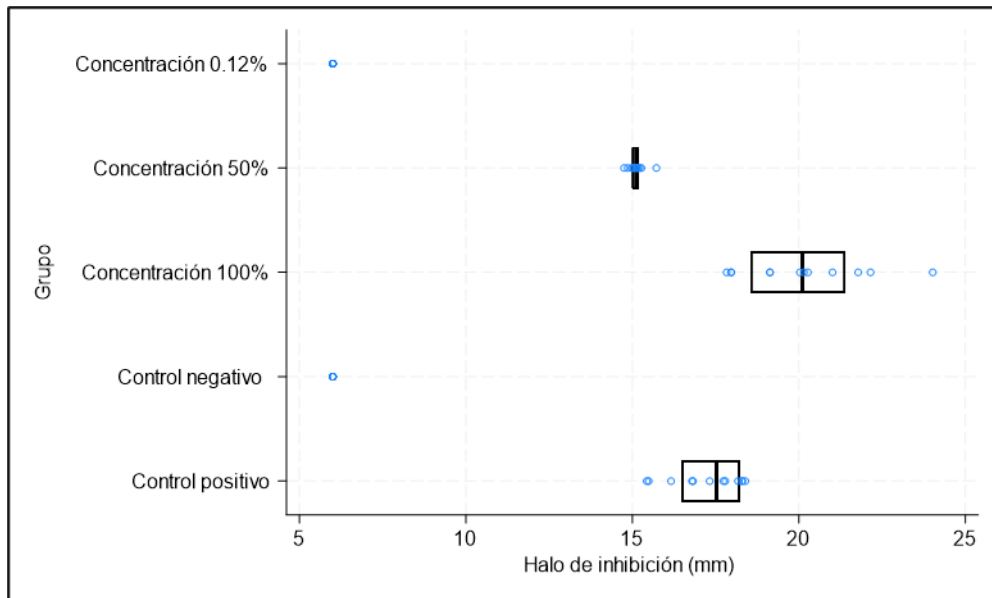
H1: Existen diferencias efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 48 horas.

Regla de decisión: $p < 0.05$ se rechaza la H_0 .

Nota. $p=0.0001$, se determinó que existen diferencias en el resultado antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 48 horas. Además se realizó el ensayo post-hoc de comparaciones múltiples por pares de Dunn, , con este ensayo se concluyó que existían disimilitud entre control positivo vs control negativo ($p= 0.01$), control positivo vs extracto de muña al 50% ($p= 0.03$), control positivo vs extracto de muña al 0.12% ($p= 0.01$), así como entre extracto de muña al 100% vs control negativo ($p=0.01$), extracto de muña al 50% vs control negativo ($p=0.01$), extracto de muña al 100% vs extracto de muña al 50% ($p=0.01$), extracto de muña al 100% vs extracto de muña al 0.12% ($p=0.01$), extracto de muña al 50% vs extracto de muña al 0.12% ($p=0.01$).

Figura 4

Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control positivo, control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 48 horas.



Nota. En el gráfico, se observa que la media de halo de inhibición de extracto de muña al 100% se presentó aproximadamente a los 20 mm y fue mayor al valor de extracto de muña al 50% con un valor aproximado de 15 mm.

Tabla 5

Comparación del efecto antibacteriano del extracto de muña en concentraciones del control negativo, extracto de Muña al 100%, 50% y 0.12% sobre Streptococcus Mutans (ATCC 25175) a las 24 horas y las 48 horas

Comparación	Prueba estadística	P valor
Control positivo 24 horas vs control positivo 48 horas	Prueba t de Student para datos apareados	0.0008*
Control negativo 24 horas vs control negativo 48 horas	Prueba de signo rango de Wilcoxon para datos apareados	1.00
Muña al 100% 24 horas vs Muña al 100% 48 horas	Prueba t de Student para datos apareados	0.001*
Muña al 50% 24 horas vs Muña al 50% 48 horas	Prueba t de Student para datos apareados	0.001*
Muña al 0.12% 24 horas vs Muña al 0.12% 48 horas	Prueba de signo rango de Wilcoxon para datos apareados	1.00

p <0.05 estadísticamente significativo

Planteamiento de hipótesis

Ho: No existen diferencias del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 24 horas vs 48 horas.

H1: Existen diferencias del efecto antibacteriano del extracto de muña entre control negativo, extracto de muña al 100%, 50% y 0.12% sobre *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) a las 24 horas vs 48 horas.

Regla de decisión: $p < 0.05$ se rechaza la H_0 .

Nota. $p < 0.05$ estadísticamente significativo, $p = 0.001$, se determinó que existen diferencias entre el control positivo a las 24 horas y 48 horas, entre el efecto antimicrobiano del extracto de muña entre concentraciones de extracto de muña al 100% a las 24 horas vs 48 horas, y entre extracto de muña al 50% a las 24 horas vs 48 horas.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la actualidad el uso de plantas medicinales está siendo utilizadas como medio alternativo alrededor del mundo para tratar diversas enfermedades que son causados por distintos microorganismos. Ya que poseemos diversa riqueza botánica, geografía adecuada y costumbres desde nuestros ancestros nos llevan al uso de las plantas medicinales. Sin embargo, no todas tienen evidencia científica.

Por ello se requiere estudiar la eficacia antimicrobiana de las distintas plantas medicinales que albergan en nuestro territorio; nuestra finalidad fue concluir la eficacia antimicrobiana in vitro del extracto hidroetanólico de *Minthostachys molliss*, también conocida como muña la cual tiene diversas propiedades terapéuticas referente al *Streptococcus mutans* ATCC -25175

Los efectos muestran que el extracto hidroetanólico de muña a las distintas densidades sí muestra efectividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans*, a causa a la formación de halos inhibitorios teniendo el de mayor porcentaje 100% con un calibre de halo inhibitorio 20.79 mm. a las 24 horas.

Se obtuvo en nuestra investigación que a más densidad de extracto hidroetanólico de muña existe un superior aumento del halo de inhibición con respecto a la concentración de 50 % obtuvimos un promedio de 15.69 mm halo de inhibición mientras que Navarro (2021) en Puno, Perú obtuvo un promedio de 12.67 mm siendo inferior a nuestros resultados obtenidos ; mientras que en el estudio de Paucar et al. (2021) y Bonifacio U. (2019) en la concentración del 50% obtuvieron 7,9 mm y 22,9 mm respectivamente la cual difieren con nuestros resultados.

En cuanto a los tiempos si se concuerda con el estudio de Paucar et al. (2021) ya que a la concentración del 100% donde presenta su mayor efectividad inhibitoria a las 24 horas disminuye significativamente mientras aumente el tiempo al igual que nuestro estudio.

En cuanto al estudio de Mejía y Silva (2019) obtuvieron un halo de inhibición de un promedio 12 mm en la concentración de 50 % y en 100 % de 28 mm siendo estas concentraciones inferiores a nuestro estudio, pero aun así de mayor efectividad sobre el aceite esencial de chamana determinando mayor eficiencia antibacteriana del aceite de muña.

Se realizó 12 placas en el cual se examinó que la clorhexidina al 0.12 mostro menor cerco inhibitorio que el extracto hidroetanólico de muña al 100% por lo que concuerda con la investigación ejecutada por Espinoza et al. (2018) El extracto metanólico de hojas y tallos de *Mintostachys mollis* presenta efecto fungistático y fungicida, además han demostrado que no existe riesgo de citotoxicidad celular en las concentraciones mínimas inhibitorias.

En nuestro estudio el extracto hidroetanólico de muña en diferentes concentraciones siendo la de 100 % la de mayor efectividad en comparación con la clorhexidina y las distintas concentraciones comparado con el estudio de Aigaje y Zurita (2017) en Quito, Ecuador a la concentración de 100 % obtuvimos la misma concordancia sobre el efecto inhibitorio pero difiere en la concentración de 25% donde indica que tiene mayor efecto que la de 50 % con relación a nuestro estudio ; posiblemente se necesite a que el extracto y el aceite comprendan distintos ingredientes activos .

VI. CONCLUSIONES

6.1. Se infiere que, el extracto hidroetanólico de muña al 50% ,100% sí muestra efectividad antibacteriana sobre el *Streptococcus mutans* ATCC -25175.

6.2. Se llegó a concluir que, a las 24 horas, el extracto hidroetanólico de muña al 100% alcanza una considerable media de halo inhibitorio, mientras que el extracto hidroetanólico de muña al 0.12 % mostró menor media de halo inhibitorio.

6.3. Se infirió que las 48 horas, el extracto hidroetanólico de muña al 100% alcanzo una mayor media de halo inhibitorio, mientras que el extracto hidroetanólico de muña al 0.12 % mostró menor media de halo inhibitorio.

6.4. Se examinó que, el extracto hidroetanólico de muña al 100% que a las 24 horas mostró un mayor promedio de diámetro de halo de inhibición, estadísticamente significativo, que la clorhexidina al 0.12%. ($p < 0.05$)

6.5. Se lleo a observar que, el extracto hidroetanólico de muña al 100% a las 48 horas mostró mayor promedio de diámetro de halo de inhibición, estadísticamente significativo, que la clorhexidina al 0.12%. ($p < 0.05$)

6.6. Se manifestó que, el término medio del halo inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* se incrementa, estadísticamente significativo, a medida que la densidad del extracto hidroetanólico de muña aumenta. ($p < 0.05$)

VII. RECOMENDACIONES

7.1. Se aconseja realizar estudios “in vivo” de extractos hidroetanólicos de la muña para evaluar la efectividad y la toxicidad.

7.2. Se sugiere promover más estudios científicos utilizando como base: plantas, tubérculos y demás variedades de flora silvestre, la cual, es abundante en nuestro país, con el motivo de elaboración para crear insumos útiles en la odontología.

7.3. Se aconseja realizar otros estudios con aceite e infusiones de *Minthostachys mollis* comparándolo con el extracto en diferentes concentraciones para analizar la eficacia antibacteriana.

7.4. Se sugiere evaluar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de muña frente a otras cepas patógenas en la boca.

7.5. Se sugiere ampliar la investigación realizando otros extractos con la incorporación de otra planta con actividad antibacteriana, para un posible sinergismo entre ellas

7.6. Desarrollar estudios sobre la elaboración de pastas dentales y de colutorios haciendo uso del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis*(muña) como uno de sus componentes más importantes.

VIII. REFERENCIAS

- Aigaje, A. I., y Zurita, M. K. (2017). Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100% frente a *Porphyromonas gingivalis*. *Dominio de las ciencias*, 3(1), 3-20. doi: 10.23857/dom.cien.pocaip.2017.3.1.3-20
- Alkire, B. (1994). Tipo, *minthostachys mollis* (lamiaceae):an ecuadorian mint». *Economic Botany*, 48(1), 60-64. <https://www.jstor.org/stable/4255569>
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L. y Fernández, G. (2001). Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina UNMSM*, 62(2), 156 – 161. <https://doi.org/10.15381/anales.v62i2.4167>
- Arias, C. y Orozco, F. (2017). Conocimientos, actitudes y prácticas de embarazadas en control prenatal relacionadas con salud oral y embarazo, de mujeres que acuden a consulta externa del Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora. *OdontoInvestigación*, 3(1). <http://revistas.usfq.edu.ec/index.php/odontoinvestigacion/article/view/850>
- Augusto, W. (1975). *Fraccionamiento del aceite esencial de M. Mollis (muña) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva* [Tesis de Bachiller, Universidad Nacional Agraria la Molina]
- Barrero, A., Cuerva, J., Herrador, M. y Valdivia, M. (2001). A new strategy for the synthesis of cyclic terpenoids based on the radical opening of acyclic epoxypolyenes. *Journal of Organic Chemistry*. 66, 4074-4078. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jo0155207>
- Berkowitz, J. (1975). Similitud de bacteriocinas de *Streptococcus mutans* de madre e hijo. *ElSevier*. 20(11), 725-730. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(75\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0003-9969(75)90042-4)
- Bonesvoll, P., Lökken, P. y Rølla, G. (1974). Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses.

Archives of oral biology, 19(11), 1025-1029. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(74\)90089-2](https://doi.org/10.1016/0003-9969(74)90089-2)

Bonilla, P., Lock de Ugaz, O., Jurupe, H. (1991). *Contribución al estudio químico biológico de la Werneria dactilophyl* [Tesis de magíster, Pontificie Universidad Católica del Perú]

Brack, E. (1999). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Lima, Perú: Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo. 324-325

Campo Fernández , et al. (2017) Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra el *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Farmacia*, 51(04).

Carranza, F. Newman, M y Takei, H. (9° Ed). (2004). *Periodontología clínica*. México: Editorial Mc.Graw.-.Hill.

Ccallo, S. (2013). *Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña), frente a la actividad bacteriana de Streptococcus mutans y Porphyromonas gingivalis* [Tesis de grado, Universidad Nacional del Altiplano]

Cedeño A, Moreira C, Muñoz J, Muñoz A, Pillasaguay S, Riera M. (2019) Comparación de métodos de destilación para la obtención de aceite esencial de eucalipto. *Colon CTNCRUC*,6(1),1-3.

https://revistas.up.ac.pa/index.php/revista_colon_ctn/article/view/472

Cruzado Donato, J. (2012). *Concentración Inhibitoria Mínima “In Vitro” Del Minthostachys Mollis (Muña) Frente Al Streptococcus Mutans Atcc 35668* [Tesis, Universidad Nacional de Trujillo]. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/571>

Díaz, K., y Moromi, H. (2005). Determinación antibacteriana in vitro de *Menthostachys mollis* (Muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. *Dominio de las ciencias*, 8(2), 3-5. doi: 10.15381/os.v8i2.3137

Duraffourd C, D' Hervicourt L, Lapraz J. C. (1° Ed). (1987). *Cuadernos de Fitoterapia Clínica*.

España: Editorial Masson, SA

Eley, B. M. (6° Ed). (2011). *Periodoncia*. España: Editorial Elsevier.

Flemmig, T. F., Newman, M. G., Doherty, F. M., Grossman, E., Meckel, A. H., y Bakdash, M.

B. (1990). Supragingival Irrigation with 0.06% Chlorhexidine in Naturally Occurring Gingivitis I. 6 Month Clinical Observations. *Journal of Periodontology*, 61(2), 112–117. doi: 10.1902/jop.1990.61.2.112

Grossman, E., Meckel, A. H., Isaacs, R. L., Ferretti, G. A., Sturzenberger, O. P., Bollmer, B.

W., ... Manhart, M. D. (1989). A Clinical Comparison of Antibacterial Mouthrinses. *Journal of Periodontology*, 60(8), 435–440. doi: 10.1902/jop.1989.60.8.435

Guzmán-Mora, Alfredo, Albavera-Hernández, Cidronio, y Sánchez-Zamorano, Luisa María.

(2022). Grupos de Alimentos Asociados Atención Dental por Caries y por Gingivitis en Escuelas Públicas, México. *International journal of odontostomatology*, 16(2), 285-289. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2022000200285>

Hensel, A., Bauer, R., Heinrich, M., Spiegler, V., Kayser, O., Hempel, G. y Kraft, K. (2020).

Challenges at the Time of COVID-19: Opportunities and Innovations in Antivirals from Nature. *Planta Medica*, 86 (10), 659-664. DOI: 10.1055/a-1177-4396

Huari, G. (2014). *Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis*

(muña) en *Streptococcus mutans* [Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1

Infantes, M. (2019). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys*

mollis (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino. <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/11314>

- Inga, A. y Guerra, B. (2000). *Efecto del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud* [Tesis de bachiller, Universidad Nacional Mayor de San Marcos].
- Junior, A. G., Tolouei, S., Dos Reis Lívero, F. A., Gasparotto, F., Boeing, T., y de Souza, P. (2021). Natural Agents Modulating ACE-2: A Review of Compounds with Potential against SARS-CoV-2 Infections. *Current pharmaceutical design*, 27(13), 1588–1596. <https://doi.org/10.2174/1381612827666210114150607>
- Kaur, M., Devi, G., Nagpal, M., Singh, M., Dhingra, G. A. y Aggarwal, G. (2020). Antiviral Essential Oils Incorporated in Nanocarriers: Strategy for Prevention from COVID-19 and Future Infectious Pandemics. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 8 (6), 437-451. DOI: 10.2174/2211738508666201016151850
- Lang, NP., Hase, JC., Grassi, M., Hammerle, CH., Weigel, C., Kelty, E., y Frutig, F. (1998). Plaque formation and gingivitis after supervised mouthrinsing with 0.2% delmopinol hydrochloride, 0.2% chlorhexidine digluconate and placebo for 6 months. *Oral Diseases*, 4(2), 105-113.
- Lindhe, J. Lang, N y Karring, T. (5° Ed). (2011). *Periodontología clínica e implantología odontológica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Panamericana.
- Löe,H., Schiott,CR., Karring,G., y Karring,T. (1976). Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *Journal of Periodontal Research*, 11(3), 135-144. doi: doi.org/10.1111/j.1600-0765.1976.tb00061.x
- Marthur, S., Marthur, T., Srivastava, R., y Khatri, R. (2011). Clorhexidina: El estándar de oro en el control químico de placa. *National Journal of Physiology, Pharmacy y Pharmacology*, 1(2), 45-50. <https://www.ejmanager.com/mnstemp/28/28-1306767393.pdf?t=1560569409>

- Ministerio de Salud. (2017). Evaluación de la situación de la salud bucal en regiones del país.
<https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/13233-minsa-evalua-situacion-de-la-salud-bucal-en-regiones-del-pais>
- Mora, F., Velasco, J., Díaz, T., Rojas, L., Díaz de T, L., Ríos, N., y Carmona, J. (2016). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Peperomia acuminata* de los Andes venezolanos. *Revista Peruana de Biología*, 23(3), 301-304.
doi: <https://dx.doi.org/10.15381/rpb.v23i3.12865>
- Morales A. (1973). *Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de M. Mollis y de S. Sagittata (hierba buena)* [Tesis de Bachiller, Universidad Nacional Agraria la Molina]
- Motle P. (1977). *Proyecto de factibilidad para la instalación de una planta de extracción de aceite esencial de Menta* [Tesis de Bachiller, Universidad Nacional de Ingeniería]
- Navarro, Y. (2021). *Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (Menthostachys mollis), comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas del Streptococcus mutans, Puno - 2020* [Tesis, Universidad Nacional del Altiplano].
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/16692>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Salud bucodental.
<https://solucionesdesinfeccion.com/2016/12/15/guia-global-de-la-oms-para-la-prevencion-de-la-infeccion-de-herida-quirurgica/>
- Palacios J, Plantas medicinales nativas del Perú, 2da ed. Ed. CONCYTEC.1997: 180-182.
- Palomer R, Leonor. (2006). Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. *Revista chilena de pediatría*, 77(1), 56-60. <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062006000100009>

- Paredes, N. (2009). *Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de Camelia sinensis y Minthostachys mollis sobre flora salival mixta* [Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]
- Pawer Pucurimay, D., Park, J. S., Roca Moscoso, M., y Salazar Granara, A. (2018). Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. *Horizonte Médico (Lima)*, 18(3), 25–29. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n3.05>
- Peña D, Gutiérrez M. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Rev. Cienc. Tecnol*, 13(3), 55-66. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/1874>
- Quichca Mendoza, J. C. (2017). *Grado de eficacia del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de Porphyromonas gingivalis. Estudio comparativo in viro. Lima 2016* [Tesis, Universidad Wiener]. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1203>
- Ralph E. McDonald, David R. Avery. 6ta ed. (1996). *Odontología pediátrica y del adolescente*. Madrid, España: Editorial Elsevier.
- Rodríguez Llanes, Ricardo, Traviesas Herrera, Eladio Miguel, Lavandera Carballido, Eva, y Duque Hernández, Mabel. (2009). Factores de riesgo asociados con la caries dental en niños de círculos infantiles. *Revista Cubana de Estomatología*, 46(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000200006&lng=es&tlng=es.
- Salas A. (2017). Efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Cándida albicans*. Puno – 2015. *Rev Inv*, 6(2), 162-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.2017.38>

- Salmón L. (1994). Contribución al estudio de la especie vegetal (*Minthostachys mollis*) Kunt Griseb, (Muña) en los aspectos fitoquímico, toxicológico, antimicrobiano y bromatológico. 5-15.
- Schroeder, H. E., y Shanley, D. (1969). Formation and Inhibition of Dental Calculus. *Journal of Periodontology*, 40(11), 643–646. doi:10.1902/jop.1969.40.11.643
- Segreto, V. A., Collins, E. M., Beiswanger, B. B., Rosa, M., Isaacs, R. L., Lang, N. P., ... Meckel, A. H. (1986). A comparison of mouthrinses containing two concentrations of chlorhexidine. *Journal of Periodontal Research*, 21(s16), 23–32. doi: 10.1111/j.1600-0765.1986.tb01512.x
- Serrano, G. (2006). *Efectos de un colutorio con clorhexidina al 0.05% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% en pacientes con mantenimiento periodontal* [Tesis, Universidad Computense]
- Thompson, W. (1° Ed). (1981). Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. Barcelona, España: Editorial Blume.
- Ugaz, O. (1988). Investigación fotoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales PUCP Fondo editorial.
- Valladares, G.R. (2005) “quantitative variations in the essential oil of *minthostachys mollis* (kunth) griseb in response to insects with different feeding habits”. *Journal Agricultural Food Chemical*.
- Weberbauer M. (1945). El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1° edición. Lima: Editorial Lumen S.A.
- Winrow M. (1973). Estudios metabólicos con clorhexidina radiomarcada en animales y hombre. *Journal of Periodontal Research*. 12, 45-58.

ANEXO B: Fotografías de la elaboración del extracto hidroetanólico de muña

Hojas lavadas



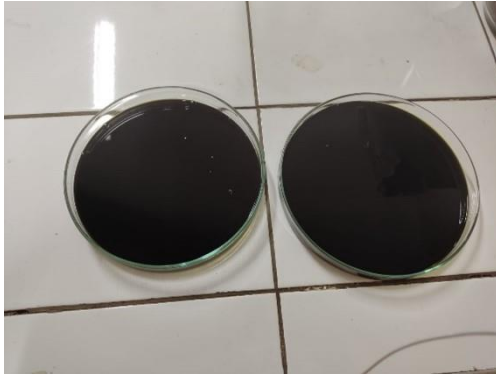
Molienda de hojas



Hojas pulverizadas en frasco ámbar con etanol




Filtrado del extracto con ayuda de bomba al vacío




Extracto de muña en la estufa

Anexo C: Certificado de la elaboración del extracto hidroetanólico de muña



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° 00153-CCA-2023

SOLICITADO POR* : WENDY YOSHY CAYTUIRO CORRALES

DIRECCIÓN* : JIRÓN SANTA CRUZ 1577 VILLA MARÍA DEL TRIUNFO

MUESTRA* : PLANTA MUÑA

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : Planta fresca de color verde con olor característico.

VARIEDAD RECEPCIONADA* : -

PRINCIPIO ACTIVO* : - N° CAS*: -

NÚMERO DE LOTE* : -

CANTIDAD : 2 Kg aprox con hojas y tallos

ORDEN DE ANÁLISIS : 0091-2023

FECHA DE RECEPCIÓN : 14 de abril de 2023

FECHA DE FABRICACIÓN* : -

FECHA DE VENCIMIENTO* : -


EJECUCIÓN DEL ENSAYO : abril - mayo

FECHA DE EMISIÓN : 30 de mayo de 2023

ENSAYO	CONCENTRACIÓN	RESULTADOS
EXTRACTO HIDROETANOLICO	0.12% (p/v)	Conforme
	50% (p/v)	
	100%	



Q.E. Paul Iván Gutiérrez Elescano
Director del Centro de Control Analítico



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

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

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú Telfs.: (511) 328-4737 / 328-4739

E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe

Fax: (511) 619-7000 anexo 4819

http://farmacia.unmsm.edu.pe

Ap. Postal 4559 - Lima 1

Anexo D: Recibo de compra de la cepa de Streptococcus Mutans ATCC 25175



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
F002-002616

Page 1 of 1

Fecha emisión : 09/03/2023 **Orden Compra:** GL - 23 / 057690
Fecha Vcto : 09/03/2023 **Guia de Remisión :**
Cliete: UNIVERSIDAD NAC. FEDERICO VILLARREAL **N° Pedido :** 033053
Dirección: CAL.CARLOS GONZALES NRO. 285 RES. SAN MIGUEL
SAN MIGUEL - LIMA - LIMA - Peru
Tipo Mov. : ANTICIPOS **RUC :** 20170934289
Lugar de destino : CAL.CARLOS GONZALES NRO. 285 RES. SAN MIGUEL

Código	Descripción	Cant	U/M	Valor Unit.	Dcto	Sub-Total
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	403.3700	0.00	403.37



CONTADO			
Cuotas	Forma Pago	Importe	Fecha Venc.
1	Contado S/	475.98	09/03/2023
	Retención(3.00%) S/	0.00	
	Detracción(0.00) S/	0.00	
	Penalidad		
	Monto Pendiente de Pago S/	475.98	

Sub-Total	403.37
Anticipo	
Op. Gravada S/	403.37
IGV 18%	72.61
Importe Total S/	475.98

CUATROCIENTOS SETENTA Y CINCO CON 98/100 SOLES

Representacion Impresa de la Factura Electrónica
Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

Observaciones de SUNAT :

La FACTURA numero 20501262260-01-F002-002616, ha sido aceptada

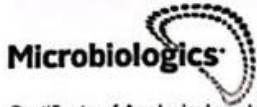
Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el interes legal correspondiente.

Sirvanse Realizar el Deposito Respectivo a las Siguietes Ctas Bancarias:

BCP Soles 193-1440607-0-84

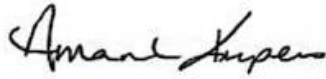
BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

Anexo E: Certificado de análisis de la cepa de Streptococcus mutans ATCC 25175



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-35** Reference Number: ATCC® 25175™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2024/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2022/5/12
---	---

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 <div style="text-align: right;">  Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE </div>

**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.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

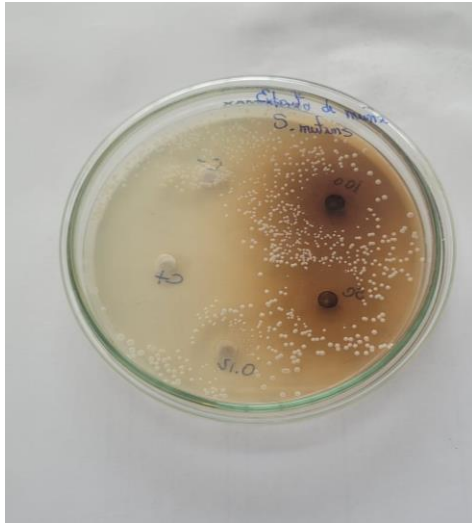


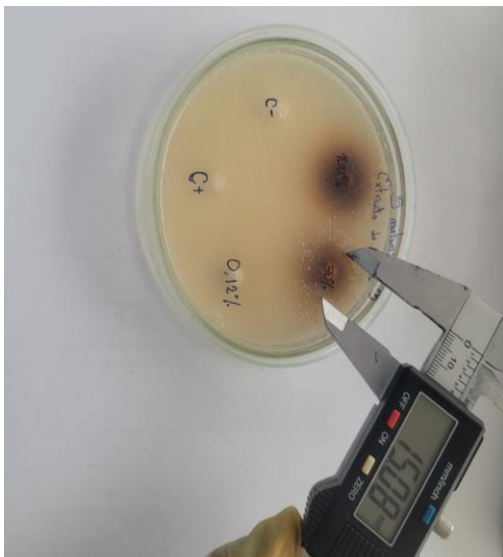
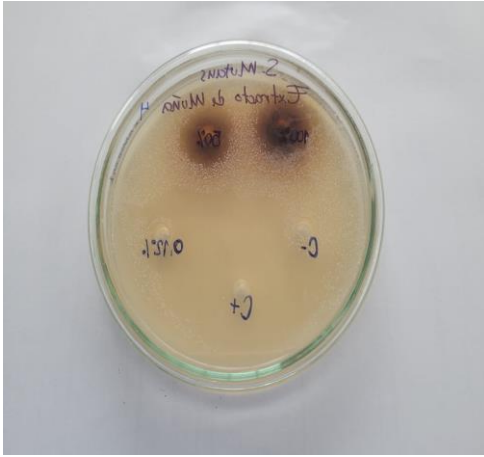
(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.

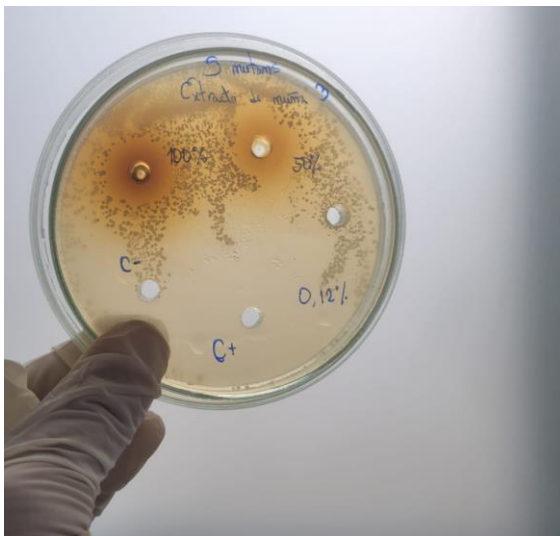
Anexo F: Fotografías de la evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de muña y clorhexidina al 0.12% sobre el *Streptococcus mutans*.

A las 24 horas. +





A las 48 horas



Anexo G: Informe de laboratorio y cálculos



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° 00152-CCA-2023

SOLICITADO POR* : WENDY YOSHY CAYTUIRO CORRALES
DIRECCIÓN* : JIRÓN SANTA CRUZ 1577 VILLA MARÍA DEL TRIUNFO
MUESTRA* : EXTRACTO DE MUÑA
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : 03 Frascos ambar a 3 concentraciones (0.12%, 50%, 100%) + Control positivo: Clorhexidina.
VARIEDAD RECEPCIONADA* : -
PRINCIPIO ACTIVO* : - N° CAS*: -
NÚMERO DE LOTE* : -
CANTIDAD : 10 mL c/u
ORDEN DE ANÁLISIS : 0122-2023
FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de mayo de 2023
FECHA DE FABRICACIÓN* : -
FECHA DE VENCIMIENTO* : -
EJECUCIÓN DEL ENSAYO : Del 25 de mayo de 2023 al 22 de junio de 2023
FECHA DE EMISIÓN : 23 de junio de 2023

EFICACIA ANTIMICÓTICA

MICROORGANISMO	EXTRACTO DE MUÑA				
	Longitud de halos de inhibición (mm) - 24 horas				
	Control positivo Clorhexidina	Control negativo Agua destilada	100%	50%	0.12%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	18.75	6	23.46	15.69	NM
	18.46	6	20.33	15.60	6
	19.71	6	24.69	15.08	NM
	17.68	6	18.15	15.93	6
	16.54	NM	18.80	15.92	6
	15.73	6	19.50	15.88	6
	18.20	NM	20.63	15.88	6
	19.62	6	22.18	15.78	6
	18.38	6	18.54	15.27	6
	17.41	6	20.96	15.91	6
	16.39	6	21.63	15.86	NM
	18.57	NM	20.60	15.52	6

*NM: halo de inhibición no medible.

* El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición
El tamaño de los diámetros de inhibición contienen el tamaño de los pocillos.

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

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

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

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú Teléf. (511) 328-4737 / 328-4739 Fax: (511) 619-7000 anexo 4819 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANATA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO – CCA



REPORTE DE ANÁLISIS N° 00152-CCA-2023

SOLICITADO POR* : WENDY YOSHY CAYTUIRO CORRALES
 DIRECCIÓN* : JIRÓN SANTA CRUZ 1577 VILLA MARÍA DEL TRIUNFO
 MUESTRA* : EXTRACTO DE MUÑA
 DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO : 03 Frascos ambar a 3 concentraciones (0.12%, 50%, 100%) + Control positivo: Clorhexidina.
 VARIEDAD RECEPCIONADA* : -
 PRINCIPIO ACTIVO* : - N° CAS*: -
 NÚMERO DE LOTE* : -
 CANTIDAD : 10 mL c/u
 ORDEN DE ANÁLISIS : 0122-2023
 FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de mayo de 2023
 FECHA DE FABRICACIÓN* : -
 FECHA DE VENCIMIENTO* : -
 EJECUCIÓN DEL ENSAYO : Del 25 de mayo de 2023 al 22 de junio de 2023
 FECHA DE EMISIÓN : 23 de junio de 2023
 EFICACIA ANTIMICÓTICA

MICROORGANISMO	ENJUAGUES BUCALES				
	Longitud de halos de inhibición (mm) - 48 horas				
	Control positivo Clorhexidina	Control negativo Agua destilada	100%	50%	0.12%
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 48 horas	17.79	6	22.15	15.13	6
	18.29	6	19.13	14.97	6
	17.73	6	24.02	14.75	6
	16.82	6	17.83	15.03	6
	15.43	6	17.97	15.22	6
	15.49	6	19.13	15.17	6
	17.32	6	20.03	15.02	6
	18.39	6	21.78	15.13	6
	18.17	6	17.96	14.86	6
	16.79	6	20.27	15.27	6
	16.16	6	21.01	15.72	6
	18.30	6	20.15	15.11	6

* NM: halo de inhibición no medible.

* El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición

* El tamaño de los diámetros de inhibición contienen el tamaño de los pocillos.


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

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

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

Anexo H: Matriz de consistencia

Fornulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variable	Metodología
<p>¿Cuál es la eficacia antibacteriana del extracto de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y clorhexidina frente al <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en un estudio in vitro?</p>	<p>Objetivo general: Evaluar la eficacia antimicrobiana in vitro de la Clorhexidina en enjuague al 0,12% y del extracto hidroetanólico de <i>Minthostachys mollis</i> al 0,12%, 50% y 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Determinar in vitro el diámetro de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 0.12%, 50% y 100% in vitro sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> 24 horas. •Determinar in vitro el diámetro de los halos de inhibición del extracto hidroetanólico de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 0.12%, 50% y 100% in vitro sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> 48 horas. •Determinar in vitro el diámetro del halo de inhibición de la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> 24 horas. •Determinar in vitro el diámetro del halo de inhibición de la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> 48 horas. 	<p>Existe eficacia antimicrobiana del extracto hidroetanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 0,12%, 50% y 100% frente al <i>Streptococcus mutans</i> en comparación con el grado de eficacia antimicrobiana de la Clorhexidina al 0,12% sobre la inhibición del <i>Streptococcus mutans</i> cepa ATCC 2575.</p>	<p>Variable independiente : •Extracto hidroetanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en las concentraciones (0.12%, 50% y 100%)</p> <p>Variable Dependiente : •Efecto antimicrobiano del extracto hidroetanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña)</p>	<p>Tipo de investigación: Experimental in vitro, prospectivo, longitudinal</p> <p>Población: Cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Muestra: conformada por 12 placas petri, con cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Muestreo: muestreo no probabilístico por conveniencia.</p> <p>Unidad de análisis: Una placa petri inoculada con cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>