



Universidad  
**Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

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

**Tesis**

Efecto antibacterial de la Stevia rebaudiana, Camellia sinensis y Origanum  
vulgare frente al Streptococcus mutans estudio in vitro, Lima - 2023

**Para optar el Título Profesional de**  
Cirujano Dentista

**Presentado por:**

**Autora:** Mamani Turpo, Luz Delia

**Asesora:** Mg. Chilón Minaya, Lesly Johanna

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2289-3068>

**Lima – Perú**

**2024**

 Universidad Norbert Wiener	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSION: 01</b> REVISIÓN: 01	<b>FECHA: 08/11/2022</b>

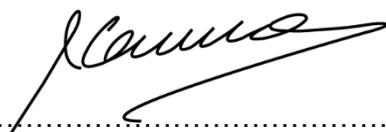
Yo, Luz Delia Mamani Turpo egresada de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico **“EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA STEVIA REBAUDIANA, CAMELLIA SINENSIS Y ORIGANUM VULGARE FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS ESTUDIO IN VITRO, LIMA - 2023”** Asesorado por la docente: Mg. Esp. CD. Lesly Johanna Chilón Minaya, DNI 40505773 y ORCID: 0000-0003-2289-3068 tiene un índice de similitud general de once (11%) de con código 14912240627372 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el Turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....  
 Firma de la autora  
 Luz Delia Mamani Turpo  
 DNI: 72371361



.....  
 Firma  
 Mg. Esp. CD. Lesly Johanna Chilón Minaya  
 DNI: 40505773

Lima, 29 de junio del 2023.

## **Tesis**

Efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans* estudio *in vitro*, Lima - 2023.

### **Línea de investigación general**

Salud, Enfermedad y Ambiente

### **Línea de investigación específica**

Microbiología

### **ASESORA**

Mg. Esp. CD. Chilón Minaya, Lesly Johanna

### **Código ORCID**

0000-0003-2289-3068

**MIEMBROS DEL JURADO**

**Presidente:** Dr. Torres Pariona, David Arturo.

**Secretaria:** Dr. Schwan Silva, Ignacio Segundo.

**Vocal:** Dra. Murga Torreli, Nelly Araceli.

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mis padres Rufino Mamani y Cecilia Turpo y a mis hermanas Lisbeth y Vilma; por todo su amor, apoyo y confianza brindada a lo largo de mi vida. Siempre llevare sus enseñanzas y sus valores donde llegue a estar.

## **Agradecimiento**

Quiero agradecer especialmente a mi asesora Mg. Esp. C.D. Lesly Chilón Minaya por todo su apoyo y consejos durante el desarrollo de mi tesis. A todos los docentes a lo largo de mi carrera universitaria por brindarme conocimientos que emplearé en mi vida profesional.

## Índice general

Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Índice general.....	vi
Índice de tablas .....	viii
Índice de gráficos .....	ix
Resumen.....	x
Abstract.....	xi
Introducción .....	xii
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....	1
1.1 Planteamiento del problema .....	1
1.2 Formulación del problema.....	3
1.2.1 Problema general .....	3
1.2.2 Problema específicos .....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general .....	3
1.3.2 Objetivos específicos .....	3
1.4 Justificación de la investigación .....	4
1.4.1 Teórica .....	4
1.4.2 Metodológica .....	4
1.4.3 Práctica .....	5
1.4.4 Social .....	6
1.5 Limitaciones de la investigación .....	6
1.5.1 Temporal.....	6
1.5.2 Espacial.....	7
1.5.3 Recursos.....	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	8

2.1 Antecedentes de la investigación.....	8
2.1.1 Antecedentes nacionales.....	8
2.2 Bases teóricas .....	16
2.3. Formulación de hipótesis.....	22
2.3.1. Hipótesis general .....	22
2.3.2. Hipótesis específicas.....	23
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....</b>	<b>24</b>
3.1. Método de la investigación.....	24
3.2. Enfoque de la investigación.....	24
3.3. Tipo de investigación.....	25
3.4. Diseño de la investigación .....	25
3.5. Población, muestra y muestreo .....	26
3.5.1 Población .....	26
3.5.2 Criterios de inclusión.....	27
3.5.3 Criterios de exclusión .....	27
3.5.4 Muestreo .....	27
3.6. Variables y operacionalización.....	29
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	20
3.7.1. Técnica.....	20
3.7.2. Descripción de instrumentos .....	23
3.7.3. Validación.....	24
3.7.4. Confiabilidad .....	24
3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos .....	24
3.9. Aspectos éticos .....	25
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
4.1. Resultados.....	26
4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados .....	26

4.1.2 Prueba de hipótesis .....	35
4.1.3 Discusión de resultados .....	37
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	40
5.1. Conclusiones.....	40
5.2. Recomendaciones .....	41
REFERENCIAS.....	42
ANEXOS .....	42
Anexo 1: Matriz de consistencia .....	43
Anexo 2: Ficha de recolección de datos .....	45
Anexo 3: Validez del instrumento .....	45
Anexo 4: Constancia de exoneración de revisión .....	50
Anexo 5: Constancia de recolección de datos.....	51
Anexo 6: Ficha técnica de Standard de McFARLAND.....	51
Anexo 7: Certificado de Streptococcus mutans .....	51
Anexo 8: Informe de ensayo microbiológico.....	51
Anexo 9: Constancia de eliminación de residuos biológicos.....	51
Anexo 10: Informe de Turnitin .....	51
Anexo 11: Informe del Asesor.....	51
Anexo 12: Colección de fotografías .....	51

### Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Efectividad antibacteriana de la sustancia de Digluconato de clorhexidina al 0.12% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 .....	26
<b>Tabla 2</b> Efectividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175 .....	27

<b>Tabla 3</b>	Efectividad antibacteriana de aceite esencial de té verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	28
<b>Tabla 4</b>	Efectividad antibacteriana de extracto de estevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> ) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	29
<b>Tabla 5</b>	Efectividad antibacteriana de Agua destilada sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	30
<b>Tabla 6</b>	Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayos in vitro a las 24 y 48 horas .....	32
<b>Tabla 7</b>	Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de las sustancias de prueba frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 a las 24 y 48 horas .....	33
<b>Tabla 8</b>	Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de las sustancias de prueba frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	34

### Índice de gráficos

<b>Gráfico 1</b>	Efectividad antibacteriana de la sustancia de Digluconato de clorhexidina al 0.12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	26
<b>Gráfico 2</b>	Efectividad antibacteriana del aceite esencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	27
<b>Gráfico 3</b>	Efectividad antibacteriana de aceite esencial de té verde ( <i>Camellia sinensis</i> ) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	28
<b>Gráfico 4</b>	Efectividad antibacteriana de extracto de estevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> ) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	29

<b>Gráfico 5</b> Efectividad antibacteriana de Agua destilada sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	30
<b>Gráfico 6</b> Medias de halos de inhibición de las sustancias de prueba y los grupos controles frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar Mueller Hinton.....	31
<b>Gráfico 7</b> Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayos <i>in vitro</i> a las 24 y 48 horas.....	33

## Resumen

En este estudio se tuvo como finalidad determinar el efecto antibacterial de tres compuestos de origen vegetal: *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare*, frente al *Streptococcus mutans*. Para ello, se utilizó una metodología con diseño experimental *in vitro*, método analítico y tipo aplicada. En este se aplicó los tratamientos a evaluar en placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans*, utilizando 10 placas para cada tratamiento y dos grupos control. Los resultados revelaron que, de los tres compuestos de origen vegetal evaluados, dos presentaron efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans*, en el caso de *Origanium vulgare*, se obtuvo halos de inhibición de 32,09 mm a las 24 horas y de 31,80 mm a las 48 horas. Asimismo, para *Camellia sinensis* los halos de inhbción fueron de 25,06 mm a las 24 horas y de

24,74 mm a las 48 horas. Mientras que, *Stevia rebaudiana* no presentó efecto antibacteriano ya que sus halos de inhibición tuvieron un diámetro de 0 mm. Por lo tanto, se concluyó que los compuestos antibacterianos que sí mostraron efecto antibacteriano no presentan diferencias significativas con control positivo utilizado Gluconato de Clorhexidina al 0.12% ( $p>0.05$ ).

**Palabras clave:** Agente antibacteriano, *Streptococcus mutans*, *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare*.

### Abstract

The aim of this study was to determine the antibacterial effect of three compounds of plant origin: *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* and *Origanum vulgare*, against *Streptococcus mutans*. For this purpose, we used a methodology with an in vitro experimental design, analytical method, and applied type. The treatments evaluated were applied in Petri dishes with *Streptococcus mutans* strains, using ten plates for each treatment and two control groups. The results revealed that of the three compounds of plant origin evaluated, two showed antibacterial effect against *Streptococcus mutans*, in the case of *Origanum vulgare*, inhibition halos of 32.09 mm at 24 hours and 31.80 mm at 48 hours were obtained. Likewise, for *Camellia sinensis*, the inhibition halos were 25.06 mm at 24 hours and 24.74 mm at 48 hours. While *Stevia rebaudiana* did not present antibacterial effect since its inhibition halos had a diameter of 0 mm. Therefore, it was concluded that the antibacterial compounds that did show antibacterial effect do not present significant differences with the positive control used Chlorhexidine Gluconate 0.12% ( $p>0.05$ ).

**Key words:** Anti-bacterial agents, *Streptococcus mutans*, *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis*, *Origanum vulgare*.

## Introducción

La presente tesis titulada “Efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*, estudio *in vitro*”, surge debido a que la caries dental es una enfermedad oral común que afecta a una gran parte de la población mundial, siendo el *Streptococcus mutans* uno de los principales microorganismos implicados en su desarrollo.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto antibacterial *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*. Con esta investigación, se espera contribuir al avance en el campo de la odontología y la salud oral, proporcionando una base científica para futuros estudios y posibles aplicaciones clínicas. Este informe final proporciona un detallado relato del procedimiento desarrollado para llevar a cabo el estudio, dividido en cinco secciones. La primera sección aborda la situación problemática relacionada con las variables investigadas, analiza los contextos a nivel global, nacional y local, y presenta la justificación del estudio junto con sus limitaciones. El segundo capítulo se enfoca en el marco teórico que fundamenta las variables de estudio. El tercer capítulo describe el marco metodológico empleado, explicando la justificación del enfoque, tipo y diseño del estudio, así como las características de los métodos y herramientas utilizadas para recopilar datos. Por otro lado, el cuarto capítulo presenta los resultados descriptivos, el análisis lógico de

las hipótesis y un detallado debate sobre los descubrimientos obtenidos. Seguidamente, se presentan las conclusiones y recomendaciones derivadas del estudio. Por último, se incluyen las fuentes bibliográficas utilizadas y una serie de apéndices que respaldan el proceso de recolección de datos empíricos.

## CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

### 1.1 Planteamiento del problema

La caries dental es una enfermedad crónica y acumulativa altamente prevalente. Es una patología de tipo infeccioso y multifactorial, la cual tiene como consecuencia el deterioro del tejido dental duro (1). Si esta enfermedad no es tratada pertinentemente, el paciente puede manifestar dolor intenso e infección, síntomas que conllevan a la disminución en el rendimiento académico y a la calidad de vida (2). Sin embargo, el tratamiento dental para las enfermedades orales es extremadamente costoso e inaccesible para muchas personas, hecho que puede representar una carga socioeconómica significativa (3).

Según un reporte presentado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el estado de la salud bucodental a nivel global, se determinó que este tipo de enfermedad afecta a un aproximado de 3500 millones de personas en todo el mundo. Asimismo, se estima que 2 mil millones de personas entre jóvenes y adultos alrededor del mundo padecen de caries en dientes permanentes y 514 millones de infantes presentan el mismo problema, pero, en dientes primarios (4). En el ámbito nacional, autoridades sanitarias del Ministerio de Salud estiman que aproximadamente el 90.4 % de la población en el Perú manifiesta caries dentales y el 85 % sufre de enfermedades odontológicas, las cuales implican un mayor riesgo para ciertos grupos poblacionales vulnerables (5). En síntesis, la caries dental no solo es una de las enfermedades más recurrentes en la población mundial, sino también es una problemática a nivel de salud pública, sin duda. Cabe destacar que, entre las diversas especies de bacterias cariogénicas, *Streptococcus mutans* se considera el principal factor patógeno etiológico de la caries dental. La demostración y participación de estos microorganismos en el proceso y

consolidación de la biopelícula dental cariogénica ha llevado al diseño e implementación de medidas de prevención y/o control; por lo tanto, es fundamental identificar estrategias para combatir esta bacteria (6). Entre dichas estrategias, las más utilizadas son sustancias químicas y antimicrobianas para la eliminación y/o control de los microorganismos implicados en la caries dental. Sin embargo, su uso inadecuado puede provocar alteraciones en la compleja microbiota oral, situación que produce la necesidad de seguir buscando biomoléculas antimicrobianas de origen natural que puedan ser utilizadas como terapia coadyuvante en el control de la biopelícula cariogénica (7). Asimismo, en la actualidad, debido al uso indiscriminado de antibióticos, diferentes bacterias han desarrollado resistencia a los medicamentos, debido a esto, se realizan investigaciones para introducir nuevos agentes antibacterianos, por lo que los agentes a base de hierbas o sus ingredientes compuestos vegetales se evalúan ampliamente (8) En este sentido, la investigación en plantas medicinales está orientada a la identificación de plantas con actividad farmacológica y, consecuentemente, al descubrimiento de nuevas moléculas con acción antimicrobiana que puedan ser implementadas para el control o prevención de patologías bucales. De manera puntual, en medicina oral, se han obtenido diversas sustancias de plantas que han mostrado actividad antimicrobiana (9). En consecuencia, derivados, como los extractos, aceites esenciales y otros compuestos de origen vegetal han demostrado beneficios prometedores para la salud bucal, como la reducción de la gingivitis y el mal aliento, y el control de la formación de biopelículas (10).

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuál de estos tres compuestos de origen vegetal presentan efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans* estudio *in vitro*, Lima - 2023?

### **1.2.2 Problema específicos**

- ¿Cuál es el efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana* frente al *Streptococcus mutans*?
- ¿Cuál es el efecto antibacterial de *Camellia sinensis* frente al *Streptococcus mutans*?
- ¿Cuál es el efecto antibacterial de *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*?

## **1.3 Objetivos de la investigación**

### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar cuál de estos tres compuestos de origen vegetal presentan efectos antibacterial frente al *Streptococcus mutans* estudio *in vitro*, Lima - 2023.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Determinar el efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana* frente al *Streptococcus mutans*
- Determinar el efecto antibacterial de *Camellia sinensis* frente al *Streptococcus mutans*

- Determinar el efecto antibacterial de *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*

## **1.4 Justificación de la investigación**

### **1.4.1 Teórica**

La investigación propuesta sobre el efecto antibacteriano de *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente a *Streptococcus mutans*, se basó en la relevancia de este microorganismo en la salud oral. *Streptococcus mutans* es reconocido como un agente clave en la formación de biopelícula cariogénica, contribuyendo significativamente a la aparición de caries dentales y otros problemas bucales. La carencia de estudios consolidados que examinen las propiedades antibacterianas de estas plantas en contra de *Streptococcus mutans* representa una brecha en la investigación. Este vacío impide comprender plenamente su potencial y cómo podrían interactuar para combatir la formación de biopelícula cariogénica de manera más efectiva. Explorar la posible sinergia entre estas especies vegetales podrá conducir al descubrimiento de nuevas estrategias terapéuticas y preventivas para mejorar la salud oral. Además, aprovechar el poder antimicrobiano de estas plantas podrá ofrecer alternativas naturales y efectivas en odontología, contribuyendo a la salud bucal y ofreciendo opciones más seguras y accesibles para el cuidado dental.

### **1.4.2 Metodológica**

La investigación actual se centró en explorar el impacto del efecto antibacteriano de *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare* frente a *Streptococcus mutans*, empleando un diseño experimental con ensayos in vitro. Asimismo, se basó en

una revisión exhaustiva de literatura científica a nivel nacional e internacional, fundamentando la estructura metodológica y los procedimientos para la recopilación de datos. Además de su contribución significativa en el ámbito metodológico, esta investigación tuvo como objetivo establecer un punto de referencia fundamental para futuras indagaciones en el campo de la Odontología, mediante la obtención de una base de datos robusta que permitirá no solo comparar resultados con estudios similares, sino también impulsar el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y preventivas para el control efectivo de *Streptococcus mutans* y la formación de biopelícula cariogénica en la salud oral.

### **1.4.3 Práctica**

La importancia práctica de esta investigación radica en su impacto potencial en la práctica odontológica y en la salud oral en general. Al enfocarse en determinar el efecto antibacteriano de tres compuestos vegetales en *Streptococcus mutans*, esta investigación ofrece una perspectiva innovadora al presentar alternativas naturales a los tratamientos convencionales en Odontología, tales como la clorhexidina y los antibióticos. Estos tratamientos convencionales conllevan riesgos asociados, como efectos adversos y la creación de resistencia bacteriana, lo que subraya la urgencia de encontrar opciones más seguras y efectivas.

Explorar alternativas naturales con propiedades antibacterianas puede significar un avance en la prevención y tratamiento de la caries dental. Además, este enfoque podrá reducir la dependencia de agentes tradicionales con riesgos conocidos, alentando el desarrollo de nuevos productos para el cuidado bucal. En síntesis, este estudio podrá impulsar prácticas odontológicas más seguras y efectivas al introducir opciones terapéuticas innovadoras basadas en compuestos vegetales.

#### **1.4.4 Social**

El presente estudio tuvo como propósito primordial abordar una preocupación global y nacional que impacta directamente en la salud pública y el bienestar general. Al explorar el potencial antibacteriano de tres componentes vegetales contra *Streptococcus mutans*, uno de los principales causantes del biofilm asociado a la formación de caries dental, se busca ofrecer alternativas más accesibles para la población en general. Este enfoque natural pretende minimizar potenciales efectos colaterales en comparación con los tratamientos convencionales.

Entender cómo estos elementos vegetales pueden combatir activamente a *Streptococcus mutans* representa una valiosa oportunidad para introducir opciones terapéuticas asequibles y de menor impacto adverso en la salud bucal. Más allá de su aporte al avance científico, este estudio aspira a promover soluciones más asequibles y respetuosas con el organismo para enfrentar problemas de salud dental generalizados. En última instancia, se busca mejorar la calidad de vida de las personas al ofrecer alternativas de cuidado bucal más accesibles y amigables.

#### **1.5 Limitaciones de la investigación**

##### **1.5.1 Temporal**

La limitación del tiempo reducido para llevar a cabo el trabajo experimental y la escasa disponibilidad de profesionales necesarios para validar y ejecutar el proyecto representaron un desafío significativo. La consideración de los plazos establecidos por la universidad fue crucial. Estas limitaciones plantearon dificultades en la planificación y ejecución adecuada de las actividades experimentales y la validación del estudio dentro

de los límites de tiempo establecidos por la institución académica. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, se logró superarlas a tiempo, y no afectaron la efectividad ni el logro de los objetivos del estudio.

### **1.5.2 Espacial**

Se presentaron dificultades en la búsqueda de laboratorios adecuados que contaran con el equipamiento necesario para llevar a cabo el procedimiento experimental requerido. A pesar de estos obstáculos, se logró encontrar un espacio de trabajo en el laboratorio *Scientific Quality*, ubicado en el distrito de Villa El Salvador. Este laboratorio proporcionó las condiciones y los equipos necesarios para llevar a cabo el estudio con éxito, a pesar de las dificultades iniciales para hallar instalaciones idóneas.

### **1.5.3 Recursos**

Se tomaron precauciones al inicio de la investigación para evitar contratiempos. Se contó con los recursos económicos requeridos y se asignó un fondo adicional para gastos imprevistos. Esta planificación garantizó un desarrollo sin inconvenientes, al disponer de los recursos financieros necesarios para afrontar cualquier situación imprevista que pudiera surgir.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1 Antecedentes nacionales

**Valderrama y Bustamante** (2022) en Lima, tuvieron como objetivo “*Identificar el efecto antibacteriano de la mezcla de aceites esenciales de Cinnamomum zeylanicum Blume (canela) y Origanum vulgare L. (orégano) ante el patógeno Streptococcus mutans ATCC 25175*”. Dicho estudio fue de diseño experimental in vitro y tuvo un enfoque cuantitativo, en el cual la población estuvo conformada por *Cinnamomum zeylanicum* y *Origanum vulgare*, y la muestra utilizada fueron los aceites esenciales de cada especie. Por otra parte, los microorganismos fueron cultivados en placas Petri como medio de cultivo y agar sangre de cordero como sustrato, en el cual se realizó la incubación durante 24 horas a una temperatura de 37°C. Posteriormente, las colonias del microorganismo fueron tomadas mediante un hisopado para luego de ser diluidas y sembradas en la superficie de agar Müller Hinton. En cuanto a los resultados, se registraron halos de inhibición para el aceite de canela a diferentes concentraciones en promedio con medidas de 31,10 + 0,31mm, 38,23 + 0,36mm y 42,95 + 0,31mm al 50 %, 75 % y 100 % respectivamente; mientras que, para el aceite de orégano, con los mismos niveles de concentración, se obtuvo 25,99 + 0,44mm, 32,64 + 0,30mm y 36,86 + 0,36mm como medidas de diámetro de los halos de inhibición. Por lo tanto, los autores concluyeron que ambos compuestos vegetales estudiados manifiestan un efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* (11).

**Acosta y Armas** (2022) en Lima, tuvieron como objetivo “*Identificar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de Camellia sinensis y propóleo a diferentes*

*concentraciones y después de diferentes periodos de tiempo frente Streptococcus mutans*”. Este estudio fue de diseño experimental *in vitro* de tipo comparativo, en el que se utilizó una muestra no probabilística de 150 discos de papel, los cuales se encontraban distribuidos en 30 placas Petri preparadas con un sustrato de agar sangre y en las cuales se inoculó cepas de *S mutans*. En estas se colocaron los discos con los respectivos extractos, además de los controles positivo y negativo. En cuanto a los resultados, se registró el mayor halo de inhibición de *Camellia sinensis* sobre *S. mutans* a una concentración de 30 % luego de un periodo de 24 horas y 48 horas. Con base en lo mencionado, los autores concluyeron que *C. sinensis* presentó un mayor efecto antibacteriano a las 24 horas, puesto que el tamaño del halo disminuyó en relación con el aumento de tiempo de exposición de la bacteria (12).

**Cayo y Cervantes** (2020) en Lima, propusieron como objetivo “*Analizar la capacidad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Camellia sinensis en diferentes concentraciones (10 % y 20 %) y compararlo con el extracto etanólico de propóleo a concentraciones diferentes (10 % y 20 %) en el crecimiento y propagación de cepas de la bacteria Streptococcus mutans (ATCC 25175)*”. Para ello, se empleó una metodología de diseño experimental *in vitro*, de nivel prospectivo y comparativo, en el cual se utilizó un universo igual a 90 discos para difusión y como muestra, 15 discos impregnados con *Camellia sinensis* o propóleo en sus respectivas concentraciones; además, se utilizaron muestras control de clorhexidina acuosa al 0.12 % y agua destilada. Asimismo, se colocaron discos de difusión con las respectivas sustancias sobre agar Muller Hinton como sustrato en el cual se sembró *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), luego se realizaron las medias del diámetro de los halos de inhibición después de las 24 y 48 horas. En cuanto a los métodos estadísticos, se utilizaron pruebas de comparación no paramétrica como la de Kruskal Wallis y la de Wilcoxon. En cuanto

a los resultados, se obtuvo que el máximo ancho del diámetro de halo de inhibición fue el de clorhexidina acuosa al 0.12 % con un valor de 10,64 mm  $\pm$  0,924 mm; seguido por el de *Camellia sinensis* al 20 % con 6,82 mm  $\pm$  0,982 mm y propóleo al 20 % con 8,36 mm  $\pm$  1,286 mm. Finalmente, los autores concluyeron que el extracto de propóleo al 20 % obtuvo mayor actividad antibacteriana con respecto a *Camellia sinensis* al 10 % y 20 %; sin embargo, dicha actividad disminuye a medida que pasa el tiempo (13).

**Yovera** (2019) en Lima, propuso como objetivo “*Realizar una comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto de Stevia rebaudiana Bertoni y Xilitol aplicados en cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175)*”. Dicha investigación fue de tipo experimental, comparativo, para lo cual se tuvo una muestra de 160 placas con diferentes concentraciones de Stevia rebaudiana y Xilitol, procedimiento realizado con el método de difusión de discos; asimismo, se tuvieron dos controles: uno positivo (Clorhexidina al 0,12 %) y uno negativo (agua). En cuanto a los resultados, se obtuvo que en 24 horas el extracto de Stevia produjo un tamaño máximo del halo de inhibición de 8,68mm al 75 % y 9,40mm al 100 % de concentración, demostrando de esta manera su efectividad; mientras que, a las 48 horas, el tamaño máximo fue de 9,01mm al 75 % y 8,48mm al 100 % de concentración. Por otra parte, el Xilitol obtuvo en 24 horas un tamaño máximo de 9,57 a 25 % de concentración y a las 48 horas, un máximo de 8,92mm al 75 % de concentración. Finalmente, como conclusión se obtuvo que *Stevia rebaudiana* al 75 % y 100 % de concentración luego de un tiempo de 24 y horas expresó inhibición sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, por lo tanto, se recomienda utilizarla como antimicrobiano para combatir este patógeno (14).

**Carhuas** (2018) en Huánuco, tuvo como objetivo “*Verificar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Origanum vulgare (orégano), Menta*

*piperita (menta)* y *Cymbopogon citratus (hierba Luisa)* sobre dos microorganismos promotores de la formación de biopelícula dental”. Dicho estudio fue de diseño experimental *in vitro*. Para llevarlo a cabo se extrajeron los aceites de las plantas en estudio mediante método de arrastre por vapor de agua. Además, se activó la cepa de las bacterias y se preparó el inóculo con una turbidez igual a 0,5. Por otro lado, se realizó la siembra de microorganismos en un total de 72 placas Petri con un sustrato de agar Dextrosa Sabouraud a 37°C de temperatura, posteriormente, se llevó a cabo la inserción de las placas estériles con los aceites esenciales para poder realizar las respectivas mediciones del halo de inhibición. En cuanto al resultado, se obtuvo que el promedio del efecto antimicrobiano para los ensayos realizados con orégano tuvo un valor en la formación del halo de inhibición de  $(20,02 \pm 5,09 \text{ mm})$ , mientras que el grupo de menta tuvo  $(12,19 \pm 0,86 \text{ mm})$  y el de hierbaluisa  $(20,94 \pm 2,11 \text{ mm})$ . Por otra parte, en el análisis no paramétrico de la prueba de Kruskal Wallis no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tres grupos de estudio. Finalmente, con base en lo mencionado, se obtuvieron como conclusiones que el aceite esencial de hierbaluisa presentó un valor mayor en los halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* en comparación con los otros aceites esenciales de orégano y menta; no obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (15).

### **2.1.2. Antecedentes internacionales**

**Lavaee et al.** (2022) en Irán, plantearon como objetivo “*Evaluar las propiedades antimicrobianas de Pimpinella anisum y Orégano Vulgare*”. El estudio fue de diseño experimental *in vitro*, en el cual las muestras de placa dental fueron recolectadas de

niños de 3 a 5 años que fueron derivados a un consultorio dental privado con diagnóstico de caries dental. Después de la determinación de las colonias bacterianas de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus salivarius*, se midieron la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC) de extractos etanólicos y metanólicos de *Pimpinella anisum* y *Origanum vulgare* por métodos de macrodilución y microdilución. En cuanto a los resultados, se obtuvo que la media de MIC y MBC del extracto de *Pimpinella anisum* y el extracto de *Origanum vulgare* y su combinación contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus salivarius* fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0,001$ ); además, la combinación de estos extractos mostró la MIC y MBC más bajas. Finalmente, con base en lo mencionado, los autores concluyeron que los extractos hidroalcohólicos de *Pimpinella anisum* y *Origanum vulgare* resultaron agentes antibacterianos efectivos contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus sanguinis*, por lo que la combinación de estos dos extractos mostró las mayores propiedades antibacterianas sobre todas las bacterias evaluadas (16).

**Bashardoust et al.** (2022) en Irán, tuvieron como objetivo “*Estudiar el efecto del extracto de Camellia sinensis en la reducción de Streptococcus mutans y Streptococcus salivarius*”. Dicho estudio fue de diseño experimental *in vitro*, para el cual, los efectos antimicrobianos de los extractos en *S. mutans* y *S. salivarius* se realizaron utilizando los métodos de difusión en pozo y la microdilución en caldo; además, todos los experimentos se realizaron en réplicas triples. En cuanto a los resultados, las pruebas de susceptibilidad antibacteriana revelaron que el extracto de té (*Camellia sinensis*) a una concentración de 500 µg/ml tenía una actividad antibacteriana notable contra *S. mutans* y *S. salivarius* con una zona de inhibición de  $25 \pm 1$  mm y  $30 \pm 1$ , respectivamente. Asimismo, los valores de concentración inhibitoria mínima (MIC) de

las dos cepas probadas se estimaron en 31,25 µg/ml. Además, los valores de concentración bactericida mínima (MBC) del extracto de *Camellia sinensis*, se estimaron en 62,5 µg/ml frente a ambos estreptococos. Por lo tanto, considerando el poder inhibidor del extracto de *Camellia sinensis* sobre las bacterias grampositivas de *S. salivarius* y *S. mutans*, los autores concluyeron que esta planta puede ser utilizada en diversas industrias, incluyendo la industria farmacéutica y sanitaria; así también puede mejorar la salud bucal porque *S. mutans* y *S. salivarius* son las bacterias más importantes causantes de caries (17).

**Demirez et al.** (2021) en Turquía, tuvieron como objetivo “*Evaluar las actividades antimicrobianas de Stevia rebaudiana, Helichrysum arenarium y Anzer thyme contra Streptococcus mutans y Streptococcus wiggsiae en biopelículas formadas en los dientes primarios*”. Este fue un estudio de diseño experimental *in vitro*, en el cual se tomaron 50 muestras de esmalte dentario y se dividieron en cinco subgrupos, de los cuales cada uno fue sometido a sus respectivos tratamientos con los compuestos vegetales, como extracto de *Stevia rebaudiana*. En estos se determinó la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima, además de contabilizar el número de microorganismos viables. En este caso, la actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en placas de agar. Se prepararon cultivos frescos de *S. mutans* y *S. wiggsiae*, con una turbidez de 0,5 y 1,0 McFarland (107 UFC/ml), respectivamente, en caldo De Man, Rogosa y Sharpe (MRS) + BHI (1:1), y se realizaron placas de difusión en medio de agar BHI con un 5% de sangre. Posteriormente, se perforaron las placas de 5 mm de diámetro y se conservó una distancia entre placas de 2 cm para evitar solapamientos. Asimismo, se añadió 1 ml de metanol a cada 20 mg de extracto de hierbas mediante vórtex. Las placas se llenaron con 50 µl de cada una de estas soluciones y tras la incubación, se midieron en milímetros

las zonas de inhibición de cada solución probadas contra las bacterias utilizando un calibrad. Como resultado se obtuvo que los grupos con tratamientos de *Stevia rebaudiana*, *Helichrysum arenarium* y *Anzer thyme* mostraron recuentos de colonias de *S. mutans* significativamente más bajos que el grupo control negativo de agua destilada ( $p < 0,05$ ). Finalmente, los autores concluyeron que los compuestos vegetales obtenidos de plantas como *Stevia rebaudiana* son alternativas naturales efectivas contra bacterias cariogénicas (18).

**Kianbakht et al.** (2020) en Irán, propusieron “*Evaluar los efectos antibacterianos del extracto etanólico de xilitol y Stevia rebaudiana en el biofilm oral*”. Este estudio tuvo un diseño experimental *in vitro* en el que se utilizó un total de 96 discos acrílicos, los cuales se dividieron en dos grupos principales para la inoculación con *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. Cada grupo constó de 6 subgrupos, incluido un subgrupo de control positivo y 5 subgrupos de discos sumergidos en soluciones de xilitol al 1 % o al 3 %, 2 o 4 mg/ml de *Stevia rebaudiana*, o una combinación de xilitol al 3 % y 4 mg/ml de *Stevia rebaudiana*. Luego, se cultivaron las soluciones en medios de cultivo específicos y se incubaron. De esta manera, contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) para cada disco. En cuanto a los resultados, el análisis estadístico de ANOVA reveló diferencias significativas entre los subgrupos en los grupos *S. mutans* y *S. sobrinus* ( $P = 0,03$  y  $P = 0,01$ , respectivamente). En el grupo de *S. mutans*, la media logarítmica del recuento de colonias en el subgrupo de control positivo fue de 6,75, mientras que este valor fue significativamente menor en los subgrupos de 2 mg/ml (5,81) y 4 mg/ml (5,92) de *Stevia rebaudiana* utilizando la prueba post hoc de Dunnett ( $P=0,01$  y  $P=0,04$ , respectivamente). Los otros tres subgrupos no mostraron diferencias significativas. En el grupo de *S. sobrinus*, los cinco subgrupos experimentales demostraron un recuento de colonias significativamente más bajo que el

grupo de control positivo ( $P < 0,05$ ). Finalmente, como conclusión los autores obtuvieron que el extracto de *Stevia rebaudiana* parece ser más potente que el xilitol contra el biofilm dental (19).

**Hejazinia et al.** (2020) en Irán, tuvieron como objetivo “*investigar los efectos inhibitorios y anti-biopelícula in vitro e in vivo del aceite esencial de orégano en los aislamientos de Streptococcus mutans obtenidos de estudiantes de escuela primaria*”. Como metodología, el estudio tuvo un diseño experimental *in vitro e in vivo*, en el cual se realizó en 150 muestras recolectadas de las superficies bucal y lingual de los dientes posteriores de estudiantes de primaria. Las cepas de *S. mutans* se identificaron mediante pruebas microbiológicas y bioquímicas convencionales, y la formación de biopelículas se evaluó mediante el ensayo de placa de microtitulación. Por otra parte, la concentración mínima inhibitoria (MIC) del aceite esencial de orégano frente a las muestras aisladas se determinó mediante el método de microdilución en caldo. En cuanto a los resultados, se obtuvo que la frecuencia de *S. mutans* fue del 15.3 %, de los cuales el 87 % eran capaces de formar biopelículas. Además, la concentración mínima inhibitoria (MIC) del aceite esencial de orégano fue de 50  $\mu\text{l/ml}$  frente a los aislados de *S. mutans*, y el 82 % de los aislados no crecieron a las concentraciones  $\geq 512 \mu\text{l/ml}$ . Sin embargo, ninguno de los aislados fue capaz de formar biopelículas en las concentraciones MIC y sub-MIC del aceite esencial. El limoneno y el mirceno fueron los constituyentes más efectivos del aceite esencial. Además, se observó una correlación significativa entre el tratamiento con aceite esencial de orégano y la formación de biopelículas por los aislados de estreptococos ( $P = 0,05$ ). Los autores concluyeron, de acuerdo con los resultados, que la presencia de biofilm y la incidencia de caries dental se correlacionaron significativamente; además, el aceite esencial de orégano y sus principales componentes presentaron potentes propiedades anti-biopelículas y

antibacterianas, por lo que podrían utilizarse en la producción de nuevos enjuagues bucales a base de plantas (20).

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Efecto antibacterial**

El efecto antibacterial de una molécula es la capacidad que esta posee de inhibir el crecimiento de microorganismos. Está asociado con los elementos, moléculas o sustancias que poseen la propiedad de eliminar bacterias provincialmente o ralentizan su tasa de crecimiento, sin ser excesivamente tóxicos. Recientemente, se está implementando el uso de compuestos naturales modificados, el cual se realiza de forma química, por ejemplo, b-lactámicos (penicilinas), carbapenémicos o cefalosporinas. Productos naturales puros, como los aminoglucósidos, y otros antibióticos totalmente sintéticos, por ejemplo, las sulfonamidas, también se utilizan con frecuencia (21).

Los agentes antibacterianos son los más importantes en la lucha contra las enfermedades infecciosas, pero, debido a su uso recurrente que algunas veces puede considerársele como un abuso, los microorganismos infecciosos pueden desarrollar resistencia antibacteriana, lo cual se ha vuelto un problema de relevancia para la industria farmacéutica. La resistencia comúnmente se basa en los procesos de desarrollo que tienen lugar, por ejemplo, la terapia con antibióticos, que conduce a la resistencia hereditaria (22).

### **2.2.2 Compuestos de origen vegetal**

Son componentes bioquímicos o elementos presentes en las plantas, los cuales se obtienen por medio de un derivado de estas o con su consumo directo; en vista de que, según los conocimientos etnobotánicos, muchas plantas poseen propiedades

antibacterianas, de manera particular, se tiene registro de un amplio uso de diversas plantas beneficiosas para la salud estomatológica (23).

Las propiedades antimicrobianas de compuestos de origen vegetal, como aceites esenciales, han demostrado tener beneficios prometedores para la salud bucal, por ejemplo, la reducción de la inflamación gingival y la halitosis, así como el control de la formación de biopelículas (24).

Las plantas producen una enorme variedad de metabolitos secundarios funcionales relevantes (fitoquímicos) que exhiben una diversidad de propiedades medicinales. La mayoría de estos compuestos son utilizados por las plantas como mecanismo de defensa contra otros microorganismos, herbívoros y competidores. Los principales fitoquímicos presentes en las plantas son los aceites esenciales (AE), compuestos fenólicos, alcaloides, lectinas/polipéptidos y poliacetilenos (25).

Por otro lado, los aceites esenciales se caracterizan por ser un complejo de compuestos naturales, volátiles y aromáticos sintetizados por plantas aromáticas que se han utilizado a menudo en la medicina tradicional. Además, estos compuestos exhiben un potencial antimicrobiano contra diversos tipos de bacterias (26).

### ***Stevia rebaudiana***

*Stevia rebaudiana*, conocida comúnmente como Stevia, es un arbusto de tipo perenne, el cual, taxonómicamente, se ubica en la familia *Compositae* (*Asteraceae*) o compuestas. Esta planta es nativa de Sudamérica, de manera puntual de Paraguay y sur de Brasil; sin embargo, en la actualidad su cultivo se ha extendido a diversas regiones del mundo (27).

La Stevia también llamada hoja dulce, es utilizada comercialmente como endulzante debido a su sabor, el cual se debe a los elementos en su composición

(glucósidos de esteviol), que tienen entre 100 y 300 veces el dulzor de la sacarosa. Además, esta planta es también una fuente de vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales, ácidos grasos y otros elementos bioactivos favorables para la salud (28). Por esto, dicha planta se utiliza como sustituto de la sacarosa, para el control glucémico en diabetes mellitus, obesidad, hipertensión, efectos protectores renales y promoción de la salud bucal (29).

Por otra parte, la *Stevia rebaudiana* es popular por su composición nutricional y química, la cual contiene una importante cantidad de aminoácidos, minerales y fitoquímicos, especialmente polifenoles que contribuyen a una importante actividad antioxidante (30)

Estudios recientes demuestran que *S. rebaudiana* es una planta única con propiedades antiinflamatorias y bactericidas. El extracto de stevia inhibe la actividad de muchas bacterias patógenas, puede usarse para tratar enfermedades inmunitarias y reducir el edema (31).

En el ámbito odontológico, se ha demostrado que la stevia tiene efectos antibacterianos en la boca y estudios *in vitro* validaron que *S. rebaudiana* detiene el crecimiento de *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* y *Lactobacillus acidophilus*, que son bacterias asociadas al desarrollo de caries (31).

La actividad antimicrobiana de esta planta está asociada a los polifenoles, que son compuestos bioactivos que esta contiene, los cuales han sido reportados para extractos crudos. En este sentido, se menciona que el extracto metanólico proveniente de raíz y hojas de Stevia, posee mayor actividad antibacteriana (32).

### ***Camellia sinensis***

La planta del té, *Camellia sinensis*, es un miembro de la familia Theaceae. Esta planta es originaria del sudeste asiático (sur de China, norte de India, Myanmar y Camboya). Hoy en día, también se cultiva en Sri Lanka, Japón y otras partes del mundo. Sus hojas se caracterizan por presentar coloración verde oscuro y de forma ovalada; además tiene bordes dentados, y flores blancas, fragantes y aparecen en racimos o individualmente y a partir de estas se producen las distintas variantes de té (33).

*Camellia sinensis* es también comúnmente conocida como té verde y es una planta de la cual se fabrica una bebida popular que se ha estudiado ampliamente por sus efectos protectores en humanos; además, tiene compuestos polifenólicos, como la catequina y la epigallocatequina-3-galato (EGCG), que son abundantes y ampliamente estudiados. Las hojas de té verde contienen tres componentes principales: las bases de xantina, la cafeína y la teofilina, los compuestos polifenólicos y los aceites esenciales, que tienen efectos beneficiosos para la salud humana (34).

Además, su consumo habitual se ha asociado durante mucho tiempo con beneficios para la salud contra una amplia gama de enfermedades que incluyen diabetes, inflamación, clastogénesis, vómitos, diarrea, enfermedades cardíacas y varios tipos de cáncer. Recientemente, una gran cantidad de estudios científicos con animales de experimentación han demostrado que el té reduce el daño hepático causado por el alcohol, el tetracloruro de carbono, la reperfusión isquémica, el plomo, la hepatitis viral, el fenobarbital, la microcistina, la azatioprina, la galactosamina, el lipopolisacárido y la cipermetrina. Incluso los estudios también han demostrado que el té previene la hepatocarcinogénesis inducida por sustancias químicas (35).

### ***Origanum vulgare***

*Origanum vulgare*, conocido comúnmente como orégano, es una hierba, la cual, de acuerdo con la taxonomía, pertenece a la familia de las Lamiaceae. Este es típico de América del Norte, originario del Mediterráneo, e históricamente ha sido utilizado como alimento, especia y planta medicinal. En cuanto a sus características, el orégano es una planta de porte herbal no estacional, es decir, sus hojas se mantienen todo el año y llega a medir hasta 80 cm de altura; sus hojas son de forma ovalada y de coloración verde oscuro, además, presenta flores blancas, rosadas o moradas formadas en espigas (36).

Por otra parte, uno de los insumos más consumidos a partir de esta planta son sus aceites esenciales, ya que estos son ampliamente conocidos por su actividad antipatogénica demostrada en estudios celulares y en animales. El aceite de orégano se caracteriza por poseer propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias, antimicrobianas y antioxidantes; además, sus principales constituyentes son carvacrol, p-cimeno, c-terpineno, limoneno, terpineno, ocimeno, cariofileno,  $\beta$ -bisaboleno, linalol y 4-terpineol (37).

El aceite de *O. vulgare* muestra una fuerte acción antibacteriana contra bacterias tanto Gram negativas como Gram positivas; en comparación con los aceites esenciales de otras plantas, mientras que sus precursores biosintéticos c-terpineno y p-cimeno parecen ser inactivos. Además, la cantidad rica en carvacrol de *Origanum vulgare* muestra la misma actividad fuerte contra algunas bacterias (38).

### **2.2.3 *Streptococcus mutans***

*Streptococcus mutans* es un microorganismo gram positivo presente en la cavidad oral. Este es considerado como uno de los patógenos responsables de la aparición de la caries de los dientes (39).

Esta bacteria se desarrolla en la cavidad oral humana, particularmente en la placa dental, la cual forma una biopelícula en las superficies duras de los dientes. Cabe resaltar que este microorganismo, generalmente, no se encuentran en la placa supragingival naciente y habitan en áreas de los dientes, como grietas y fisuras, que están protegidas del fluido y las fuerzas de cizallamiento masticatorias (40).

En este sentido, se considera que la capacidad de formar caries de *S. mutans*, se debe principalmente debido a las siguientes características: (i) el potencial sintetizador de polímeros fuera de las células compuestos de glucano derivados de la sacarosa en grandes cantidades, las cuales permiten la colonización constante en las superficies endurecidas, así como en el crecimiento de la matriz *in situ*, (ii) el poder de transporte y metabolismo para diversos tipos de carbohidratos presentes en ácidos orgánicos, propiedad conocida con el nombre de acidogenicidad y (iii) su acidez; es decir, la propiedad de prevalecer ante estímulos negativos o circunstancias de estrés ambiental, en este caso, un bajo nivel de pH o pH ácido (41).

Asimismo, se ha demostrado que *S. mutans* puede alterar el entorno local al formar un medio extracelular rico en polisacáridos y de bajo pH, de manera que puede generar un ambiente con condiciones favorables para otros microorganismos con requerimientos de tipo acidógeno y acidúrico (39).

Por otra parte, sus cepas se pueden clasificar, de acuerdo con la composición del polisacárido de ramnosa-glucosa, en cuatro grupos serológicos: c, e, f y k (42).

Cabe destacar que uno de los atributos que más contribuye al hecho de que este microorganismo se considere como el principal agente etiológico de las caries es su capacidad de adaptación frente a los cambios abruptos en su medio (43).

Por otra parte, los hidratos de carbono que ingresan al organismo proveen a esta bacteria de un sustrato propicio en el que, finalmente, se obtiene los productos finales ácidos, los cuales se van acumulando en la biopelícula dental. Adicionalmente, *S. mutans* desarrolla una respuesta de tolerancia al ácido con la finalidad de poder proliferar en bajos niveles de pH; este es un mecanismo adaptativo que incluye la estimulación de la producción de canales que aporten en el amortiguamiento del citoplasma y en los cambios de la estructura de ácidos grasos presentes en la membrana (44). En conjunto, los diferentes procesos celulares que constituyen la respuesta de tolerancia a los ácidos contribuyen a la capacidad de *S. mutans* para mantener un pH intracelular que es más alcalino que el ambiente circundante ( $\Delta\text{pH}$ ) en alrededor de 0,5 a 1 unidad de pH (45).

Sumado a ello, esta bacteria presenta diversos factores de virulencia, tales como el mecanismo de adherencia dependiente de sacarosa, el cual es responsable de la colonización patogénica en la superficie dental (46).

## **2.3. Formulación de hipótesis**

### **2.3.1. Hipótesis general**

**Ha:** Existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al *Streptococcus mutans* en un estudio in vitro realizado en Lima - 2023.

**Ho:** No existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al *Streptococcus mutans* en un estudio in vitro realizado en Lima - 2023.

### 2.3.2. Hipótesis específicas

**Hi<sup>1</sup>:** La *Stevia rebaudiana* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho:** La *Stevia rebaudiana* no presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Hi<sup>2</sup>:** *Camellia sinensis* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho:** *Camellia sinensis* no presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Hi<sup>3</sup>:** *Origanum vulgare* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho:** *Origanum vulgare* no presenta efecto antibacteriana frente al *Streptococcus mutans*.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Método de la investigación**

Para efectuar un estudio apropiado, se siguió un método analítico, puesto que deseaba verificar la hipótesis planteada por medio de los datos obtenidos, los cuales pasaron por un proceso de codificación y cuantificación, para luego ser sometidos a un análisis estadístico; estos mismos datos lograron ser comparados con otros, permitiendo de esta manera, ser examinados e interpretados (47).

### **3.2. Enfoque de la investigación**

Para obtener resultados precisos, se optó por un enfoque cuantitativo, el cual analiza de manera objetiva los datos utilizando parámetros numéricos como promedios y porcentajes. Este método suele emplear información de una muestra para inferir conclusiones sobre una población más amplia en la investigación cuantitativa (48). En este estudio, se utilizaron medidas longitudinales en milímetros (mm) de los halos de inhibición, las cuales se cuantificarán en intervalos de tiempo medidos en horas. Esta

elección metodológica se adecua a la naturaleza del trabajo, que implica la observación y medición precisa de variables específicas a lo largo del tiempo para alcanzar conclusiones basadas en datos cuantitativos.

### **3.3. Tipo de investigación**

La investigación se clasificó como aplicada debido a su objetivo principal de abordar un problema específico al comienzo del estudio. Este enfoque se centró en la resolución de una pregunta o situación concreta, lo que define la naturaleza aplicada de la investigación (47).

### **3.4. Diseño de la investigación**

Por las características específicas del estudio, se siguió un diseño experimental para establecer relaciones de causalidad entre la respuesta y sus variables explicativas. Este enfoque implica que el investigador manipula las variables explicativas y registra los cambios en la variable de respuesta, permitiendo el control de las variables aplicadas a los individuos. En el contexto de un experimento, se interviene activamente para controlar los resultados (48). En particular, se llevó a cabo un experimento *in vitro*, desarrollado fuera de un organismo vivo. Los métodos *in vitro* empleados en laboratorio suelen comprender el estudio de células en diversas formas o microorganismos en cultivo (49). Esta aproximación experimental permitió realizar análisis precisos y controlados de los efectos de las variables en estudio, característica clave en la investigación realizada.

El estudio se caracterizó como un diseño longitudinal, ya que se recopilaron datos en diferentes momentos a lo largo del tiempo. Esta metodología permitió un análisis inferencial sobre la evolución del problema de investigación a medida que se obtenían

mediciones en distintos lapsos temporales (50). Este enfoque longitudinal facilitó la observación y comprensión de cualquier cambio, desarrollo o progresión en el problema de estudio a lo largo del tiempo, proporcionando una visión más completa y dinámica de la situación.

El estudio también se consideró prospectivo, correspondiendo a lo que se conoce como estudios de cohorte. Este tipo de investigación se centró en un grupo de individuos que comparten características similares o condiciones específicas, similar al enfoque experimental donde las muestras se sometieron a condiciones idénticas para probar su efecto (51). En los estudios prospectivos o de cohorte, se observa a este grupo de individuos a lo largo del tiempo para analizar cómo ciertos factores o exposiciones pueden influir en los resultados o eventos de interés, permitiendo así evaluar relaciones causales y efectos a largo plazo.

### **3.5. Población, muestra y muestreo**

#### **3.5.1 Población**

El concepto de población se refiere al conjunto completo de todos los elementos que serán afectados por los resultados obtenidos en la investigación. En otras palabras, la población abarca al grupo de unidades que comparten una característica específica y para el cual se pueden generalizar los resultados (52).

Con fines de la presente investigación, el conjunto poblacional incluyó a 50 placas de agar con cepas de *Streptococcus mutans*.

### **3.5.2 Criterios de inclusión**

- Placas Petri con cultivos de *Streptococcus mutans* de la misma cepa.
- Placas Petri que tengan cepas de *Streptococcus mutans*, que tengan aptas condiciones para el proyecto de investigación.
- Medios de cultivo agar Müller Hinton esterilizados sin contaminación.
- Cajas Petri estériles y sin fracturas.

### **3.5.3 Criterios de exclusión**

- Placas Petri sin cultivo.
- Placas Petri que no favorecen para la lectura a los halos de inhibición.
- Placas Petri contaminadas y dañadas.

### **3.5.4 Muestreo**

Se define como el proceso mediante el que se selecciona una muestra, la cual se extrae de la población; cabe resaltar que la muestra debe ser estadísticamente representativa del total (53).

Por otra parte, la muestra alude a una parte de la población la cual la represente; por ende, las unidades escogidas al azar dentro de la población deben presentar todas las características de cada unidad poblacional (52).

Con estos fines, se trabajó con una muestra igual a 10 placas Petri con la aplicación de cada uno de los tratamientos de los respectivos componentes de origen vegetal para cada caso: aceite extracto de *Stevia rebaudiana*, aceites esenciales de *Camellia sinensis* y *Origanum vulgare*.

#### **3.5.4.1 Tipo de muestreo**

Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, el cual implicó el estudio de una parte de la población estadística más accesible. Este enfoque de muestreo permitió una selección basada en la conveniencia y la disponibilidad de los elementos de la población, aunque pudo presentar limitaciones en términos de representatividad de la población completa (48).

### 3.6. Variables y operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA VALORATIVA
Efecto antibacteriano	Es la capacidad que esta posee para impedir el crecimiento de microorganismos; está asociado con los compuestos que exterminan bacterias provincialmente o ralentizan su tasa de crecimiento (21).	Diámetro del halo de inhibición	Medida marcada por el calibrador pie de rey	Razón	Milímetros
		Tiempo	Reloj digital (horas, minutos, segundos)	Ordinal	A las 24 horas. A las 48 horas. A las 72 horas.
Compuestos de origen vegetal	Son aquellos derivados a base de plantas, los cuales presentan metabolitos secundarios funcionales relevantes que exhiben una diversidad de propiedades medicinales propiedades antimicrobianas y, además, han demostrado tener beneficios prometedores para la salud bucal, así como el control de la formación de biopelículas (24).	<i>Stevia rebaudiana</i>	Extracto	Nominal	-
		<i>Camellia sinensis</i>	Aceite esencial		
		<i>Origanum vulgare</i>	Aceite esencial		

### **3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1. Técnica**

La investigación se llevó a cabo empleando la técnica de observación en modalidad estructurada, la cual implicó una observación directa y sistemática para recopilar datos e información relevante. En este método, el investigador observó detenidamente el objeto de estudio sin intervenir en su entorno (50).

A continuación, se detalla el procedimiento para la recopilación de datos:

#### **Obtención de los microorganismos**

En primer lugar, se realizó una reactivación de la cepa de interés, en este caso de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; dicho proceso se efectuó en un laboratorio de microbiología especializado, en el cual se mezcló la ampolla que contenía el microorganismo en estado liofilizado y se mezcló durante 5 minutos. En segundo lugar, se llevó a cabo el proceso de sembrado por estriación en un medio de cultivo Agar Sangre de Cordero. Por último, se realizó la incubación en un medio anaeróbico durante un período de 24 horas y a una temperatura de 37°C.

#### **Compuestos de origen vegetal**

Se utilizaron tres componentes vegetales: extracto de *Stevia rebaudiana*, aceites esenciales de *Camellia sinensis* y de *Origanum vulgare*, los cuales que fueron obtenidos de forma comercial.

#### **Paso 1: Método y colutorios orales de prueba**

El método que se aplicó para el análisis de la actividad antibacteriano fue la técnica de Kirby-Bauer: Método de disco de difusión en agar, empleando discos

antibiograma, los cuales estuvieron impregnados con las sustancias de prueba: Extracto de estevia, aceite esencial de orégano y aceite esencial de té verde. El control positivo empleado para el ensayo fue digluconato de clorhexidina al 0,12% y el control negativo empleado fue el agua destilada.

### **Paso 2: Cepa bacteriana para el estudio**

Se trabajó con la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, (American Type Culture Collection).

### **Paso 3: Preparación del agar Mueller Hinton**

Se preparó agar Mueller Hinton con agua destilada según las instrucciones del fabricante y se autoclavó durante 15 minutos a 121°C. Luego, se procedió a atemperar en baño maría a 45°C. Inmediatamente, en esterilidad, se depositó agar en todas las placas Petri a emplear en el ensayo. Se dejó solidificar por 15 minutos las placas con dicho medio de cultivo para posteriormente ser utilizada en el ensayo antibiograma.

### **Paso 4: Reconstitución de la cepa de *Streptococcus mutans***

Se realizó la activación de la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* en medio tioglicolato fluido y fue incubado por 24 horas a 37°C, posteriormente, se estió por agotamiento a placas con Agar Mueller Hinton para obtener colonias aisladas.

### **Preparación del inóculo por *Streptococcus mutans* al 0.5 de McFarland**

Bajo condiciones estériles, se tomó, con asa de siembra, unas porciones de una colonia *Streptococcus mutans* aislada del agar Mueller Hinton y se inoculó a Suero fisiológico al 0,85% (5mL) con el objetivo de obtener una población de bacterias cuyo nivel de turbidez esté conforme al estándar de Sulfato de Bario al 0.5 de McFarland. Para

homogenizar el inóculo en suspensión con *Streptococcus mutans* (en tubo de ensayo), al 0.5 McFarland, se utilizó vortex durante 10 segundos. Luego, para realizar la comparación de la suspensión de *Streptococcus mutans* realizada y el estándar comercial de sulfato de Bario al 0.5 McFarland se empleó una Tarjeta de comparación visual del estándar de turbidez de McFarland (Visual Comparison Card).

#### **Paso 5: Inoculación de las placas de Agar Mueller Hinton con *Streptococcus mutans***

Después de ajustar la suspensión del inóculo, se tomó un hisopo estéril y se introdujo a la suspensión con *Streptococcus mutans* y se procedió a inocular la bacteria en placas Petri que contenían el medio agar Mueller Hinton por diseminación con el hisopo en 2 direcciones. Luego, se procedió a rotular, cada grupo de placas: Extracto de estevia, aceite esencial de té verde y aceite esencial de orégano. El control positivo fue digluconato de clorhexidina al 0,12% y control negativo fue el agua destilada.

#### **Paso 6: Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba**

Se procedió a la colocación de los discos antibiograma, depositando, con pinza estéril, de uno a cinco discos antibiograma, según los halos de inhibición de cada sustancia de prueba visto en la prueba piloto, en las placas de agar Mueller Hinton inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Luego se procedió a trabajar con los grupos de placas ya determinados en los rótulos. Se depositó con micropipeta, en cada disco antibiograma, 15uL de Extracto de estevia, Aceite esencial de té verde, aceite esencial de orégano, digluconato de clorhexidina al 0,12% y agua destilada según se indicó el rotulo de las placas. Para la fase de incubación, se colocaron las placas en la jarra de anaerobiosis, y luego, se colocó en el interior de la jarra una vela prendida para generar condiciones anaeróbicas por la combustión de una vela (generación de CO<sub>2</sub>) y por último se selló la jarra anaeróbica. El primer periodo de 24 horas no se voltearon las placas, con

el objetivo de no derramar las sustancias de prueba hasta su absorción total en el medio de cultivo, y se colocaron a una temperatura de 37°C. Luego de las 24 horas de incubación, si se observan placas Petri que tiene gotas de agua adheridas a la cara interna de la tapa, se seca con papel absorbente estéril, para posterior a las lecturas de halos de inhibición, se pueden volver a incubar hasta las 48 horas, pero en este periodo de tiempo, las placas se colocan de manera invertida. El desarrollo de todo el procedimiento microbiológico del ensayo se realizó dentro de un área de 15 centímetros de radio alrededor de la llama del mechero Bunsen.

### **Paso 7: Lectura de resultados**

Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente a *Streptococcus mutans*

Después de 24 horas de incubación, las placas fueron examinadas y se procedió a la lectura de los diámetros de los halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans*, los cuales fueron medidos con una Regla de Vernier digital, el cual brindó una medida individual de los halos (en milímetros) formados alrededor de cada uno de los discos inoculados con cada una de las sustancias de prueba en las placas con cultivo. Luego de la lectura, se volvieron a incubar todas las placas, puesto que, a las 48 horas, se realizó nuevamente las lecturas; debido a que el objetivo del estudio fue obtener resultados de los halos de inhibición de las sustancias de prueba a base de *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis*, *Origanum vulgare*, digluconato de clorhexidina al 0,12% y agua destilada en los dos periodos de incubación señalados.

### **3.7.2. Descripción de instrumentos**

Se empleó una ficha de recolección de datos diseñada específicamente como instrumento para recopilar los datos de laboratorio necesarios para el estudio. Esta ficha

fue elaborada por el equipo de investigación para capturar de manera precisa y estructurada la información relevante obtenida durante el proceso experimental en el laboratorio.

### **3.7.3. Validación**

El estudio se llevó a cabo utilizando el método del "Juicio de expertos". Este proceso implicó la validación de la ficha diseñada para la recopilación de datos mediante la participación de expertos validadores en el área de investigación pertinente. La validación realizada por estos especialistas permitió evaluar la precisión y consistencia del instrumento utilizado para garantizar su fiabilidad y efectividad en la recolección de datos.

### **3.7.4. Confiabilidad**

Al llevarse a cabo una validación rigurosa y exhaustiva de la ficha utilizada para la recopilación de datos mediante el juicio de expertos, donde se evaluó su precisión, consistencia y fiabilidad, no fue necesario contar con una técnica específica de confiabilidad adicional para este instrumento. La validación realizada por expertos validadores puede asegurar la confiabilidad del instrumento al garantizar su precisión y consistencia en la captura de datos.

## **3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos**

Se realizaron pruebas estadísticas descriptivas (Microsoft Excel 2016) para conocer las características de los grupos de resultados. Luego, se aplicó la estadística inferencial (SPSS, V25), para hacer el análisis de normalidad por Shapiro Wilk y definir

el empleo de estadísticas paramétricas o no paramétricas. Posteriormente, se ejecutó la prueba paramétrica de Análisis de Varianza de un factor (Anova) y la prueba post hoc de Games Howell para conocer si entre los resultados de las sustancias de prueba hay diferencias significativas con respecto a su eficacia antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

El objetivo principal del análisis estadístico fue observar si los compuestos de origen vegetal presentan o no, efecto antibacteriano frente a las cepas evaluadas.

### **3.9. Aspectos éticos**

Se han considerado los principios fundamentales de la investigación, los cuales se fundamentan en el respeto, la benevolencia, la no maleficencia y la justicia. Además, debido a la naturaleza específica de la investigación, se ha seguido los protocolos establecidos por la microbiología clínica y se han aplicado los criterios de bioseguridad recomendados por el laboratorio. Asimismo, se ha prestado especial atención al cumplimiento de los derechos de autor, siguiendo las pautas y normativas proporcionadas por el formato Vancouver (54). Estos lineamientos éticos y técnicos han guiado el desarrollo del estudio, asegurando la integridad en el manejo de la información y el respeto por los estándares de seguridad y ética profesional en la investigación (54).

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 4.1. Resultados

#### 4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados

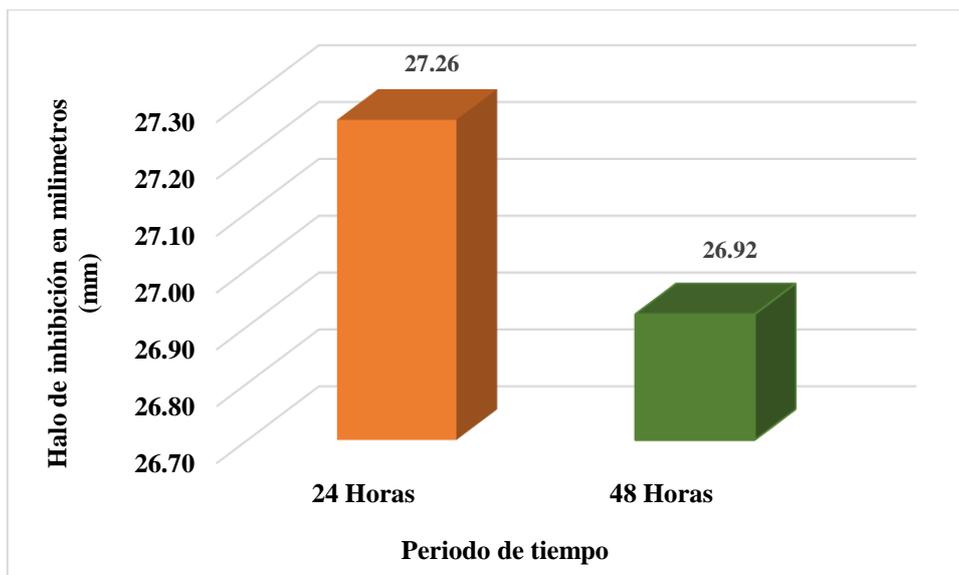
**Tabla 1**

*Efectividad antibacteriana de la sustancia de Digluconato de clorhexidina al 0.12% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*

Periodo de Tiempo	Digluconato de Clorhexidina al 0.12%			
	X (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	27.26	1.76	24.81	30.48
48 horas	26.92	1.74	24.58	30.09

**Gráfico 1**

*Efectividad antibacteriana de la sustancia de Digluconato de clorhexidina al 0.12% sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*



En la tabla 1 se llega a observar que el digluconato de clorhexidina al 0.12 % obtuvo  $27,26 \pm 1,76$  mm de halo de inhibición luego de 24 horas. Asimismo, presentó  $26,92 \pm 1,74$  mm de halo de inhibición a las 48 horas.

En el gráfico 1 se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24 y 48 horas, lo cual significa que el digluconato de clorhexidina cuando está al 0.12 % tiene actividad antimicrobiana ante la *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

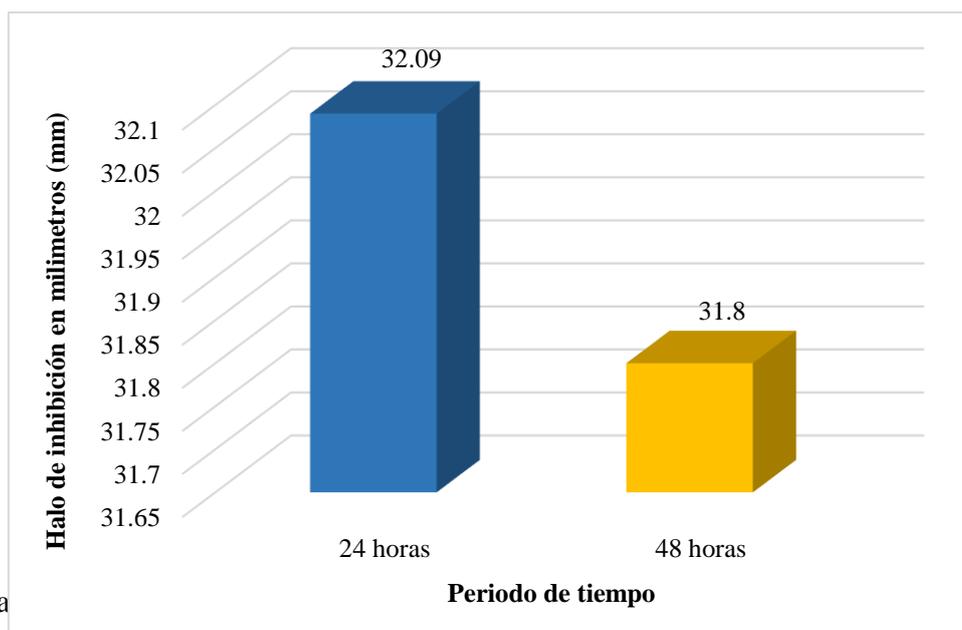
## Tabla 2

*Efectividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*

Periodo de Tiempo	Aceite esencial de orégano ( <i>Origanum vulgare</i> )			
	X (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	32.09	6.94	19.71	39.13
48 horas	31.80	6.96	19.40	38.91

## Gráfico 2

*Efectividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175.*



En la ta (gare)

obtuvo  $32,09 \pm 6,94$  mm de halo de inhibición luego de 24 horas. Asimismo, presentó  $31,80 \pm 6,96$  mm de halo de inhibición a las 48 horas.

En el gráfico 2, se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24 y 48 horas, lo cual significa que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) tiene actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

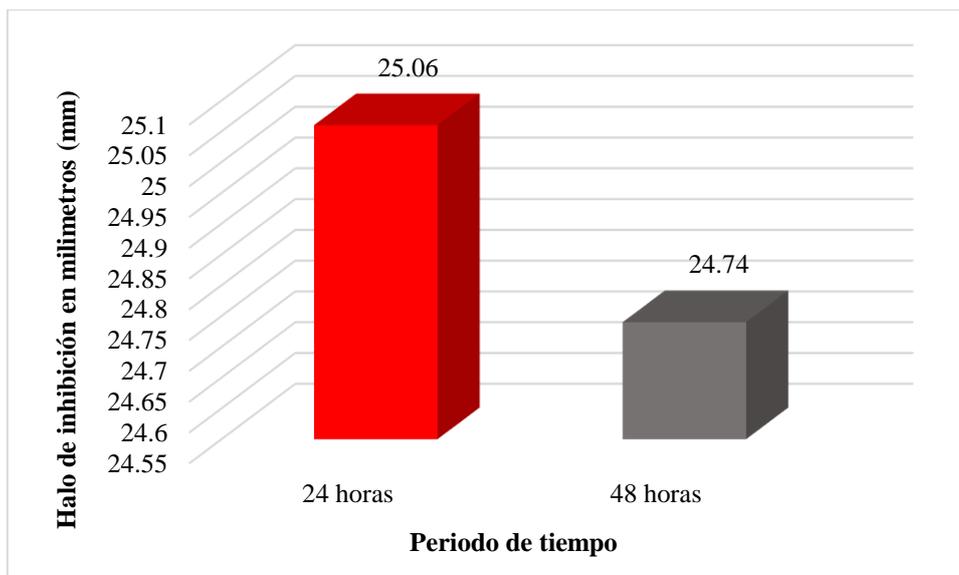
### Tabla 3

Efectividad antibacteriana de aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Periodo de Tiempo	Aceite esencial de té verde ( <i>Camellia sinensis</i> )			
	$\bar{X}$ (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	25,06	7,67	11,98	35,41
48 horas	24,74	7,65	11,67	35,03

### Gráfico 3

Efectividad antibacteriana de aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



En la tabla 3, se llega a observar que el aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) obtuvo  $25,06 \pm 7,67$  mm de halo de inhibición luego de 24 horas. Asimismo, presentó  $24,74 \pm 7,65$  mm de halo de inhibición a las 48 horas.

En el gráfico 3, se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24 y 48 horas, lo cual significa que el aceite esencial de té verde tiene actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### Tabla 4

Efectividad antibacteriana de extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Periodo de Tiempo	Extracto de estevia ( <i>Stevia rebaudiana</i> )			
	X ( $\bar{mm}$ )	DS	Min.	Máx.
24 horas	0	---	0	0
48 horas	0	---	0	0

#### Gráfico 4

Efectividad antibacteriana de extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



En la tabla 4, se llega a observar que el extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) obtuvo 0 mm de halo de inhibición a las 24 horas. Asimismo, presentó 0 mm de halo de inhibición a las 48 horas.

En el gráfico 4, se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24 y 48 horas, lo cual significa que el extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) no tiene actividad antimicrobiana ante el *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

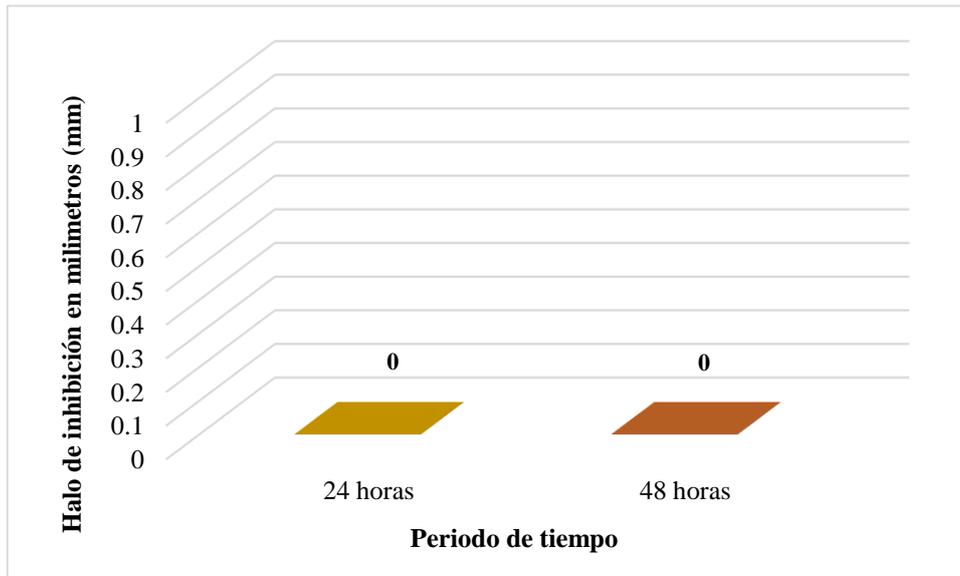
### Tabla 5

*Efectividad antibacteriana de Agua destilada sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*

Periodo de Tiempo	Agua destilada (Control Negativo)			
	$\bar{X}$ (mm)	DS	Min.	Máx.
24 horas	0	---	0	0
48 horas	0	---	0	0

### Gráfico 5

*Efectividad antibacteriana de Agua destilada sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*

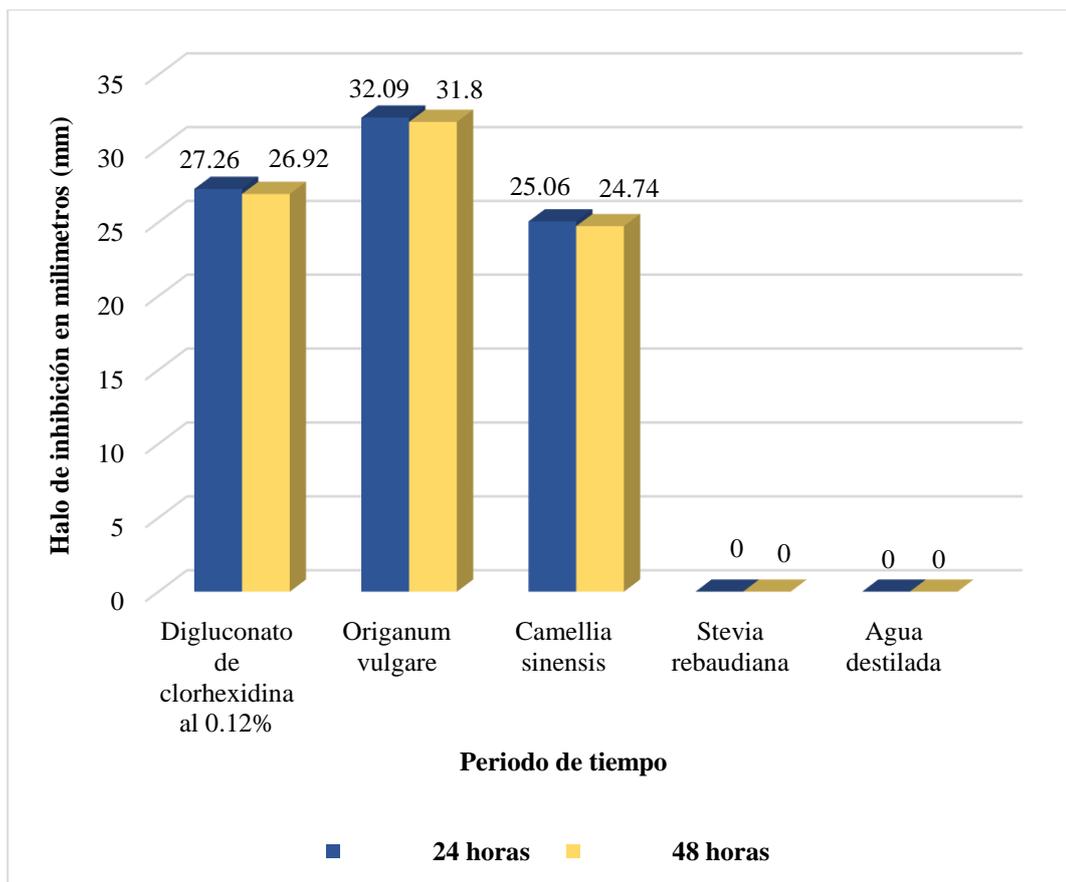


En la tabla 5, se llega a observar que el agua destilada (control negativo) obtuvo 0 mm de halo de inhibición a las 24 horas. Asimismo, presentó 0 mm de halo de inhibición a las 48 horas.

En el gráfico 5, se observa los promedios de halos de inhibición que se obtuvo a las 24 y 48 horas, lo cual significa que el agua destilada (control negativo) no tiene actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*.

### **Gráfico 6**

*Medias de halos de inhibición de las sustancias de prueba y los grupos controles frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar Mueller Hinton*



Según gráfico 6, se puede observar que el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) ha tenido, en promedio, mayor halo de inhibición frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, luego del digluconato de clorhexidina a un 0.12% a las 24 y 48 horas de incubación en agar Mueller Hinton.

**Tabla 6**

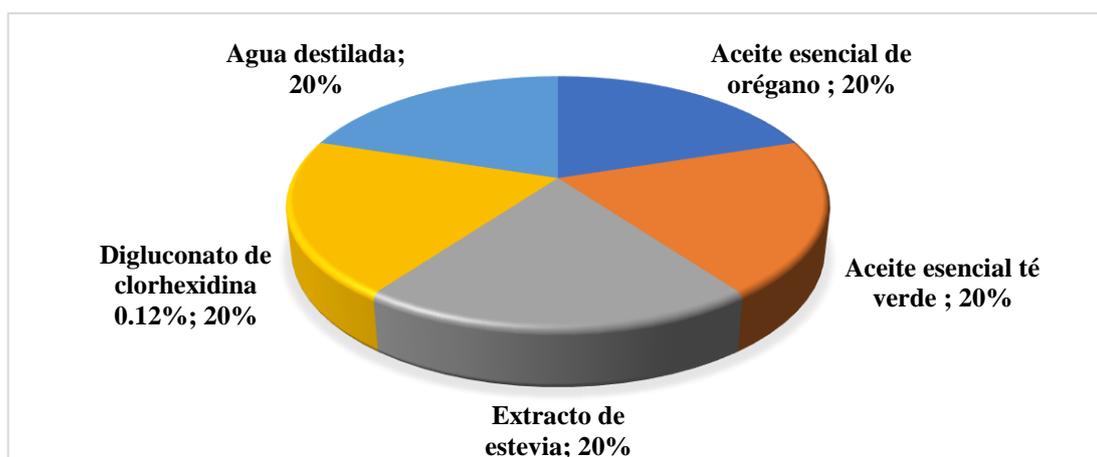
*Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayos in vitro a las 24 y 48 horas*

Grupo de estudio	Frecuencia		Porcentaje
	24 horas	48 horas	
Grupo experimental A: ceite esencial de orégano	10	10	20 %
Grupo experimental B: ceite esencial té verde	10	10	20 %
Grupo experimental C: xtracto de estevia	10	10	20 %

Control positivo: Digluconato de clorhexidina 2%	10	10	20 %
Control negativo: Agu destilada	10	10	20 %
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>50</b>	<b>100%</b>

### Gráfico 7

*Distribución de los grupos de estudio experimental y control de ensayos in vitro a las 24 y 48 horas*



Según tabla 6 y gráfico 7, los grupos de estudio y grupos controles poseen igual cantidad de datos a las 24 y 48 horas. Por lo tanto, cada grupo de datos aporta un 20% de información al presente estudio por periodo de tiempo.

#### 4.1.1.1 Análisis de normalidad de resultados

Este análisis es realizado con el propósito de determinar el análisis estadístico (paramétrico o no paramétrico) que se debe usar en los objetivos de la investigación.

### Tabla 7

*Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk ( $n < 50$ ) de las sustancias de prueba frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 y 48 horas*

Sustancia de prueba	Valor p	
	24 horas	48 horas
Digluconato de clorhexidina al 0,12%	0,907	0,874
Aceite esencial de Orégano	0.137	0,140

Aceite esencial de Té verde	0,711	0,719
-----------------------------	-------	-------

**Nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ )**

De la tabla 7, se infiere que el conjunto de resultados de los halos de inhibición de aquellas sustancias de prueba a las 24 y 48 horas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 muestra un tipo de distribución normal respecto al digluconato de clorhexidina al 0.12% ( $p > 0.05$ ), para el aceite esencial de orégano ( $p > 0.05$ ) y para el aceite esencial de té verde ( $p > 0.05$ ). De lo expuesto, se establece como conclusión que, debido a que hay grupos con distribución normal, es recomendable emplear estadísticos paramétricos para realizar el análisis correspondiente de los resultados como las pruebas de Anova, análisis de homogeneidad de varianzas y prueba post hoc de Games Howell.

**4.1.1.2. Análisis de varianza de un factor (Anova)**

Este análisis fue utilizado para evaluar si existen diferencias significativas entre las distintas sustancias de prueba que si presentaron actividad antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans* en el mismo periodo de tiempo.

**Tabla 8**

*Media y desviación estándar de los halos de inhibición (mm) de las sustancias de prueba frente a Streptococcus mutans ATCC 25175*

Periodo de Tiempo	$\bar{X}$ (mm) $\pm$ DS		Digluconato de clorhexidina al 0,12%	ANOVA	Valor p GAMES HOWELL (*)
	Aceite esencial orégano	Aceite esencia Té verde			

24 horas	32,09 ± 6,94	25,06 ± 7,6	27,26 ± 1,76	<0,05	> 0,05
48 horas	31,80 ± 6,96	24,74 ± 7,6	26,92 ± 1,74		> 0,05

Prueba de homogeneidad de varianzas ( $p < 0,01$ )

(\*) Comparaciones múltiples

De acuerdo con lo expresado en la tabla 8, se observa que no existen diferencias significativas entre las lecturas de Gluconato de Clorhexidina al 0.12%, el aceite esencial de orégano y el aceite esencial té verde a las 24 horas ( $p > 0,05$ ) y ni a las 48 horas ( $p > 0,05$ ), lo cual queda demostrado por las pruebas Anova ( $p < 0,05$ ) y post hoc, de Games Howell.

#### 4.1.2 Prueba de hipótesis

##### Hipótesis general

**Hi:** Existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al *Streptococcus mutans* en un estudio in vitro realizado en Lima - 2023.

**Ho:** No existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al *Streptococcus mutans* en un estudio in vitro realizado en Lima - 2023.

Según gráfico 6, se puede observar que el aceite esencial de orégano y aceite esencial de té verde presentan halos de inhibición mayores que cero, por lo que se puede concluir que lo que tiene estos aceites esenciales de origen vegetal presentan efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in vitro; a excepción del extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) que no presenta actividad antibacteriana.

##### Hipótesis específicas

**Hi<sup>1</sup>:** La *Stevia rebaudiana* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho<sup>1</sup>:** La *Stevia rebaudiana* no presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

Según gráfico 4 y tabla 4, se puede observar que los promedios de los halos de inhibición de estevia (*Stevia rebaudiana*) a las 24 horas (0 mm) y 48 horas (0 mm) no presentan efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

**Hi<sup>2</sup>:** *Camellia sinensis* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho<sup>2</sup>:** *Camellia sinensis* no presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

Según gráfico 3 y tabla 3, se puede observar que los promedios del aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) a las 24 horas (25,06 mm) y 48 horas (24,74 mm) son mayores que cero. Por esto, se comprueba el efecto antibacteriano significativo *in vitro* del aceite de té verde (*Camellia sinensis*) frente a cepas de *Streptococcus mutans*, según los halos de inhibición en 24 y 48 horas.

**Hi<sup>3</sup>:** *Origanum vulgare* presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

**Ho<sup>3</sup>:** *Origanum vulgare* no presenta efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*.

Según gráfico 2 y tabla 2, se puede observar que los promedios del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a las 24 horas (32,09 mm) y 48 horas (31,80 mm), son mayores que cero. Por lo cual, se comprueba el efecto antibacteriano significativo *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Streptococcus mutans*, según halo de inhibición en 24 y 48 horas.

### 4.1.3 Discusión de resultados

La presente investigación de tipo aplicada, método analítico, bajo un enfoque cuantitativo, diseño experimental *in – vitro* y longitudinal de forma prospectiva; tuvo por objetivo general “Determinar el efecto antibacterial de tres compuestos de origen vegetal frente al *Streptococcus mutans*”.

Según lo observado en los resultados, se demostró que existe efecto antibacterial frente a las cepas de *Streptococcus mutans* por parte de dos de los compuestos de origen vegetal evaluados, puesto que los aceites esenciales de orégano y de té verde presentan halos de inhibición mayores que cero, por lo que se puede concluir que estos aceites esenciales de origen vegetal presentan efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*; a excepción del extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) que no presenta actividad antibacteriana. Esto se corrobora estadísticamente al aplicar las pruebas de Anova y post hoc de Games Howell, con las cuales se determinó que no existen diferencias significativas entre las lecturas del control positivo utilizado, Gluconato de Clorhexidina al 0.12 %, y los compuestos vegetales aceite esencial de orégano y el aceite esencial té verde a las 24 horas ( $p>0,05$ ) y ni a las 48 horas ( $p>0,05$ ). Estos hallazgos coinciden con lo determinado por **Valderrama y Bustamante (11)**, quienes concluyeron que ambos compuestos vegetales estudiados manifiestan tener un efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*; sin embargo, en esta investigación no se evaluó el efecto de *Stevia rebaudiana*. Además, para el análisis estadístico Anova presentado por Valderrama y Bustamante (11), a diferencia de la presente tesis, sí se encontraron diferencias significativas en por lo menos uno de los grupos analizados; no obstante, se debe considerar que, para dicha prueba, se tomaron en cuenta otros grupos de evaluación. Por otra parte, en relación con el primero objetivo específico desarrollado en la presente investigación, el cual fue “Determinar el efecto antibacterial de la *Stevia rebaudiana*

frente al *Streptococcus mutans*”, se obtuvo como resultados, según el gráfico 4 y la tabla 4, que los promedios de los halos de inhibición de estevia (*Stevia rebaudiana*) a las 24 horas (0 mm) y 48 horas (0 mm) no presentan efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*; por lo tanto, este compuesto vegetal no posee efecto antibacterial frente a la cepa estudiada. Estos resultados difieren notablemente con lo reportado por estudios como el de **Yovera (14)**, quien obtuvo que el extracto de Stevia produjo un tamaño máximo del halo de inhibición de 8,68mm al 75 % y 9,40mm al 100 % de concentración, demostrando de esta manera su efectividad a las 24 horas de evaluación y 9,01mm al 75 % y 8,48mm al 100 % de concentración a las 48 horas de evaluación. En el estudio de **Demirez et al. (16)**, se determinó que la concentración inhibitoria de *Stevia rebaudiana* era mínima y la concentración bactericida, también. En ambos estudios mencionados, si bien, se encontró un efecto antibacterial mínimo por este compuesto vegetal, a comparación de los resultados del presente trabajo, que denotan un efecto nulo. Esta inconsistencia con los antecedentes mencionados puede deberse a un uso de diferentes concentraciones de estevia, así como una metodología diferente de evaluación, como es el caso de la investigación de Demirez et al. (16), en el cual se determinó la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima, contabilizando el número de microorganismos viables, más no por halos de inhibición.

Asimismo, en lo que respecta al segundo objetivo específico que fue “Determinar el efecto antibacterial de *Camellia sinensis* frente al *Streptococcus mutans*”, se presentan el gráfico 3 y la tabla 3, en los cuales se puede observar que los promedios del aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) a las 24 horas (25,06 mm) y 48 horas (24,74 mm) son mayores que cero. Por esto, se evidencia el efecto antibacterial significativo in vitro del aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) frente a cepas de *Streptococcus mutans*, según los halos de inhibición en 24 y 48 horas. Estos resultados coinciden notablemente

con los hallazgos de **Bashardoust et al. (18)**, quienes encontraron una actividad antibacteriana destacable por parte de *Camellia sinensis* frente a *S. mutans* con halos de inhibición de  $25 \pm 1$  mm. Asimismo, guardan un grado de semejanza, aunque no con exactitud, con la investigación de **Valderrama y Bustamante (11)**, quienes registraron halos de inhibición para el aceite de canela a diferentes concentraciones en promedio con medidas de  $31,10 + 0,31$ mm,  $38,23 + 0,36$ mm y  $42,95 + 0,31$ mm. De manera similar, en el estudio de **Acosta y Armas (12)** se registró el mayor halo de inhibición de *Camellia sinensis* sobre *S. mutans* a una concentración de 30 % luego de un periodo de 24 horas y 48 horas. Mientras que, en comparación con lo demostrado por **Cayo y Cervantes (13)**, los resultados se alejan con dichos hallazgos, ya que estos fueron halos de inhibición de  $6,82 \text{ mm} \pm 0,982 \text{ mm}$  al 20 % de concentración de *Camellia sinensis*, un promedio muy por debajo de lo reportado en los resultados de la presente tesis.

Finalmente, con referencia al tercer objetivo específico que fue “Determinar el efecto antibacteriano de *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus mutans*”, se obtuvieron como resultados al gráfico 2 y tabla 2, donde se puede observar que los promedios del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a las 24 horas (32,09 mm) y 48 horas (31,80 mm), son mayores que cero. Por lo cual, se comprueba el efecto antibacteriano significativo *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de *Streptococcus mutans*, según halo de inhibición en 24 y 48 horas. Estos resultados guardan similitud con lo encontrado por **Valderrama y Bustamante (11)**, quienes encontraron que el aceite de orégano tuvo halos de 32,64 mm con una concentración de 75% y 36,86 mm al 100% de concentración. De manera similar, se acerca a lo presentado por **Carhuas (15)**, quien encontró que los halos de inhibición generados por el efecto antibacteriano del aceite de orégano oscilaban entre los  $20,02 \pm 5,09$  mm.

## **CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

#### **Primero:**

Respecto a los tres compuestos de origen vegetal evaluados, dos presentaron efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans* (*Origanium vulgare* y *Camellia sinensis*) siendo el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) el que obtuvo en promedio un mayor halo de inhibición.

#### **Segundo:**

El extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) no presentó efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans*, ya que sus halos de inhibición tuvieron un diámetro de 0 mm en los dos tiempos evaluados (24 horas y 48 horas).

**Tercero:**

El del aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) sí presenta efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans*, según el diámetro de los halos de inhibición a las 24 horas (25,06 mm) y 48 horas (24,74 mm).

**Cuarto:**

El aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sí presentó efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans*, según el diámetro de los halos de inhibición a las 24 horas (32,09 mm) y 48 horas (31,80 mm).

**5.2. Recomendaciones****Primero:**

En general, se recomienda continuar investigando y evaluando los compuestos de origen vegetal con efectos antibacterianos frente al *Streptococcus mutans*, ya que los resultados expuestos proporcionan una base sólida para futuros estudios y desarrollos en el campo de la salud oral. Además, se sugiere realizar más investigaciones para determinar las concentraciones óptimas, los mecanismos de acción y la seguridad de estos compuestos vegetales, antes de su aplicación en productos dentales a gran escala.

**Segundo:**

Dado que el extracto de estevia no demostró tener efecto antibacterial frente al *Streptococcus mutans* en ninguna de las evaluaciones, se desaconseja su uso como agente antibacterial específico para esta bacteria. Es recomendable explorar otras opciones o compuestos con propiedades antibacterianas probadas para su aplicación en productos destinados a combatir el *Streptococcus mutans*.

**Tercero:**

Con base en los halos de inhibición significativos observados a las 24 y 48 horas, se

recomienda considerar el uso del aceite esencial de té verde como un agente antibacterial frente al *Streptococcus mutans*. Se sugiere evaluar su viabilidad en formulaciones de productos dentales, como enjuagues bucales o geles para el cuidado oral, para aprovechar sus propiedades antibacterianas y promover la salud bucal.

#### **Cuarto:**

Finalmente, basado en los resultados prometedores y el mayor halo de inhibición observado en el estudio, se recomienda considerar el uso del aceite esencial de orégano como un agente antibacterial efectivo contra el *Streptococcus mutans*. Se sugiere explorar su incorporación en formulaciones de productos dentales, como pastas de dientes o enjuagues bucales, para ayudar a combatir esta bacteria y promover una mejor salud oral.

### **REFERENCIAS**

1. AlEraky DM, Madi M, El Tantawi M, AlHumaid J, Fita S, AbdulAzeez S, et al. Predominance of non-*Streptococcus mutans* bacteria in dental biofilm and its relation to caries progression. *Saudi J Biol Sci.* 2021;28(12):7390–5.
2. Montero J, Rosel E, Barrios R, López-Valverde A, Albaladejo A, Bravo M. Oral health-related quality of life in 6- to 12-year-old schoolchildren in Spain. *Int J Paediatr Dent.* 2016;26(3):220–30.
3. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of untreated caries: A systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015;94(5):650–8.
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). Oral health. WHO.int. 2022.
5. Ministerio de Salud (MINSA). El 90.4% de los peruanos tiene caries dental. Gob.pe. 2019.

6. OmerOglou E, Karaca B, Kibar H, Haliscelik O, Kiran F. The role of microbiota-derived postbiotic mediators on biofilm formation and quorum sensing-mediated virulence of *Streptococcus mutans*: A perspective on preventing dental caries. *Microb Pathog.* 2022;164(105390):1–16.
7. Gamboa F, Lamby C, Gómez O, Chaves M, Plazas L, Arévalo A, et al. Aspectos ecológicos orales, conocimiento microbiológico y molecular de microorganismos de importancia en caries dental y periodontitis crónica. In: Roa N, editor. *Experiencias y Resultados de Investigación en Odontología*. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2018. p. 334.
8. Lavaee F, Motaghi D, Jassbi AR, Jafarian H, Ghasemi F, Badiiee P. Antifungal effect of the bark and root extracts of *Punica granatum* on oral *Candida* isolates. *Curr Med Mycol.* 2018;4(4):20–4.
9. Gamboa F, Beltrán L, Plazas L, Lamby C, Gómez O, Bustillo J. Antibacterial activity of extracts from *Stevia rebaudiana* leaves against clinical biotypes of *S. mutans*. *Pharmacologyonline.* 2022;1:53–63.
10. Atazhanova GA, Badekova KZ, Ivasenko SA, Kacergius T, Levaya Y, Kurmantaeva G, et al. Influence of Essential Oils on the Formation of *Streptococcus mutans* Biofilms. *Reaserch J Pharm Technol.* 2022;15(11):1–8.
11. Valderrama Díaz D, Bustamante Gordillo DA. Actividad antibacteriana in vitro de la mezcla de aceites esenciales de *cinnamomum zeylanicum* blume (canela) y *origanum vulgare* l. (orégano) frente a *streptococcus mutans* atcc 25175 [Internet]. Universidad María Auxiliadora; 2022. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/929/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. Acosta J, Armas A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camellia*

- sinensis y propóleo, frente a cepas de *Streptococcus mutans*. *Odontol Sanmarquina*. 2022;25(2):e21298.
13. Cayo Rojas CF, Cervantes Ganoza LA. La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2020;57(1):e2967. Available from: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2967>
  14. Yovera López C. Comparación in Vitro Del Efecto Antimicrobiano De *Stevia Rebaudiana* Bertoni Y Xilitol En Cepas De *Streptococcus Mutans* (Atcc 25175). *Repos Inst - UAP* [Internet]. 2019;1:106. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12990/9353>
  15. Carhuaz Lastra R del P. Comparative evaluation of various herbal extracts on biofilms of *Streptococcus mutans* and *Scardovia wiggisiae*: An in vitro study [Internet]. Universidad de Huánuco; 2018. Available from: [http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/991/T\\_047\\_73856760-Tpdf..pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/991/T_047_73856760-Tpdf..pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  16. Lavaee F, Moqadas A, Modarresi F, Nowrouzi M. The Effect of *Pimpinella Anisum* and *Origanum Vulgare* Extracts Against *Streptococcus Sanguinis*, *Streptococcus Mutans*, and *Streptococcus Salivarius*. *J Dent* [Internet]. 2022;23(2):113–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9206703/pdf/JDS-23-113.pdf>
  17. Bashardoust N, Daryoush S, Ashouri A, Rahimirad P. Anti-bacterial effect of white tea extract on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius*. *J Curr Biomed Reports*. 2022;3(1):27–31.
  18. Demirez Bircan Z, Arslan Ipek S. Comparative evaluation of various herbal extracts on biofilms of *Streptococcus mutans* and *Scardovia wiggisiae*: An in vitro

- study. *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1111/ipd.12929>
19. Kianbakht C, Ansari G, Tabatabaei S, Biria M. Comparison of Antimicrobial Effects of *Stevia Rebaudiana* Extract and Xylitol on Dental Biofilm : An In Vitro Study. *J Dent Sch*. 2020;
  20. Hejazinia F, Fozouni L, Azami NS, Mousavi S. The Anti-Biofilm Activity of *Oregano* Essential Oil Against Dental Plaque-Forming *Streptococcus mutans* In Vitro and In Vivo. *J Kermanshah Univ Med Sci* [Internet]. 2020;24(3). Available from: <https://brieflands.com/articles/jkums-107680.pdf>
  21. Singh V, Kumar R. Anti-microbial resistance : An alarming issue. *Pharma Innov J*. 2022;11(7):3695–8.
  22. Singh K, Mishra A, Sharma D, Singh K. Antiviral and Antimicrobial Potentiality of Nano Drugs. *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery*. Elsevier Inc.; 2018. 343–356 p.
  23. Carrol DH, Chassagne F, Dettweiler M, Quave CL. Antibacterial activity of plant species used for oral health against *Porphyromonas gingivalis*. *PLoS One*. 2020;15:1–22.
  24. Benzaid C, Belmadani A, Tichati L, Djeribi R, Rouabhia M. Effect of citrus aurantium l. Essential oil on streptococcus mutans growth, biofilm formation and virulent genes expression. *Antibiotics*. 2021;10(54):1–13.
  25. Lopez Romero JC, González-Ríos H, Borges A, Simões M. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2015;2015(795435):1–9.

26. Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour Technol.* 2010;101(1):372–8.
27. Lemus Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Kong AH. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* 2012;132(3):1121–32.
28. Ahmad J, Khan I, Blundell R, Azzopardi J, Mahomoodally MF. Stevia rebaudiana Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends Food Sci Technol.* 2020;100:177–89.
29. Koubaa M, Roselló-Soto E, Šic Žlabur J, Režek Jambrak A, Brnčić M, Grimi N, et al. Current and New Insights in the Sustainable and Green Recovery of Nutritionally Valuable Compounds from Stevia rebaudiana Bertoni. *J Agric Food Chem.* 2015;63(31):6835–46.
30. Bursać D, Maras M, Barba F, Granato D, Roohinejad S, Mallikarjunan K, et al. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from Stevia rebaudiana Bertoni leaves: A review. *Food Chem.* 2018;268:513–21.
31. Peteliuk V, Rybchuk L, Bayliak M, Storey K, Lushchak O. Natural sweetener stevia rebaudiana: Functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI J.* 2021;20:1412–30.
32. Myint K, Wu K, Xia Y, Fan Y, Shen J, Zhang P, et al. Polyphenols from Stevia rebaudiana (Bertoni) leaves and their functional properties. *J Food Sci.* 2020;85(2):240–8.
33. Aronson J. Theaceae. In: Meyler's Side Effects of Drugs. The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions; 2016. p. 812.
34. Shenoy A, Buttar H, Dicholkar P, Kaur G, Chintamaneni M. Role of nutraceuticals,

- functional foods, and spices in the management of metabolic syndrome and related disorders. In: *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases*. Elsevier Inc.; 2022. p. 583–601.
35. Shivashankara A, Rao S, George T, Abraham S, Colin MD, Palatty PL, et al. Tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) as Hepatoprotective Agent: A Revisit. In: *Dietary Interventions in Liver Disease: Foods, Nutrients, and Dietary Supplements*. Elsevier; 2019. p. 183–92.
  36. Kumar V, Marković T, Emerald M, Dey A. Herbs: Composition and Dietary Importance. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Ltd.; 2016. p. 332–7.
  37. Oh E, Petersen K, Kris-Etherton P, Rogers C. Role of dietary spices in modulating inflammation and oxidative stress. In: *Current Advances for Development of Functional Foods Modulating Inflammation and Oxidative Stress*. Elsevier; 2022. p. 545–80.
  38. Skoufogianni E, Solomou A, Danalatos N. Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. *Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca*. 2019;47(3):545–52.
  39. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. The biology of streptococcus mutans. *Microbiol Spectr*. 2019;7(1):1–18.
  40. Jakubovics NS. Oral microbiology. 4th ed. *Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier Inc.; 2019. 329–357 p.
  41. Kurita T, Hashizume T, Kobayashi R, Yamamoto M. Mucosal vaccines for oral disease. In: Kiyono H, Pascual D, editors. *Mucosal Vaccines: Innovation for Preventing Infectious Diseases*. Elsevier Inc.; 2019. p. 649–61.
  42. Bedoya-Correa CM, Rincón Rodríguez RJ, Parada-Sanchez MT. Genomic and phenotypic diversity of *Streptococcus mutans*. *J Oral Biosci*. 2019;61(1):22–31.

43. Baker J, Faustoferri R, Quivey R. Acid-adaptive mechanisms of *Streptococcus mutans*—the more we know, the more we don't. *Mol Oral Microbiol.* 2017;32(2):107–17.
44. Nakano K, Ooshima T. Serotype classification of *Streptococcus mutans* and its detection outside the oral cavity. *Futur Med.* 2009;4(7):891–902.
45. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol.* 2010;5(3):403–17.
46. Zhang Q, Ma Q, Wang Y, Wu H, Zou J. Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Int J Oral Sci.* 2021;13(30):1–8.
47. Hernández-Sampieri R, Fernández C, Baptista M. *Metodología de la Investigación.* 6th ed. McGraw-Hill; 2014. 634 p.
48. Dunn PK. *Scientific Research and Methodology: An introduction to quantitative research in science and health.* 2021. 626 p.
49. Kay C, Seladi-Schulman J. *In Vivo vs. In Vitro: What Does It All Mean?* Healthline. 2019.
50. Hernández-Sampieri R, Mendoza C. *Metodología de la investigación: Las rutas Cuantitativa Cualitativa y Mixta.* Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. México; 2018.
51. Dagnino J. Tipos de estudios. *Rev Chil Anest.* 2014;43(2):104–8.
52. Shukla S. Concept of population and sample. In: *How to Write a Research Paper?* 2020. p. 1–7.
53. Majid U. *Research Fundamentals : Study Design , Population , and Sample Size.* URNCST J. 2018;2(1):1–7.
54. Fleming J, Zegwaard K. Methodologies, methods and ethical considerations for

conducting research in work-integrated learning. *Int J Work Learn.*  
2018;19(3):205–13.

## **ANEXOS**

**Anexo 1: Matriz de consistencia**

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p><b>Problema general</b></p> <p>¿Cuál es el efecto antibacterial de tres compuestos de origen vegetal frente al <i>Streptococcus mutans</i> estudio <i>in vitro</i>, Lima- 2023?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ¿Cuál es el efecto antibacterial de la <i>Stevia rebaudiana</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i>?</li> <li>- ¿Cuál es el efecto antibacterial de <i>Camellia sinensis</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i>?</li> <li>- c) ¿Cuál es el efecto antibacterial de <i>Origanum vulgare</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i>?</li> </ul>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Determinar el efecto antibacterial de tres compuestos de origen vegetal frente al <i>Streptococcus mutans</i> estudio <i>in vitro</i>, Lima- 2023.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Determinar el efecto antibacterial de la <i>Stevia rebaudiana</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i></li> <li>- Determinar el efecto antibacterial de <i>Camellia sinensis</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i></li> <li>- Determinar el efecto antibacterial de <i>Origanum vulgare</i> frente al <i>Streptococcus mutans</i></li> </ul>	<p><b>Hipótesis general</b></p> <p><b>Ha:</b> Existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al <i>Streptococcus mutans</i> en un estudio <i>in vitro</i> realizado en Lima - 2023.</p> <p><b>Ho:</b> No existe un efecto antibacterial de los tres compuestos de origen vegetal frente al <i>Streptococcus mutans</i> en un estudio <i>in vitro</i> realizado en Lima - 2023.</p> <p><b>Hipótesis específicas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Hi<sup>1</sup>:</b> La <i>Stevia rebaudiana</i> presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>- <b>Ho:</b> La <i>Stevia rebaudiana</i> no presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>- <b>Hi<sup>2</sup>:</b> <i>Camellia sinensis</i> presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li> <li>- <b>Ho:</b> <i>Camellia sinensis</i> no presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li> </ul>	<p><b>Variable dependiente:</b> Efecto antibacterial</p> <p><b>Dimensiones:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Diámetro del halo de inhibición</li> <li>- Tiempo</li> </ul> <p><b>Variable independiente:</b> Compuestos de origen vegetal</p> <p><b>Dimensiones:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-<i>Stevia rebaudiana</i></li> <li>-<i>Camellia sinensis</i></li> <li>-<i>Origanum vulgare</i></li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Aplicada</p> <p><b>Método:</b> Analítico</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental</p> <p><b>Población y muestra</b></p> <p><b>Población:</b> 50 placas Petri</p> <p><b>Muestra:</b> 10 placas Petri para cada tratamiento</p>

		<ul style="list-style-type: none"><li>- <b>Hi<sup>3</sup>:</b> <i>Origanum vulgare</i> presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li><li>- <b>Ho:</b> <i>Origanum vulgare</i> no presenta efecto antibacteriano frente al <i>Streptococcus mutans</i>.</li></ul>		
--	--	--	--	--







## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Dra. Villacorta Molina, Mariela Antonieta.
- 1.2 Cargo e Institución donde labora: **DOCENTE TIEMPO COMOLETO UNIVERSIDAD WIENER**
- 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos.

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

**1.1 Apellidos y Nombres del Experto:** Mg. Esp. C.D. Yuliana Esther, Huamani Caquiamarca.

**1.2 Cargo e Institución donde labora:**

**1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación:** Ficha de recolección de datos.

**Anexo 4:** Constancia de exoneración de revisión

**CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN**

Lima, 08 de mayo de 2023.

Investigador(a)  
Luz Delia Mamani Turpo  
Exp. N°: 0513-2023

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEI-UPNW) acuerda la **Exoneración de revisión** del siguiente protocolo de estudio:

- Protocolo titulado: “EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA STEVIA REBAUDIANA, CAMELLIA SINENSIS Y ORIGANUM VULGARE FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, ESTUDIO IN VITRO” **Versión (1)** con fecha **(29/03/2023)**

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Luz Delia Mamani Turpo.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,



Yenny Marisol Bellido Fuentes  
**Presidenta del CIEI- UPNW**

Avenida Arequipa 440  
Universidad Privada Norbert Wiener  
Teléfono: 706-5555 anexo 3286-3287 Cel. **981000698**  
Correo: [comite.etica@uwieneredu.pe](mailto:comite.etica@uwieneredu.pe)

**Anexo 5:** Constancia de recolección de datos

**Anexo 6:** Ficha técnica de Standard de McFARLAND 0.5 Sulfato de bario



# McFARLAND BARIUM SULPHATE STANDARD

Standard di torbidità per la preparazione di sospensioni di microrganismi.  
Turbidity standard for preparing suspensions of microorganisms.

## DESCRIZIONE

Gli standard McFarland vengono utilizzati come standard di torbidità nella preparazione delle sospensioni di microrganismi ed in particolare modo nella preparazione degli inoculi batterici per l'esecuzione dell'antibiogramma.

## PRINCIPIO

Gli standard di torbidità sono composti da sostanze chimiche che miscelate precipitano formando una soluzione di riproducibile torbidità.  
Gli standard McFarland vengono preparati aggiungendo acido solforico ad una soluzione acquosa di cloruro di bario.  
La miscela porta alla formazione di precipitato di solfato di bario.  
Per ciascun standard McFarland in tabella 1 è riportata la densità corrispondente espressa in cellule/ml. La concentrazione batterica dipende dalla dimensione dei microrganismi. I valori riportati nella tabella 1 rappresentano valori medi di concentrazione validi per i batteri. Per i lieviti, che hanno dimensioni maggiori, bisogna dividere gli stessi numeri per 30.

## PROCEDURA

Prima dell'uso, agitare vigorosamente lo standard di torbidità, utilizzando un vortex meccanico.  
Comparare la torbidità di una sospensione batterica preparata alla torbidità dello standard, in presenza di una luce adeguata.  
Alternativamente, utilizzare lo standard di torbidità per calibrare un turbidimetro elettrometrico.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'utilizzo degli standard McFarland consente la preparazione di inoculi standardizzati da utilizzare nelle procedure per l'esecuzione dell'antibiogramma.

## DESCRIPTION

McFarland standards are used as turbidity standards in the preparation of suspensions of microorganisms and has particular application in the preparation of bacterial inocula for performing antimicrobial susceptibility testing.

## PRINCIPLE

Turbidity standards are prepared by mixing chemicals that precipitate to form a solution of reproducible turbidity.  
McFarland standards are prepared by adding sulphuric acid to an aqueous solution of barium chloride, which results in the formation of a suspended barium sulphate precipitate.  
For each McFarland standard in table 1 is reported the correspondent density expressed in cells/ml. Bacterial concentration depends on microorganisms size. The mentioned values in table 1 represent average values of concentration valid for bacteria. For yeast, which are larger in size, these numbers should be divided by about 30.

## PROCEDURE

Vigorously agitate the turbidity standard on a mechanical vortex mixer just before use.  
Using adequate light, compare the turbidity of a bacterial suspension to the turbidity standard.  
Alternatively, use the turbidity standard to calibrate a electrometric turbidimeter.

## RESULTS INTERPRETATION

McFarland standards will enable the preparation of standardized inocula for use in the performance of standardized antimicrobial susceptibility testing procedures.

Tabella / Table 1.

McFarland Standard	Densità (cellule/ml) / Density (cells/ml)
0.5	1.5 x 10 <sup>8</sup>
1.0	3.0 x 10 <sup>8</sup>
2.0	6.0 x 10 <sup>8</sup>
3.0	9.0 x 10 <sup>8</sup>
4.0	12.0 x 10 <sup>8</sup>

## BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Mc Farland, 1907. J.Am.Med.Assoc.49:1176.
2. Patricia M. Tille, 2014. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13<sup>th</sup> edition by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.
3. CLSI M7-A9, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.
4. CLSI M11-A7, 2007. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria.

## PRESENTAZIONE / PRESENTATION

Prodotto / Product	REF	
McFARLAND 0.5 BARIUM SULPHATE STANDARD	80400	1
McFARLAND 1.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80401	1
McFARLAND 2.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80402	1
McFARLAND 3.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80403	1
McFARLAND 4.0 BARIUM SULPHATE STANDARD	80404	1
McFARLAND STANDARD SET (McFARLAND 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0)	80405	5

## TABELLA DEI SIMBOLI / TABLE OF SYMBOLS

<b>LOT</b> Codice del lotto Batch Code	<b>Σ</b> Contenuto sufficiente per <n> saggi Content sufficient for <n> tests	<b>F</b> Fabbricante Manufacturer	<b>X</b> Non riutilizzare Do not reuse
<b>REF</b> Numero di catalogo Catalogue Number	<b>A</b> Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Attention, see instructions for use	<b>F</b> Fragile, maneggiare con cura Fragile, handle with care	



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY  
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

Rev.3 / 10.01.2014

Anexo 7: Certificado de *Streptococcus mutans*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

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

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	<b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*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 8:** Informe de ensayo microbiológico



### **INFORME DE ENSAYO Nº SQ230506.01**

SOLICITUD DE ENSAYO	: SQE 230417.01
SOLICITANTE	: MAMANI TURPO, LUZ DELIA
DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE	: No indica
PROCEDENCIA DE LA MUESTRA	: Proveniente por el cliente (!)



## INFORME DE ENSAYO N° SQ230506.01

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Streptococcus Mutans</i> ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Mueller Hinton				
	M1: Digluconato de clorhexidina al 0,12%	M2: Aceite esencial de orégano	M3: Aceite esencial de té verde	M4: Extracto de Stevia	M5: Agua destilada
1	24.58	28.74	15.38	0	0
2	25.04	38.91	11.67	0	0
3	25.81	37.84	31.01	0	0
4	25.94	30.85	35.03	0	0
5	27.42	19.4	31.78	0	0
6	26.96	38.61	18.07	0	0
7	28.81	37.24	22.94	0	0
8	26.32	21.42	29.18	0	0
9	30.09	32.05	27.1	0	0
10	28.24	32.89	25.21	0	0



### MÉTODOS DE ENSAYO

ENSAYOS	NORMA DE REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	Técnica de Kirby-Bauer. Método de disco de difusión en agar.

### OBSERVACIONES:

(1): Los resultados se aplican a la muestra tal como se recibió en el laboratorio.



*[Firma]*  
Mblgo. Oniel Elias Juarez Vilcapuma  
Gerente de Laboratorio  
C.B.P.14090

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

## Anexo 9: Constancia de eliminación de residuos biológicos

## CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis “EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA STEVIA REBAUDIANA, CAMELLIA SINENSIS Y ORIGANUM VULGARE FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, ESTUDIO *IN VITRO*” como indica nuestro Instructivo de Bioseguridad y eliminación de residuos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables. Ambos serán colocados, por separado, en bolsas de riesgo biológico y se colocarán en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos.

Luego del proceso de autoclavado, los materiales de vidrio se lavarán y pasarán controles de calidad para ser reutilizados. Con respecto al material descartable, al haber sido **minimizado, tratado, eliminando el riesgo significativo**; se realiza su **disposición final** como residuo sólido municipal según Ley N° 27314., Ley General de Residuos Sólidos. Título IV. Artículo 27, inciso 2, el cual dice:



*“27.2 La prestación de servicios de residuos sólidos por pequeñas y microempresas estará restringida a los residuos del ámbito de la gestión municipal, conforme a las disposiciones reglamentarias que al efecto se dicten para promover su participación”.*

Lima, 08 de mayo del 2023



  
Mblgo. Oriel Elias Juarez Vilcapuma  
Gerente de Laboratorio  
C.B.P. 14090

NOMBRE DEL TRABAJO

**Tesis**

AUTOR

**Luz Mamani**

RECUENTO DE PALABRAS

**11628 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**63699 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**56 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**194.6KB**

FECHA DE ENTREGA

**Jun 16, 2023 10:52 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Jun 16, 2023 10:53 PM GMT-5**

● **11% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 11% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



Universidad  
Norbert Wiener

**Facultad de Ciencias de la Salud**

**Escuela Académico Profesional de Odontología**

Tesis

“EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *STEVIA REBAUDIANA*, *CAMELLIA  
SINENSIS* Y *ORIGANUM VULGARE* FRENTE AL *STREPTOCOCCUS  
MUTANS*, ESTUDIO *IN VITRO*”

Para optar el título profesional de Cirujano Dentista

Presentado por:

**AUTOR:** LUZ DELIA MAMANI TURPO.

Lima, Perú

2023

**Anexo 11:** Informe del asesor



 Universidad Norbert Wiener	<b>INFORME DEL ASESOR</b>		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-014	VERSIÓN: 02 REVISIÓN: 02	FECHA: 13/05/2020



Lima, 29 de junio del 2023

Dra. Esp. Brenda Vergara Pinto

Directora de la EAP de Odontología Universidad Privada Norbert Wiener  
Presente.-

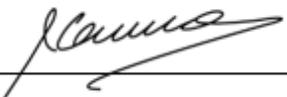
De mi especial consideración:

Es grato expresarle un cordial saludo y como Asesor de tesis titulada: **"EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA STEVIA REBAUDIANA, CAMELLIA SINENSIS Y ORIGANUM VULGARE FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, ESTUDIO IN VITRO"**, desarrollada por la egresada Luz Delia Mamani Turpo; para la obtención del Título Profesional de Cirujano dentista; ha sido concluida satisfactoriamente.

Al respecto informo que se lograron los siguientes objetivos:

- Orientar la investigación para lograr los objetivos de la misma.
- Revisar el informe final en sus resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones.
- Aprobar la tesis para su sustentación.

Atentamente,



Firma de la asesora

Mg. Esp. CD. Lesly Johanna Chilón  
Minaya

## Anexo 12: Colección de fotografías



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO IN VITRO"

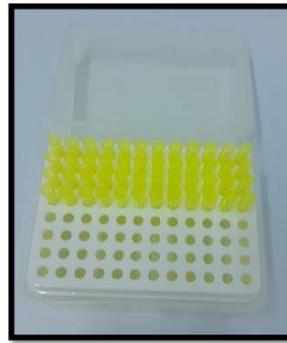


TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"

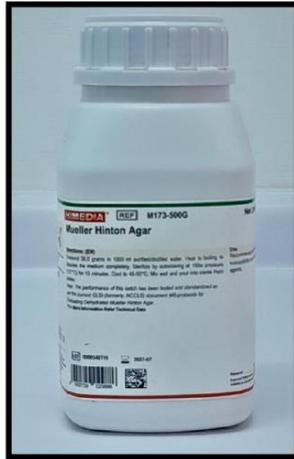
**VORTEX**



**CAJA CON TIPS PARA MICROPIPETA**



**2. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS**



**Agar Mueller Hinton**



**Cloruro de sodio**

REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



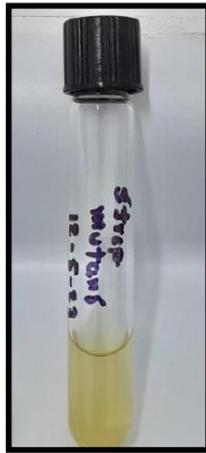
TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"



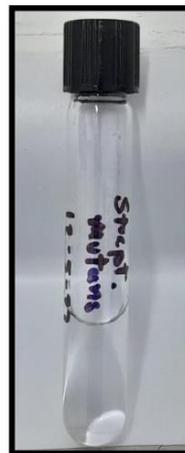
Medio Tioglicolato fluido

3. CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA

CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Medio tioglicolato fluido



Suero fisiológico al 0,85%

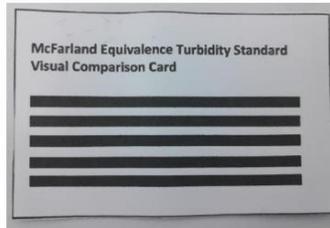
REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

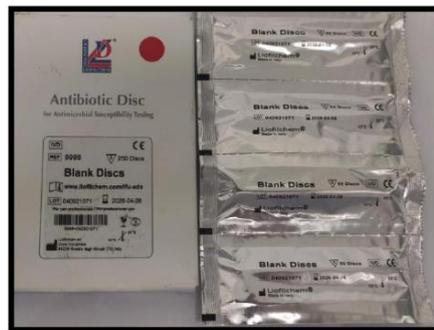


TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"

Tarjeta de comparación visual para el estándar de turbidez McFarland



Discos en blanco antibiograma



Diguconato de Clorhexidina al 0.12%. Marca "Mucoxidina"



Aceite esencial de te verde.

REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"



Estándar de Sulfato Bario al 0.5 de McFarland



Aceite esencial de orégano



Extracto de estevia



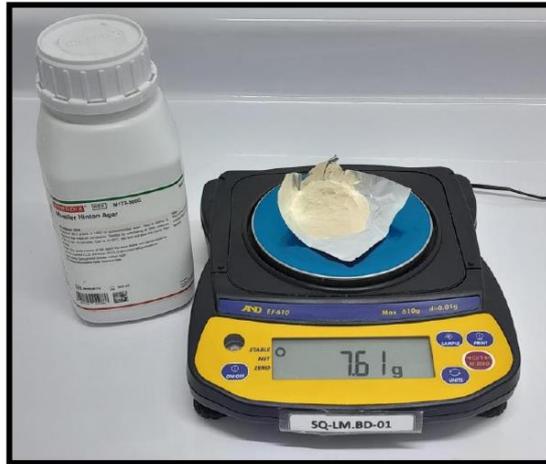
Agua destilada

REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

#### 4. PREPARACION DEL AGAR MUELLER HINTON:

##### PESAJE DEL AGAR MUELLER HINTON



Luego, el frasco de agar Mueller Hinton (Color ámbar) se esteriliza por autoclave y se estabiliza la temperatura de este agar a 45°C en baño termostático antes de su traslado a las placas Petri.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO IN VITRO"

5. Traslado del agar Mueller Hinton (Frasco con medio color ámbar), en esterilidad, a las placas Petri estériles (mechero de bunsen encendido)



6. Preparación del patrón 0,5 de McFarland a partir de cultivo, en agar Mueller Hinton, de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Comparación con el estándar comercial.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

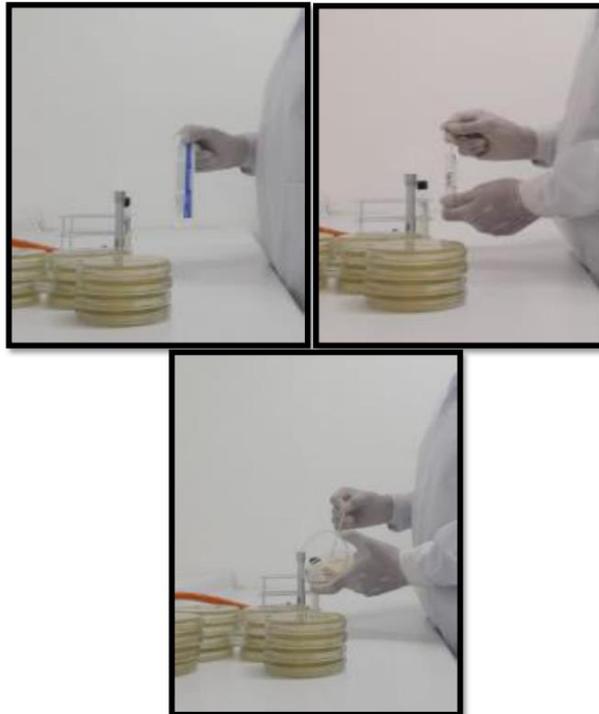
No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"



7. Inoculación con hisopo estéril de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las placas de agar Mueller Hinton.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO *IN VITRO*"

- Colocación con pinza estéril de los discos antibiograma en blanco en las placas de agar Mueller Hinton cultivadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



- Procedimiento de inoculación de 15ul de las sustancias de prueba: Digluconato de clorhexidina al 0.12%, aceite esencial de orégano, aceite esencial de té verde, extracto de estevia y agua destilada con micropipeta, en esterilidad, frente al mechero de bunsen

Inoculación a los discos antibiograma de digluconato de clorhexidina al 0,12%



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

**Inoculación a los discos antibiograma con aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*)**



**Inoculación a los discos antibiograma con extracto de estevia**



**Inoculación a los discos antibiograma con aceite esencial de orégano**



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO IN VITRO"

7. Colocación de las placas Petri de agar Mueller Hinton inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 conteniendo los discos antibiograma con las sustancias de prueba en la jarra de anaerobiosis.



La combustión de la vela genera Dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), lo cual genera un ambiente anaerobio al interior de la jarra, necesario para el desarrollo de *Streptococcus mutans*.

8. Colocación de la Jarra de anaerobiosis con los cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en la incubadora a  $37^\circ\text{C}$  por los periodos de tiempo de 24 y 48 horas.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

#### 9. RESULTADOS

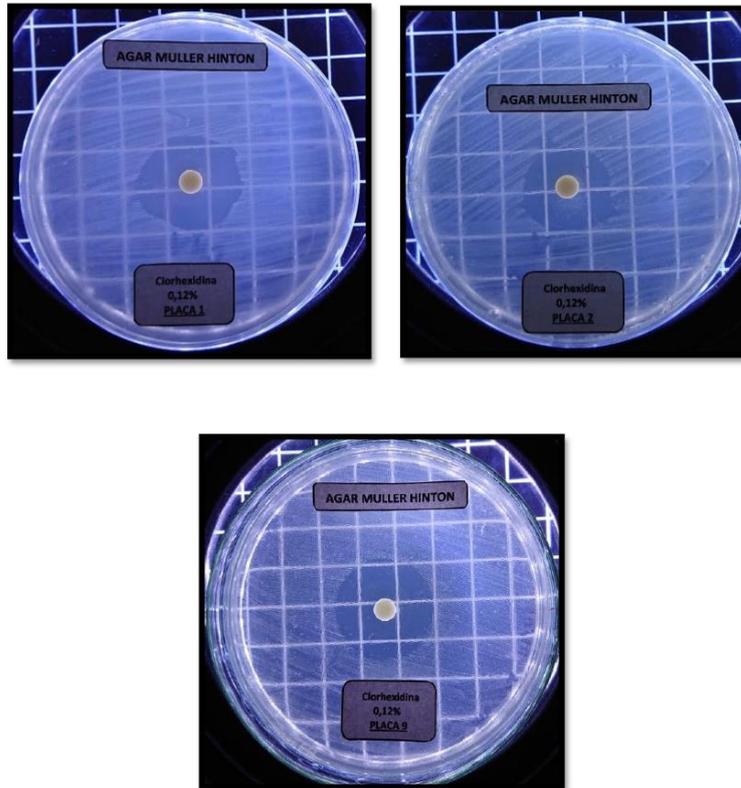
Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan del equipo y se miden con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las sustancias de prueba frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

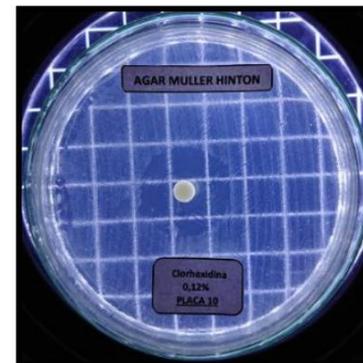
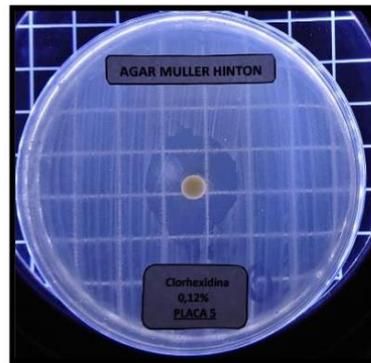
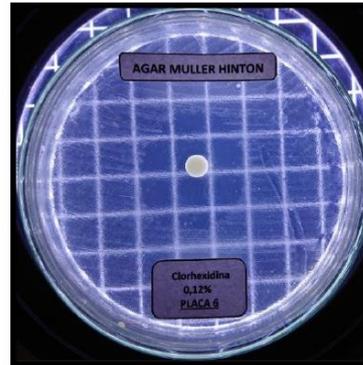
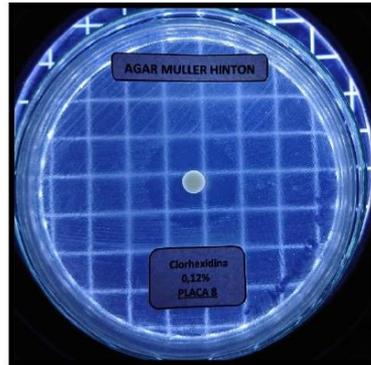
No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

**8.5 Fotos de placa Petri con discos antibiograma inoculados con Diguconato de clorhexidina (Control positivo) al 0.12% a las 48 horas**



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

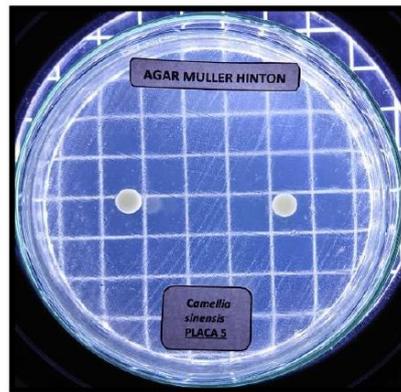
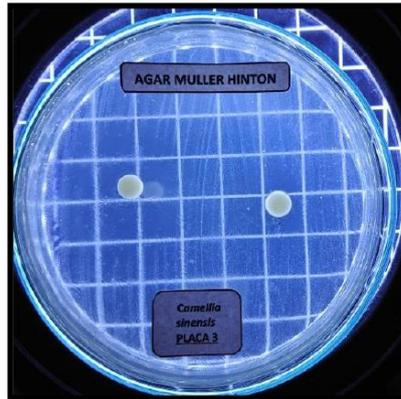
No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

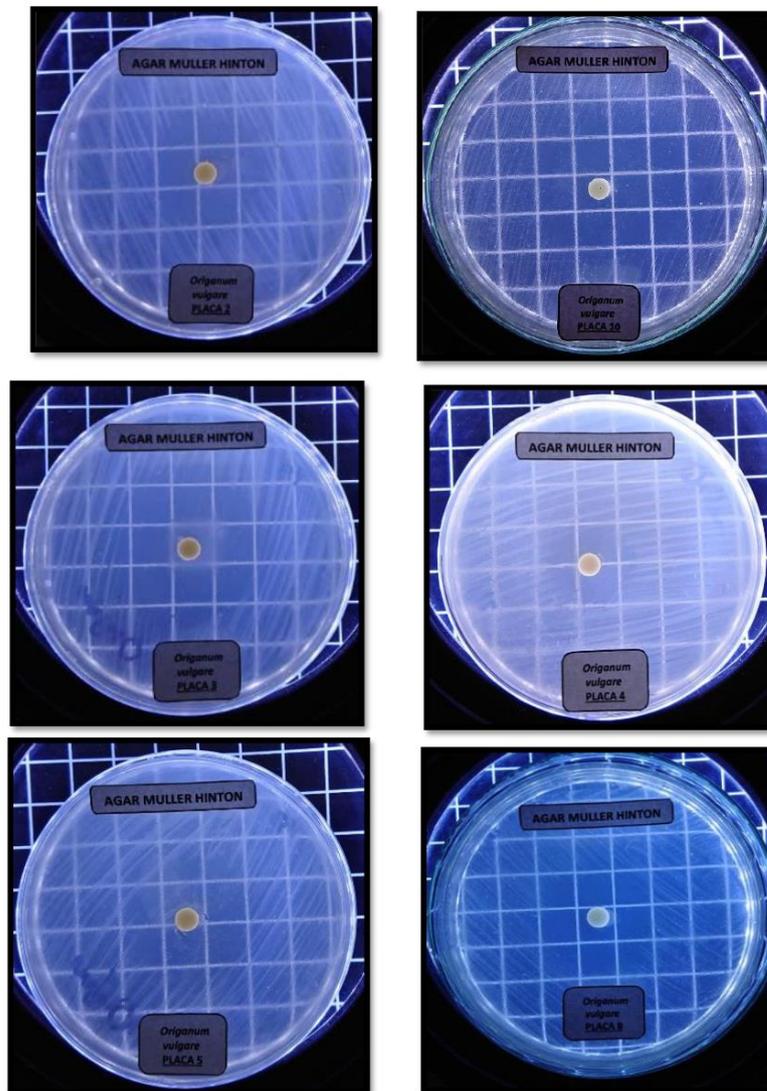
**8.6 Fotos de placa Petri con discos antibiograma inoculados con Aceite esencial de té verde (*Camellia sinensis*) a las 48 horas**



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

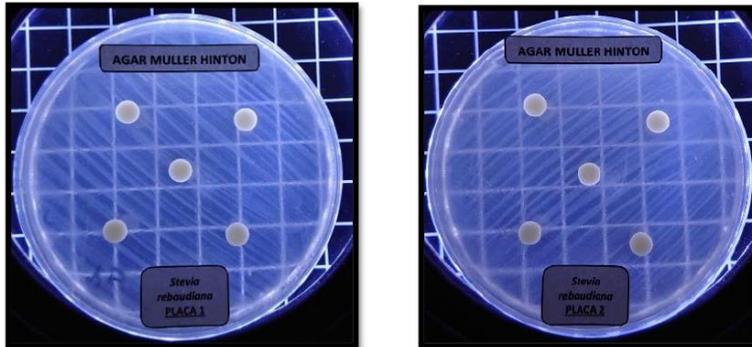
**8.9 Fotos de placas Petri con discos antibiograma inoculados con Aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) a las 48 horas**



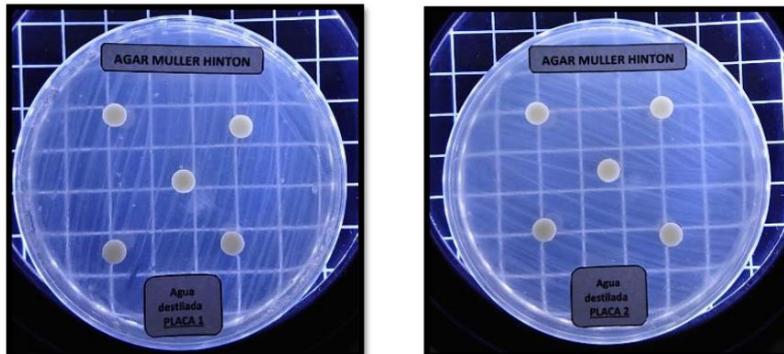
REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

**8.10 Fotos de placas Petri con discos antibiograma inoculados con Extracto de estevia (*Stevia rebaudiana*) a las 48 horas**



**8.11 Fotos de placas Petri con discos antibiograma inoculados con Agua destilada (Control negativo) a las 48 horas**



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIAL DE LA *Stevia rebaudiana*, *Camellia sinensis* Y *Origanum vulgare* FRENTE AL *Streptococcus mutans*, ESTUDIO IN VITRO"

#### 10. ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS BIOLÓGICOS DEL ENSAYO.

Las placas Petri y otros residuos biológicos se colocaron en bolsas rojas y se autoclavaron según procedimiento.



REVISADO POR: MBLGO. ONIEL ELÍAS JUAREZ VILCAPUMA

No se pueden manipular fotos, ni textos sin permiso de SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

## ● 11% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 11% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	<b>repositorio.uwiener.edu.pe</b>	Internet	4%
2	<b>repositorio.uma.edu.pe</b>	Internet	<1%
3	<b>1library.co</b>	Internet	<1%
4	<b>repositorio.uladech.edu.pe</b>	Internet	<1%
5	<b>hdl.handle.net</b>	Internet	<1%
6	<b>dspace.unitru.edu.pe</b>	Internet	<1%
7	<b>repositorio.udh.edu.pe</b>	Internet	<1%
8	<b>researchgate.net</b>	Internet	<1%