



**Universidad
Norbert Wiener**

Powered by **Arizona State University**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA ACADÉMICO DE ODONTOLOGÍA**

Tesis

Efecto antibacteriano del extracto de las semillas del citrus aurantifolia swingle
(limon sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans

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

Presentado por:

Autora: Arellano Brandán, Ruilita Adeli


Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-3234-0616>

Asesor: Mg. Enciso Lacunza, Jorge Antonio

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5053-2791>

Lima – Perú

2025

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

Yo,; Ruilita Adeli Arellano Brandan.

Egresado de la Facultad de Ciencia de la Salud y Escuela Académica Profesional de Odontología / Escuela de Posgrado de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “): EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS DEL CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE (LIMON SUTIL) A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ” Asesorado por el docente: Mg. CD. Enciso Lacunza, Jorge Antonio DNI 42449549 ORCID 0000-0001-5053-2791

tiene un índice de similitud de (15) % con código 14912:373718026 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.

Ruilita

.....
 Firma de autor 1
 Nombres y apellidos del Egresado:
 Ruilita Adeli Arellano Brandan
 DNI: 47580838

.....
 Firma de autor 2
 Nombres y apellidos del Egresado
 DNI:

.....
 Firma
 Nombres y apellidos del Asesor:
 Enciso Lacunza, Jorge Antonio
 DNI: 42449549

Lima, 20 de Agosto de 2024

Dedicatoria

Agradezco a mis padres por el apoyo y amor que me han brindado a lo largo de todos los años de mi carrera universitaria; su respaldo fue esencial para alcanzar la culminación de esta etapa. Expreso mi gratitud a mi familia y profesores, a quienes reconozco como los actores clave en este trayecto, contribuyendo de manera fundamental para alcanzar la meta que me había propuesto.

Agradecimiento

Expreso mi agradecimiento eterno a mis padres, ya que sin su respaldo no habría podido completar este extenso recorrido. Aprecio sus ánimos y consejos en los momentos en que más necesitaba apoyo.

Agradezco a mi familia por su constancia y respaldo constante. También reconozco y agradezco a los profesores que desempeñaron un papel esencial en mi desarrollo profesional.

Índice general

| | |
|--|-----------|
| Dedicatoria | iv |
| Agradecimiento | v |
| Índice general | vi |
| Índice de tablas | viii |
| Índice de figuras..... | ix |
| Resumen..... | ix |
| Abstract..... | xii |
| Introducción..... | xiii |
| CAPÍTULO I: EL PROBLEMA..... | 1 |
| 1.1 Planteamiento del problema..... | 1 |
| 1.2 Formulación del problema..... | 2 |
| 1.2.2 Problemas específicos..... | 2 |
| 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..... | 3 |
| 1.4.1 Teórica..... | 3 |
| 1.4.2 Metodológica..... | 3 |
| 1.4.3 Práctica..... | 4 |
| 1.5 Limitaciones de la investigación..... | 4 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO..... | 5 |
| 2.1 Antecedentes de la investigación..... | 5 |
| 2.2 Bases teóricas..... | 9 |
| 2.3 Formulación de hipótesis..... | 14 |
| 2.3.1 Hipótesis general..... | 14 |
| 2.3.2 Hipótesis específica..... | 15 |
| CAPÍTULO III:METODOLOGÍA..... | 16 |
| 3.1 Método de la investigación..... | 16 |
| 3.2 Enfoque de la investigación..... | 16 |
| 3.3 tipo de investigación..... | 16 |
| 3.4 Diseño de investigación..... | 17 |
| 3.5 Población, muestra y muestreo..... | 17 |

| | |
|---|-----|
| 3.5.1 Población..... | 17 |
| 3.5.2 Criterios de inclusión..... | 17 |
| 3.5.3 Criterios de exclusión..... | 17 |
| 3.5.4 Muestra..... | 18 |
| 3.5.5 Muestreo..... | 18 |
| 3.6 Variables y operacionalización..... | 19 |
| 3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos..... | 20 |
| 3.7.1 Técnica..... | 20 |
| 3.7.2 Descripción de instrumentos..... | 21 |
| 3.7.3 Validación..... | 21 |
| 3.7.4 Confiabilidad..... | 21 |
| 3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos..... | 22 |
| 3.9 Aspectos éticos..... | 22 |
| CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS..... | 23 |
| 4.1 Resultados..... | 23 |
| 4.1.1 Análisis descriptivo de los resultados..... | 23 |
| 4.1.2 Prueba de hipótesis..... | 30 |
| 4.2 Discusión de resultados..... | 33 |
| CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 36 |
| REFERENCIAS..... | 38 |
| Anexo 1: Matriz de consistencia | 496 |
| Anexo 2: Instrumento de recolección de datos | 48 |
| Anexo 3: Validación del instrumento | 52 |
| Anexo 4: Confiabilidad del instrumento | 55 |
| Anexo 5: Constancia de exoneración del Comité de Ética | 56 |
| Anexo 6: Informe del asesor | |
| Anexo 7:Informe de turnitin | 57 |
| Anexo 8: Prueba de normalidad | 59 |
| Anexo 9: Base de datos | 61 |
| Anexo 10: Fotografías | 63 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas. | 25 |
| Tabla 2. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> (n=10) frente a <i>Streptococcus mutans</i> a las 48 horas. | 27 |
| Tabla 3. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> comparado a las 72 horas. | 29 |
| Tabla 4. Prueba Kruskal Wallis y U de Mann Whitney en las comparaciones múltiples de los efectos antibacterianos de las concentraciones de <i>Citrus aurantifolia</i> . | 31 |
| Tabla 5. Prueba de Friedman y Wilconxon en las diferencias de los efectos antibacterianos de las concentraciones de <i>Citrus aurantifolia</i> en los tres tiempos de evaluación. | 32 |
| Tabla 6. Prueba U de Mann Whitney efecto antibacteriano de semillas de <i>Citrus aurantifolia</i> a diferentes concentraciones sobre <i>Streptococcus mutans</i> , a las 24, 48 y 72 horas. | 33 |
| Tabla 7. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> a las 24, 48 y 72 horas. | 34 |
| Tabla 8. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> a las 24, 48 y 72 horas. | 35 |
| Tabla 9. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> a las 24, 48 y 72 horas. | 36 |

Índice de Gráficos

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> a las 24 horas. | 26 |
| Gráfico 2. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> a las 48 horas. | 28 |
| Gráfico 3. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del <i>Citrus aurantifolia</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> a las 72 horas. | 30 |

Resumen

Este trabajo tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* Swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas. Se utilizó una metodología experimental, cuantitativa prospectiva longitudinal, con una muestra 10 placas petri por grupo de tratamiento (100%, 75%, 50% y grupo control), siendo un total de 40 placas. Los resultados revelaron que en las 24, 48 y 72 horas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 las semillas de *Citrus aurantifolia* al 100% presentaron promedio de $(28,91 \pm 4,958\text{mm})$ $(28,79 \pm 4,956\text{mm})$ $(28,67 \pm 4,959\text{mm})$ respectivamente, al 75% $(19,64 \pm 3,326\text{mm})$ $(19,53 \pm 3,322\text{mm})$ $(19,39 \pm 3,306\text{mm})$ respectivamente y al 50% $(12,94 \pm 1,675\text{mm})$ $(12,81 \pm 1,657\text{mm})$ $(28,67 \pm 4,959\text{mm})$ respectivamente y el control positivo de ensayo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, tuvo un promedio de $22,10 \pm 1,031\text{mm}$; $21,97 \pm 1,059\text{mm}$ y $21,86 \pm 1,050\text{mm}$ en los tres tiempos evaluados respectivamente; respecto al *Streptococcus mutans* se puede decir que es sumamente sensible (+++) frente al *Citrus aurantifolia* al 100% y digluconato de clorhexidina al 0,12%; asimismo, es muy sensible (++) y sensible (+) a *Citrus aurantifolia* al 75% y al 50%, respectivamente según dicha escala de sensibilidad antes mencionada a las 24, 48 y 72 horas de estudio. Por otro lado, el análisis estadístico demostró efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ($p=0.00$) al 95 % de confianza. Se concluye que existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* Swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Citrus aurantifolia* Swingle, *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Abstract

The purpose of this work was to determine the antibacterial effect of citrus aurantifolia swingle (subtle lemon) seed extract at different concentrations on streptococcus mutans at 24, 48 and 72 hours. A longitudinal prospective quantitative experimental methodology was used, with a sample of 10 petri dishes per treatment group (100%, 75%, 50% and control group), for a total of 40 dishes. The results revealed that at 24, 48 and 72 hours against Streptococcus mutans ATCC 25175 the seeds of Citrus aurantifolia at 100% showed an average of $(28.91 \pm 4.958\text{mm})$ $(28.79 \pm 4.956\text{mm})$ $(28.67 \pm 4.959\text{mm})$ $(28.67 \pm 4.959\text{mm})$ respectively, at 75% $(19.64 \pm 3, 326\text{mm})$ $(19.53 \pm 3.322\text{mm})$ $(19.39 \pm 3.306\text{mm})$ respectively and at 50% $(12.94 \pm 1.675\text{mm})$ $(12.81 \pm 1.657\text{mm})$ $(28.67 \pm 4.959\text{mm})$ respectively and the positive test control, 0.12% chlorhexidine digluconate, averaged $22.10 \pm 1.031\text{mm}$; $21.97 \pm 1.059\text{mm}$ and $21.86 \pm 1.050\text{mm}$ in the three times evaluated respectively; with respect to Streptococcus mutans it can be said that it is highly sensitive (+++) to Citrus aurantifolia at 100% and 0.12% chlorhexidine digluconate; it is also very sensitive (++) and chlorhexidine digluconate at 0.12%; it is also very sensitive (++) and sensitive (+) to Citrus aurantifolia at 75% and 50%, respectively, according to the aforementioned sensitivity scale at 24, 48 and 72 hours of study. On the other hand, the statistical analysis showed an antibacterial effect against Streptococcus mutans ($p=0.00$) at 95 % confidence. It is concluded that there is an antibacterial effect of Citrus aurantifolia swingle (subtle lemon) seed extract at different concentrations on Streptococcus mutans at 24, 48 and 72 hours.

Keywords: Antibacterial effect, Citrus aurantifolia swingle, Streptococcus mutans ATTC 25175.

Introducción

Los estudios realizados sobre diversas plantas han ido generando diversas expectativas, ya que han reintroducido el uso de las plantas de la forma en que lo hacían nuestros antepasados en el pasado para combatir diversos microorganismos patógenos. Estos estudios han despertado gran interés entre los científicos, que han observado una amplia gama de propiedades curativas. Del mismo modo, se cree que cualquier planta que posea propiedades y/o sustancias que puedan utilizarse en el campo de la medicina para una variedad de propósitos terapéuticos, puede ser utilizada para el tratamiento de enfermedades.

Se dividió en cinco capítulos. En capítulo I, "El problema", se analizan contextos internacional, nacional y local, se esbozan problemas relacionados a las variables objeto de investigación y se definen los objetivos y las limitaciones de la misma. El objetivo principal del capítulo II es examinar el marco teórico. El capítulo III describe el marco metodológico, la estrategia, el tipo y el diseño del estudio, y los instrumentos y técnicas utilizados para recoger los datos. El capítulo IV ofrece análisis profundos de los datos y presenta los resultados. A continuación, se exponen las conclusiones y recomendaciones. Finalmente, los apéndices para facilitar el proceso de recogida de datos, además de bibliografía utilizadas.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Actualmente en muchos países del mundo, la medicina tradicional ha entrado en una nueva etapa de desarrollo a consecuencia de los efectos adversos que las drogas sintéticas causan en los pacientes, existe una aversión mundial hacia ellas, y como resultado, los profesionales médicos y científicos recurren cada vez más a productos naturales derivados de especies de plantas medicinales (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) manifiesta que la mitad de las personas del mundo, cree en la medicina tradicional en la resolución de las carestías de salud, evidencias muestran que gran parte de las terapias que realizan hacen uso de los extractos o aceites de los recursos vegetales debido a que presentan metabolitos secundarios que les confiere múltiples propiedades medicinales, entre ellas la antimicrobiana (2, 3).

La caries dental es una afección bucodental contagiosa y formadora de placa que puede atribuirse a diversos factores. Además, esclarece diversos mecanismos que contribuyen a una serie de patologías. En la actualidad, la OMS documenta una prevalencia mundial de caries

dental que oscila entre el 60% y el 90% entre los escolares y se acerca al 100% entre los adultos. El Ministerio de Salud (Minsa) revela caries dental en niños en el 85% (4, 5).

El factor microbiano juega un rol significativo en el progreso de la caries dentro de la cavidad oral. Inicialmente, se compone principalmente de bacterias anaerobias facultativas Gram (+), pero a medida que avanza el proceso, predominan las bacterias anaerobias estrictas, incluido el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (6), que se encuentra entre los primeros en colonizar.

Con una prevalencia del 88,2%, la caries sigue siendo una complicación de salud pública entre los niños en edad escolar, según la investigación de Márquez. La prevalencia de la enfermedad puede atribuirse principalmente a su origen multifactorial, que incluye al huésped, la dieta y los microorganismos (7).

El limón, posee numerosas cualidades, sobre todo capacidades antibacterianas (8), se ha demostrado que altas concentraciones de óleo fundamental de limón tienen actividad antibacteriana contra la cepa ATCC 25175. Además, varias investigaciones, incluido uno realizado por Da Silva en 2015, han demostrado que el aceite de limón tiene actividad antibacteriana contra *Streptococcus aureus*. (9,10).

El Perú no es indiferente a esta realidad, ya que al ubicarse entre las cinco primeras naciones con la más grande diversidad en todo el mundo; la mayoría de las especies son empleadas por la población con fines terapéuticos, pero lamentablemente algunas con escaso respaldo científico; con lo anteriormente descrito se propone comparar la actividad antibacteriana del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* Swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Qué efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?

1.2.2 Problemas específicos

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

1.3.2 Objetivos específicos

Establecer el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Establecer el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Identificar el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica

Teóricamente, la intención de esta tesis es conocer la efectividad antibacteriana de las diferentes concentraciones de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) y pretende profundizar las bases teóricas sobre la acción antibacteriana, convirtiéndose en una alternativa de compuestos de origen natural.

1.4.2 Metodológica

Metodológicamente estaba justificado porque utilizaba el método científico para simular el proceso estadístico y porque los resultados se obtuvieron utilizando un instrumento válido y fiable que sirve de apoyo a futuras pruebas.

1.4.3 Práctica

En este estudio se justificó en la parte práctica, el control microbiológico tiene potencial terapéutico en el contexto de la prevención de la caries, dada la ineficacia de los métodos utilizados por las instituciones de salud pública para prevenir y controlar la caries dental. Estas medidas, que incluyen principalmente la reducción de azúcares en la dieta y el uso racional de flúor tópico, se dividen en aquellas que deben explicarse a los padres/cuidadores del niño para que las apliquen en casa y aquellas que deben ser aplicadas por profesionales. Esto se debe a que se ha demostrado que la eficacia es mayor con el tiempo y cuando la concentración se ubica por encima del valor mínimo, definiéndose como la concentración más baja competente de prevenir la reproducción bacteriana entre 18 y 24 horas después de la aplicación.

1.5 Limitaciones de la investigación

La recolección de la información dependió del acceso al laboratorio; cabe mencionar que, las escasas investigaciones científicas nacionales y actualizadas sobre la acción antibacteriana

del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle frente a bacterias streptococcus mutans; finalmente en recursos, no se existen limitaciones, ya que el actual estudio fue autofinanciado.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Espinoza et al. (2022), Lima buscó “*Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la cáscara de Citrus x limon (Limón) frente a la cepa de Cutibacterium acnes ATCC 6919*” utiliza un enfoque cuantitativo y una metodología de diseño observacional transversal. Se manejó el método Kirby & Bauer para calcular el extracto a diferentes concentraciones (25, 50, 75 y 100%). En el proceso de evaluación se manipuló un control positivo de tetraciclina y negativo de agua destilada estéril. Resultados: Se demostró la acción antibacteriana del Limon al 75% y 100%. Los halos inhibidos para este efecto se midieron en 47,96 mm y 16,31 mm, respectivamente, en comparación con la tetraciclina, que tiene un efecto inhibitorio del 100%. En conclusión, los resultados sugieren que el extracto de Citrus x limonum mostró actividad antibacteriana contra Cutibacterium acnes ATCC 6919 a concentraciones del 75% y el 100% (11).

Denkova-Kostova et al (2020), Bulgaria buscó el propósito de “*Determinar la composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana de los aceites esenciales de mandarina (Citrus reticulata L.), pomelo (Citrus paradisi L.), limón (Citrus limon L.) y canela (Cinnamomum zeylanicum Blume)*” Todos los aceites esenciales presentaron actividad

antimicrobiana frente a microorganismos saprofitos y patógenos, observándose la mayor actividad inhibitoria en el aceite de canela, seguido del aceite de cáscara de pomelo, el aceite de cáscara de mandarina y el aceite de cáscara de limón; la CMI osciló entre 6 y 60 ppm. Además, mostraron una elevada actividad antioxidante, determinándose la mayor actividad antioxidante en el aceite esencial de cáscara de pomelo, seguido del aceite esencial de cáscara de limón, el aceite esencial de cáscara de mandarina y el aceite esencial de canela. Los prometedores resultados demostrados para la actividad antioxidante y antimicrobiana de los aceites esenciales estudiados justificarían su inclusión en el desarrollo de estrategias de bioconservación para la conservación de emulsiones alimentarias (12).

Espinel (2020), Ecuador buscó el propósito de “*Evaluar la efectividad antibacteriana de los aceites esenciales del limón contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus*” en un estudio experimental y comparativo, se evaluó la acción de aceites esenciales extraídos de variedades diferentes de Citrus limón en comparación con antibióticos disponibles comercialmente. Se realizaron doce tratamientos mediante un diseño DCA completamente aleatorizado con una disposición factorial de A (tres variedades de limón) x B (tres dosis de aceite esencial) + 3 controles. Se manipuló la prueba de Tukey para confrontar las medias ($p < 0,05$). Los resultados indican que *C. aurantifolia* mostró una actividad de control superior frente a *S. aureus*, mientras que *C. lantifolia* mostró una actividad de control superior frente a *E. coli*. En resumen, los aceites básicos de limón tienen propiedades antibacterianas (13).

Romero (2020), Trujillo buscó el propósito de “*Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Citrus limon sobre cepas Streptococcus mutans ATCC 25175 y Streptococcus sanguis ATCC 10556*” se evaluó cepas de Streptococcus reactivadas en caldo (30 placas de Petri). Además, se prepararon aceites esenciales en concentraciones del 75% y el 100%. El efecto antimicrobiano se evaluó en 10 réplicas utilizando la técnica de Kirby-Bauer y se colocaron discos de filtro en placas con agar Mueller-Hinton inoculado de Streptococcus

sanguis y mutans; se utilizó clorhexidina a una concentración del 0,12% como control positivo y SSEF/TWEEN 80 como control negativo. Las mediciones de los halos en cada disco dieron los siguientes efectos: el diámetro medio para Streptococcus mutans ATCC 25175 fue de 17,4 mm al 75%, 28,3 mm al 100%, 24,5 mm para clorhexidina al 0,12% y 0 para SSEF/Tween 80; para Streptococcus sanguis ATCC 10556 fue de 20 mm al 75%, 30,8 mm al 100%, 15,4 mm para clorhexidina al 0,12% y SSEF/Tween 80. La prueba ANOVA indicó que las concentraciones eran estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) y la prueba DUNCAN indicó que el 100% tenía un mayor efecto sobre ambas variables. Los efectos observados del aceite antimicrobiano sugieren una posible aplicación terapéutica en la prevención de la caries dental (14).

Sánchez et al. (2018), Guatemala buscó “*Determinar la eficacia antibacteriana in vitro del jugo de limón criollo (Citrus aurantifolia Swingle), persa (Citrus latifolia Tanaká) real (Citrus limón Burm), lima (Citrus limetta Risso) y jugo de limón comercializado (Rabinal®) contra Staphylococcus aureus meticilino resistente (aislado clínico) y Streptococcus β -hemolítico del grupo A a ATCC 19615 de octubre a noviembre del 2017*”, se llevó a cabo un estudio experimental, se utilizó el procedimiento Bauer-Kirby, en él, impregnaron papel de filtro y se modificó el procedimiento para dejar caer zumo de cítricos al 25%, 50%, 75% y 100% en agar Mueller-Hinton. Como resultado de la utilización de la técnica 1, cuatro tipos diferentes de zumo de limón mostraron un efecto inhibitorio in vitro frente al Streptococcus β -hemolyticus beta-hemolítico del grupo A a una concentración del 75%. Del mismo modo, la técnica 2 mostró este efecto a una concentración del 50%. Se utilizó la prueba de Wilcoxon para determinar si los cítricos estudiados inhibían al Streptococcus β -hemolítico del grupo A y al Staphylococcus aureus resistente a la meticilina, y se obtuvo un valor p de 0,8. CONCLUSIONES: El efecto inhibitorio de zumo de limón estudiada es evidente, pero ninguna

de las variedades estudiadas supera la eficacia antibacteriana in vitro del control positivo a la azitromicina (15).

Sun et al. (2018), China buscó “*Investigar los efectos de las concentraciones inhibitorias submínimas (CI submínimas) de LEO sobre la tolerancia a los ácidos y la formación de biopelículas de Streptococcus mutans (S. mutans) y revelar de forma preliminar los posibles mecanismos subyacentes*”, Estudio experimental donde se investigaron los efectos de LEO en la tolerancia al ácido y la formación de biopelículas de S. mutans mediante el método de dilución en caldo y el método de tinción con violeta cristal, respectivamente. Además, se seleccionaron los polifenoles del té (TP), un importante inhibidor natural de los factores de virulencia cariogénicos, y el limoneno (LIM), el principal componente de LEO, como comparaciones para evaluar los efectos de LEO. Resultados: Los sub-MICs de LEO, LIM y TP mostraron una inhibición dependiente de la dosis del crecimiento de S. mutans a un pH que oscilaba entre 4,0 y 7,0. La formación de biopelícula de S. mutans se inhibió notablemente y los índices inhibitorios de LEO, LIM y TP fueron del 97,87%, 94,88% y 96,01% respectivamente a 1/2 CMI. Del mismo modo, se observó una regulación a la baja en la expresión de los genes luxS, srtA y spaP a niveles inferiores a la CMI. Conclusiones: Los efectos de LEO fueron similares o ligeramente superiores a los de LIM y TP (16).

Estrada (2017), Cusco buscó “*Determinar el efecto antibacteriano In Vitro del aceite esencial del limón en diferentes concentraciones (50%,75% y 100%) sobre el Streptococcus mutans ATCC 25175*”, se aplicaron diferentes concentraciones de citrus limon a Streptococcus mutans. En el caso del aceite esencial de limón cítrico, el diámetro fue de 6,50 mm al 50%, de 13,57 mm al 75% y de 14,78 mm al 100%. Los resultados indican que el compuesto tiene actividad antibacteriana al 75% y al 100% de inhibición, pero ninguna actividad contra Streptococcus mutans ATCC®25175TM al 50% de inhibición. Estas pruebas se realizaron utilizando la escala de Duraffourd, los halos en el aceite esencial de Citrus Limon se midieron en 6,50 mm al 50%,

13,57 mm al 75% y 14,78 mm al 100%. Se observó que el aceite presentaba una eficacia antibacteriana al 75% y al 100% con una sensibilidad de (+) y ++ respectivamente. En consecuencia, esta investigación descubrió que la eficacia antibacteriana del aceite esencial de Citrus limón a una concentración del 50% contra Streptococcus mutans ATCC®25175TM era nula (-). En resumen, cuando se realizaron tres evaluaciones con aceite esencial de Citrus limón al 75%, el halo inhibitorio fue significativamente más amplio que el observado al 100% (17).

Baca y Yábar (2016), Cusco buscó “*determinar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de: Foeniculum Vulgare (Hinojo), Cimbopogon citrus (Hierba Luisa), Origanum Vulgare (Orégano), Citrus aurantifolia swingle (Limón) y Citrus sinensis (Naranja), con el del Gluconato de Clorhexidina al 0.12% sobre cepas estandarizadas de Streptococcus Mutans ATCC 25175*”, estudio prospectivo, longitudinal, experimental, se manejó la extracción por tracción de vapor extrayendo los compuestos esenciales de estas plantas. Se compararon con gluconato de clorhexidina al 0,12%. A las cepas de Streptococcus mutans se les añadió el estándar de control y 10 ul aceite esencial. Para determinar la eficacia del agente antibacteriano, se midió los halos al cabo de 24 horas. Los diámetros de los halos fueron para el aceite esencial de Citrus Sinensis (Naranja) y (14. 667 mm) para el aceite de Citrus aurantifolia swingle (limón). El análisis POST HOC ANOVA reveló diferencias estadísticamente significativas en los diámetros de los halos, mientras que TUKEY HSD evidenció el aceite esencial más eficaz. Concluyeron que, las cepas con Streptococcus mutans ATCC 25175 son inhibidas más eficazmente por las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales Verbena Limón, Orégano, Hinojo y Naranja. En cambio, el aceite esencial del limón no tiene actividad antibacteriana (18).

2.2 Bases teóricas

2.2.1. Streptococcus mutans ATCC 25175

Hay un cambio gradual dentro de la lesión cariosa desde bacterias Gram (+) anaeróbicas facultativas, que predominan en las primeras etapas de la degradación del tejido dental, hasta bacterias Gram (+) y Gram (-) anaeróbicas estrictas, que se vuelven más prevalentes en la caries avanzada. Actualmente se desconocen los determinantes de esta secuencia de microbiota, las bacterias se asocian con la formación de lesiones cariosas de las siguientes maneras: Los estreptococos son cocos anaeróbicos facultativos Gram (+) que son patógenos oportunistas de caries dental y endocarditis infecciosa. Están compuestos por cadenas cortas de cuatro a seis cocos y tienen de 0,5 a 0,8 μm de diámetro. Los estreptococos son miembros de la flora microbiana. *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es la bacteria más estudiada en la cavidad bucal; sus componentes patógenos incluyen (19):

a. Acidógeno, acidúrico y acidófilo.

b. Produce fructanos y glucanos.

c. Sintetizador de glucógeno.

d. Viable adhesivo facilitado por su proteína salival, que favorece la adhesión a una superficie firme sin glucano; capacidades coagregadoras y agregativas mediadas por mutan, una proteína receptora de mutan, y glucosiltransferasa.

e. La producción de una bacteriocina con actividad contra diversos microorganismos.

Las glucosiltransferasas permiten que ATCC 25175 produzca glucanos insolubles iniciado con sacarosa dietética; esta actividad enzimática contribuye al desarrollo de la biopelícula dental (20).

Varios estudios en animales de experimentación han contribuido al conocimiento de si *Streptococcus mutans* ATCC 25175 está involucrado en la caries. El más importante de ellos es el estudio de Keyes y Fitzgerald en 1960, que identificaron esta bacteria como el agente

microbiano criogénico en la caries experimental en hámsteres. Según Van Houte (1994), *Streptococcus mutans* tiene un mayor porcentaje de flora cultivable (20)

Adhesión de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e inicio de la caries

ATCC 25175 es una cepa de *Streptococcus mutans* caracterizada por un fenotipo homogéneo. Sin embargo, estudios recientes han demostrado un mayor grado de heterogeneidad en bioquímica, genética y serología. A nivel serológico se observa diversidad enzimática entre las diferentes especies de *Streptococcus mutans*. La serotipificación es un método valioso para evaluar grupos de diferentes especies de estreptococos e inmunología (20,21).

Se ha confirmado la función crítica de la glucosiltransferasa de *Streptococcus mutans* en el desarrollo de la placa bacteriana. La producción de glucano en el esmalte por adsorción de glucosiltransferasa crea una matriz insoluble que promueve la formación de placa y la colonización microbiana (21).

Coagregación *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Posee la capacidad de adherirse a áreas y afirma poder cooperar con otros estreptococos y especies bacterianas. Mediante adhesión homóloga, numerosas cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se aglutinan en respuesta a dextranos de alto peso molecular. Además, hay informes de que cepas específicas de ATCC 25175 se agregan con *Nocardia*, *Neisseria* y *Candida albicans* mediante adhesión heteróloga. Los procesos son complejos e involucran una variedad de constituyentes bacterianos, así como variables externas, incluidos los patrones dietéticos (particularmente la ingesta de sacarosa), que pueden afectar la abundancia relativa de diversas bacterias que componen la capa (que es fermentada por *Streptococcus mutans* y

Candida albicans, promoviendo así un medio ácido propicio para el crecimiento de ambas especies) (21).

2.2.2. Citrus limón (Limón)

Originarios de las regiones tropicales de Asia y de las islas malayas, ahora se cultivan en todos los países donde se cultivan cítricos (20).

Se desconoce su origen (C. limon Burmann), pero la hibridación de lima y sidra es la hipótesis de su origen. (22)

- Árbol espinoso de mediana altura, sus pétalos son blancos a morados con un centro carmesí. Las hojas son ovaladas con puntas puntiagudas y bordes dentados. El fruto maduro es ovalado, amarillo y consta de ocho a diez gajos. (22)

- Distribución: Originaria del este de Asia. Cultivo generalizado en la región amazónica. (22)

Taxonomía:

Mabberley estableció una clasificación de los principales cítricos en 1997, que fue respaldada por los principales botánicos y simplificó y aclaró el género.

- Magnoliopsida es la clase del Reino/División Plantae/Magnoliophyta 1. Rutaceae (23), subclase Rosidae/Sapindales, familia Citrus.

Citrus es el género; Citroideae/Citreae es la subfamilia/tribu.

Elementos químicos de Citrus limón:

Limoneno, un terpeno, sabineno, terpineno, α -pineno, β -pineno, p-cimeno

Propiedades terapéuticas del limón

Fruto

- Para el dolor de garganta, hacer gárgaras cada cuatro horas con una solución de zumo de limón en un vaso de agua con un chorrito de sal.

- Sangrado nasal: Aplicar dos gotas de jugo de limón en la zona del sangrado en la cavidad nasal.

Caracha: Hervir el jugo de limón hasta obtener una consistencia oscura y viscosa y aplicar sobre la "caracha". Limpiar la caracha con agua y detergente. Repite este proceso una vez al día hasta que desaparezca la "caracha".

- Para tratar los resfriados, añadir Vic-vaporub a medio limón hervido. Cúbrete con un paño e inhala los vapores durante diez minutos.

Para aliviar el dolor y la inflamación, se recomienda aplicar jugo de limón tostado en la incisión. El jugo de limón fresco actúa como desinfectante cuando se aplica sobre una lesión (24).

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

2.3.2. Hipótesis específicas

Hipótesis específica N°1

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Hipótesis específica N°2

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Hipótesis específica N°3

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Método de la investigación

Método hipotético - deductivo partió de un conjunto dado de principios (25).

3.2. Enfoque de la investigación

Enfoque cuantitativo, implicó evaluación cuantitativa de variables en múltiples dimensiones utilizando indicadores apropiados (26).

3.3. Tipo de investigación

Aplicada donde realizó un análisis exhaustivo del tema, delimitando el fenómeno específico objeto de investigación y estableciendo una metodología estructurada para el proceso de investigación (26).

3.4. Diseño de la investigación

Diseño experimental para establecer una relación causal, el investigador alteró un resultado manipulando una variable de corte longitudinal: siguiendo a los mismos sujetos de investigación a lo largo del tiempo, se pudo observar el desarrollo de las particularidades y

variables verificadas (27) y de alcance explicativo que va más allá de la descripción de conceptos o fenómenos, así como del establecimiento de relaciones entre conceptos (28).

Prospectiva: El proceso de recolección de datos comenzó antes de los eventos a estudiar y continúa a medida que ocurren (27)

3.5. Población, muestra y muestreo

3.5.1 Población

Colonias de Streptococcus mutans ATCC 25175.

3.5.2 Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Semillas de buena calidad.
- Contorno de cultivo sin contaminantes
- Cepa autenticada.

Criterios de exclusión

- Semillas en mal estado.
- Colonias de Streptococcus mutans ATCC 25175 no refrigeradas antes de su activación.

3.5.3 Muestra

Para el tamaño de la muestra en este estudio, se utilizó.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2s^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde: $Z_{\alpha/2} = 1.96$; para un $\alpha = 0.05$

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

$S = 0.8 (x_1 - x_2)$ se asumió porque la investigación de parámetros de la variable de interés no fue completa en estudios similares.

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2(0.8)^2}{(0.8)^2}$$

$n = 10$ placas

Se utilizaron 10 placas petri por grupo de tratamiento, en un total de 40 placas.

3.5.4. Tipo de muestreo

Muestreo probabilístico que se refiere al método de utilizar la aleatoriedad para seleccionar una muestra de una población de modo que una muestra más pequeña pueda dar resultados fiables (29).

3.6. Variables y operacionalización

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Dimensión | Indicador | Escala de medición | Escala valorativa |
|--|---|--|-----------------------------------|-----------------------------|--------------------|---|
| Efecto antibacteriano sobre streptococcus mutans | Acción de un producto antibacteriano contra microorganismos (30). | Por medio de la técnica se compararán los diámetros de los halos. | Diámetro del halo de inhibición | mm | Ordinal | <p>≤ 8mm Nula (-)</p> <p>8mm a 14mm Sensible (+)</p> <p>15mm a 20mm Muy sensible (++)</p> <p>> a 20mm Sumamente sensible (+++)</p> |
| Extracto de semillas de citrus aurantifolia swingle (limon) | Proceso de extracción del principio activo de los componentes del limón para obtener el aceite esencial (31). | Se utilizó tres concentraciones de aceite esencial Citrus aurantifolia swingle utilizada. | Concentración del aceite esencial | Porcentaje de concentración | Continua | <p>50%</p> <p>75%</p> <p>100%</p> |
| Tiempo | Magnitud física fundamental | Registro del efecto antibacteriano a las 24, 48 y 72 horas registrado en la ficha de observación | _____ | horas | continua | <p>24 horas</p> <p>48 horas</p> <p>72 horas</p> |

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

Se utilizó la observación estructural (32)

Procedimientos:

1. Obtención de los aceites esenciales

El investigador recibió el aceite esencial extraído de las semillas de Limón de un laboratorio en Lima. Las semillas fueron entregadas al laboratorio en condiciones ideales para preservar sus propiedades químicas y físicas. También nos proporcionaron un certificado de análisis detallando las propiedades y características de ambos aceites.

La metodología de elaboración de aceite esencial de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle consistió en lo siguiente:

a) Equipos

Estufa microbiológica, refrigeradora, balanza digital, licuadora.

b) Materiales

360g de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle, viales de vidrio ámbar de 10mL, pinza de acero inoxidable, papel aluminio, agua destilada, cochinilla a gas propano, aparato Clevenger, balón de vidrio borosilicato de 500mL.

c) Selección:

Se separó las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle del fruto. Se escogieron aquellos frutos libres de manchas y perforaciones por insectos (33). En total, resultó 360g de semillas pesados en una balanza digital.

d) Secado.

Las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle se secaron sobre papel aluminio en estufa microbiológica a 60 °C por 6 horas.

- e) Molienda: Posteriormente se procedió a realizar la molienda de las semillas secas en una licuadora común hasta que pulverizar completamente (33).
- f) Pesado. A partir del polvo obtenido, se pesaron 120 g de semillas deshidratadas y se colocó en un balón de vidrio borosilicato “Pirex” de 500 ml: repitiéndose tres veces.
- g) Hidrodestilación: Se procedió a la hidrodestilación de la semillas deshidratadas y molidas por arrastre de vapor mediante el aparato Clevenger para obtener aceite esencial. Para generar el vapor dentro del balón de extracción con las semillas molidas se colocó 130mL de agua destilada. Luego, se procedió a darle calor hasta su ebullición en una cocinilla por 60 minutos (34). La mezcla de vapor y aceite se condensa y separa, resultando en un aceite esencial puro.
- h) Decantación: Se realizó para separar el aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100% del agua (hidrolato), extrayéndola antes de obtener el aceite esencial, ya que la misma tuvo una densidad menor a la del agua y por ello, pudo separarse fácilmente. Además, este proceso fue favorecido por el aparato Clevenger.
- i) Envasado y almacenado: El aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100%, se enfrascó gota a gota del tubo graduado del aparato Clevenger a un vial de vidrio ámbar pequeño una cantidad de 3ml aproximadamente de aceite esencial. Luego, se almacenó el frasco ámbar con el aceite en refrigeración a 5°C.
- j) Diluciones: El aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100% se procedió a diluir con aceite mineral estéril para obtener las concentraciones de aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 50% y 75%. Estas nuevas concentraciones de aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia*

swingle se colocaron en frascos ámbar y se almacenó en refrigeración a 5°C hasta su uso en los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana para preservar sus propiedades químicas y físicas.

2. Adquisición de la cepa

El investigador contó con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que fueron llevados al laboratorio (bajo la supervisión del microbiólogo responsable) para realizar los procedimientos de mantenimiento necesarios.

Para reactivar la cepa en estudio, la ampolla que contuvo el microorganismo liofilizado se combinó con esta sustancia durante cinco minutos. La mezcla resultante se sembró entonces en agar sangre de cordero. Luego la mezcla se incubó durante veinticuatro horas a 37°C en un medio anaeróbico (matraz anaeróbico). Si no se observaba crecimiento durante este período, la muestra se incubaba durante veinticuatro horas más.

3. Método de preparación de la cepa.

Para obtener colonias juveniles, se cultivaron cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en tubos de ensayo que contenían medio tripticasa de soja y se incubaron a 37 °C en condiciones microanaeróbicas. Después de 24 horas, los tubos se inocularon con medio tioglicolato para lograr una turbidez de 0,5 en la escala de Marc Farland. Antes de la inoculación, los viales que contenían las bacterias investigadas se rotaron durante 30 segundos entre las palmas de las manos para asegurar una distribución adecuada de los microorganismos.

4. Inoculación de placas.

Después de ajustar la turbidez del inóculo, se inocularon las bacterias en placas que contenían agar Mueller Hinton. Esto se hace sumergiendo una sonda estéril en la solución inocente ajustada, girando la sonda para asegurar una inmersión completa. Se aplica presión a

las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido de la esponja antes de retirarla. Luego se utiliza el hisopo para inocular la placa de agar Mueller Hinton trazando rayas paralelas en toda la superficie de la placa mientras se gira 60°.

5. Sembrado en placa de cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175:

Luego de obtener colonias del microorganismo, se retiraron de ambos asados utilizando una esponja estéril y luego se diluyeron a un valor de 0,5 en la escala Mc. El estándar McFarland se comparó con Farland mediante una serie de diluciones utilizando agua destilada. Con una esponja esterilizada se extiende esta última sobre la superficie del agar Müller-Hinton en placas de Petri.

6. Evaluación de la actividad antimicrobiana.

En las placas inoculadas se practican orificios de 6 mm de diámetro. Luego se añadieron 30 uL de diferentes concentraciones a los pocillos creados por las placas, determinándose las concentraciones experimentales por el diámetro del halo producido. Las muestras se incubaron anaeróbicamente a 37°C durante 24 horas. Luego se realizaron mediciones directas con vernier digital de las zonas de inhibición.

7. Pruebas de susceptibilidad

Los diámetros de inhibición se clasificaron según la escala de Duraffourd, que se utilizó para establecer la acción inhibidora in vitro:

- Nula (-) para diámetros inferiores a 8 mm.
- Sensible (+) para diámetros de hasta 14 mm.
- Muy sensible (++) para diámetros de 14 a 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para diámetros superiores a 20 mm.

3.7.2. Descripción de instrumentos

El instrumento de medición utilizado en esta investigación fue un vernier. Diseñado específicamente para medir la unidad de longitud, este instrumento calibrado fue confiable debido a su certificación con la norma de calidad ISO 9001 y la marca MITUTOYO, modelo 500-157-30. Las zonas de inhibición se documentaron en un formulario de recopilación de datos diseñado específicamente para la investigación.

3.7.3. Validación y confiabilidad

Para aumentar la validez, credibilidad y confiabilidad de este estudio, se realizó una prueba intraevaluador. Durante esta prueba, el investigador fue instruido y calibrado directamente por un microbiólogo, autoridad en la materia, sobre el examen visual de la placa de Petri y la determinación de la zona de inhibición. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el método estadístico Kappa-Cohen donde se obtuvo un coeficiente de 1.00 con un resultado considerado como concordancia muy buena.

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos

Se realizaron análisis estadísticos multivariados, univariados y bivariados utilizando el Paquete Estadístico (SPSS) 26.0.

Análisis univariante de las medidas centrales (media y mediana) y dispersión (desviación estándar y varianza) que derivaron de las variables cuantitativas.

Análisis bivariado Se examinó la correlación entre las variables, mediante la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes y Wilcoxon para muestras dependientes ambos en ausencia de distribución normal.

Análisis multivariado Se realizó un análisis de la correlación entre variables. Se utilizó Kruskal-Wallis para comparación de por cada tiempo de evaluación (muestras independientes) y Friedman para las diferencias en los tres tiempos de evaluación (muestras dependientes).

3.9. Aspectos éticos

Además de ser aprobada por la escuela para realizar esta investigación, la 29ª Asamblea Médica revisó y ratificó la Declaración de Helsinki, cuyos principios se siguen en este estudio. La Declaración fue adoptada por la 18.ª Helsinki en 1964, revisada en Fortaleza, Brasil, en octubre de 2013, con la incorporación adecuada de principios de bioseguridad y consideraciones de daño ambiental (35).

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados

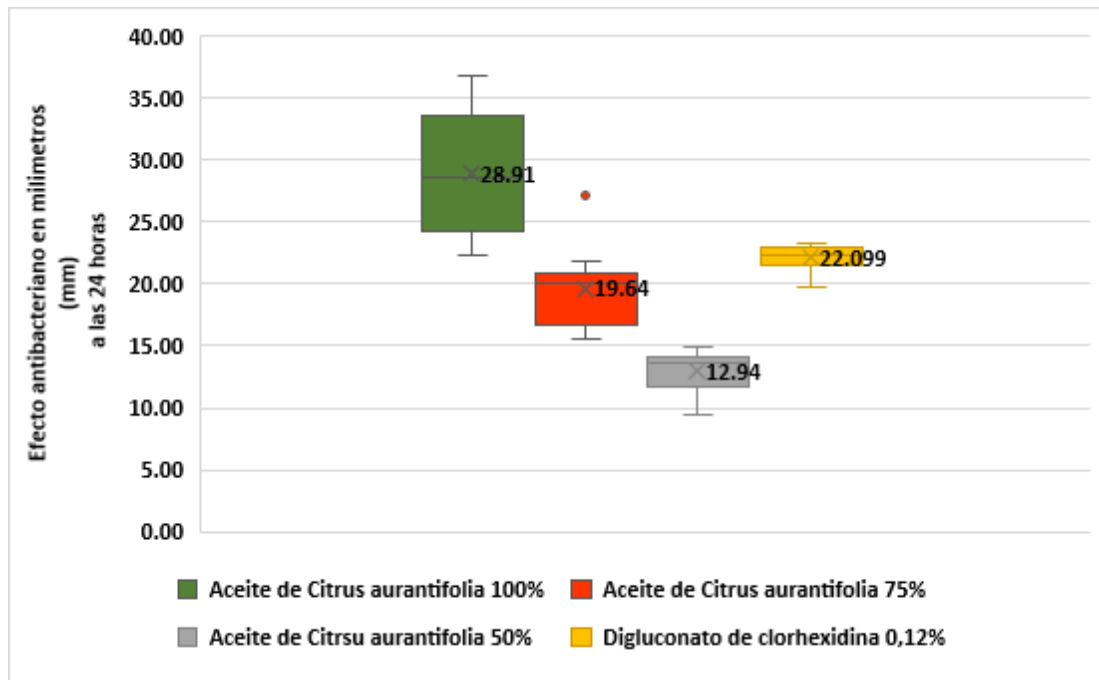
4.1.1. Análisis descriptivo

Tabla 1. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* frente a *S. mutans* a las 24 horas.

| Periodo de Tiempo | X | | DE | Min | Máx. |
|---|-------|-------------|-------|-------|-------|
| | mm | Duraffourd* | | | |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% | 28,91 | (+++) | 4,958 | 22,28 | 36,76 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% | 19,64 | (++) | 3,326 | 15,51 | 27,07 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% | 12,94 | (+) | 1,675 | 9,48 | 14,85 |
| Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 22,10 | (+++) | 1,031 | 19,68 | 23,32 |

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd

Gráfico 1. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* frente a *S. mutans* a las 24 horas



Interpretación:

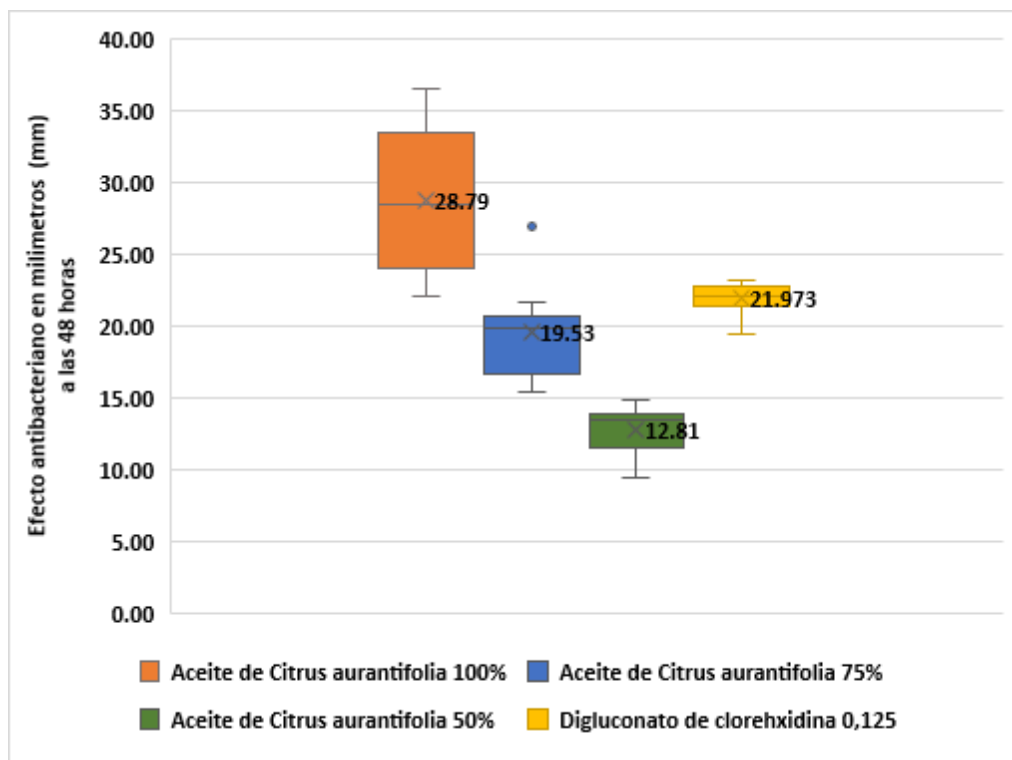
Se observa que el aceite de *Citrus aurantifolia* al 100% presentó mayor promedio ($28,91 \pm 4,958\text{mm}$), seguido del aceite de *Citrus aurantifolia* al 75% ($19,64 \pm 3,326\text{mm}$) y del aceite de *Citrus aurantifolia* al 50% ($12,94 \pm 1,675\text{mm}$) frente a *S. mutans* ATCC 25175 a las 24 horas. El control positivo de ensayo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, tuvo un promedio de $22,10 \pm 1,031\text{mm}$. Además, se puede decir que *S. mutans* es sumamente sensible (+++) frente al *Citrus aurantifolia* al 100% y digluconato de clorhexidina al 0,12%, según la escala de Duraffourd; Asimismo, *S. mutans* es muy sensible (++) y sensible (+) a *Citrus aurantifolia* al 75% y *Citrus aurantifolia* al 50%, respectivamente según dicha escala de sensibilidad antes mencionada.

Tabla 2. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* (n=10) frente a *S. mutans* a las 48 horas

| Periodo de Tiempo | X | | DE | Min | Máx. |
|---|-------|-------------|-------|-------|-------|
| | mm | Duraffourd* | | | |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% | 28,79 | (+++) | 4,956 | 22,15 | 36,61 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% | 19,53 | (++) | 3,322 | 15,39 | 26,94 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% | 12,81 | (+) | 1,657 | 9,40 | 14,80 |
| Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 21,97 | (+++) | 1,059 | 19,44 | 23,16 |

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd.

Gráfico 2. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* frente a *S. mutans* a las 48 horas.



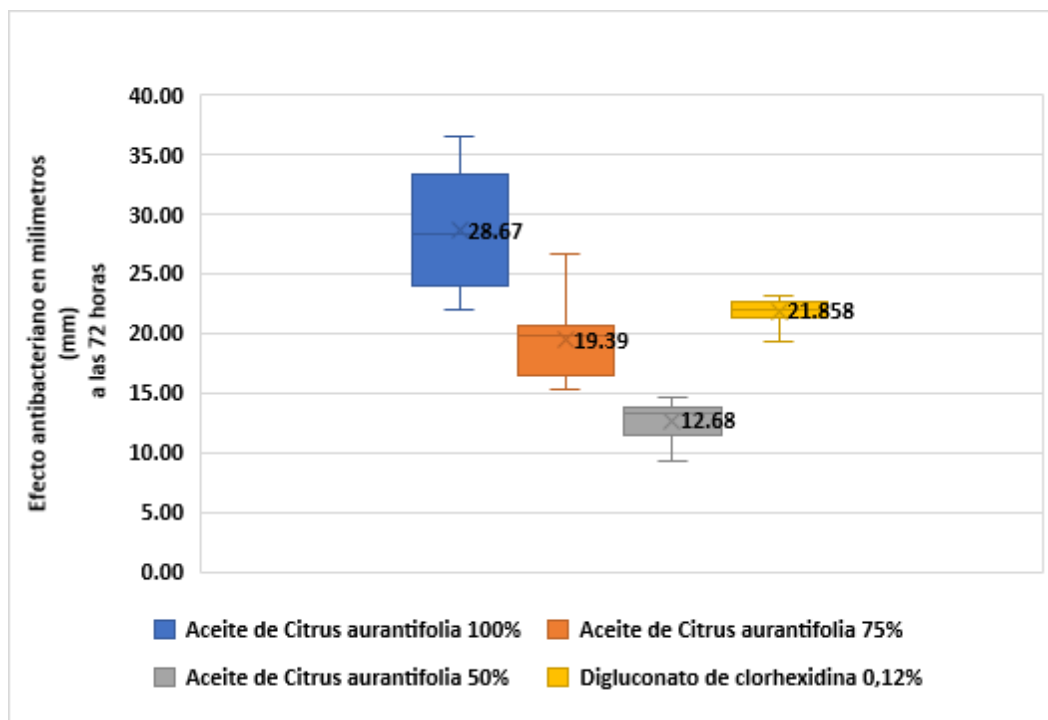
Se observa que el aceite de *Citrus aurantifolia* al 100% presentó mayor promedio ($28,79 \pm 4,956\text{mm}$), seguido del aceite de *Citrus aurantifolia* al 75% ($19,53 \pm 3,322\text{mm}$) y del aceite de *Citrus aurantifolia* al 50% ($12,81 \pm 1,657\text{mm}$) frente a *S. mutans* ATCC 25175 a las 48 horas. El control positivo de ensayo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, tuvo un promedio de $21,97 \pm 1,059\text{mm}$. Además, se puede decir que *S. mutans* es sumamente sensible (+++) frente al *Citrus aurantifolia* al 100% y digluconato de clorhexidina al 0,12%, según la escala de Duraffourd; Asimismo, *S. mutans* es muy sensible (++) y sensible (+) a *Citrus aurantifolia* al 75% y *Citrus aurantifolia* al 50%, respectivamente según dicha escala de sensibilidad antes mencionada a las 48 horas de estudio.

Tabla 3. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* frente a *S. mutans* comparado a las 72 horas.

| Periodo de Tiempo | X | | DE | Min | Máx. |
|---|-------|-------------|-------|-------|-------|
| | mm | Duraffourd* | | | |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% | 28,67 | (+++) | 4,959 | 22,00 | 36,45 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% | 19,39 | (++) | 3,306 | 15,95 | 26,71 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% | 12,68 | (+) | 1,650 | 9,29 | 14,66 |
| Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 21,86 | (+++) | 1,050 | 19,35 | 23,05 |

(*) Escala de sensibilidad de Duraffourd.

Gráfico 3. Efecto antibacteriano de las concentraciones del aceite esencial de las semillas del *Citrus aurantifolia* frente a *S. mutans* a las 72 horas.



Se observa que el aceite de *Citrus aurantifolia* al 100% presentó mayor promedio ($28,67 \pm 4,959\text{mm}$), seguido del aceite de *Citrus aurantifolia* al 75% ($19,39 \pm 3,306\text{mm}$) y del aceite de *Citrus aurantifolia* al 50% ($12,68 \pm 1,650\text{mm}$) frente a *S. mutans* ATCC 25175 a las 72 horas. El control positivo de ensayo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, tuvo un promedio de $21,86 \pm 1,050\text{mm}$. Además, se puede decir que *S. mutans* es sumamente sensible (+++) frente al *Citrus aurantifolia* al 100% y digluconato de clorhexidina al 0,12%, según la escala de Duraffourd; Asimismo, *S. mutans* es muy sensible (++) y sensible (+) a *Citrus aurantifolia* al 75% y *Citrus aurantifolia* al 50%, respectivamente según dicha escala de sensibilidad antes mencionada a las 72 horas de estudio.

4.1.2 Prueba de hipótesis

Prueba de hipótesis general

Hipótesis estadística general

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Nivel de significancia: 95% y alfa = 0.05

Estadístico de prueba:

1. Para muestras independientes: Kruskal Wallis- U de Mann Whitney (comparación de por cada tiempo de evaluación)
2. Para muestras dependientes: Friedman – Wilcoxon (diferencias en los tres tiempos de evaluación)

Criterio de selección

Si p-valor < 0.05 se rechaza la H₀

Si p – valor > 0.05 se acepta la H₀

Tabla 4. Prueba Kruskal Wallis y U de Mann Whitney en las comparaciones múltiples de los efectos antibacterianos de las concentraciones de *Citrus aurantifolia*.

| Sustancia de prueba | Prueba de Mann Whitney (Valor p) | | |
|--|----------------------------------|----------|----------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 100% vs. al 75% | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| Citrus aurantifolia al 100% vs. al 50% | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Citrus aurantifolia al 75% vs. al 50% | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

| | | | |
|--|-------|-------|-------|
| Citrus aurantifolia al 100% vs. Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| Citrus aurantifolia al 100% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Citrus aurantifolia al 75% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Citrus aurantifolia al 50% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Se observó que el *Citrus aurantifolia* al 100%; al 75% y al 50% ($p < 0,05$), presentó efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* a las 24, 48 y 72 horas, puesto que las sustancias de prueba señaladas fueron significativamente superiores a la actividad considerada nula en la escala de sensibilidad de Duraffourd. Asimismo, se puede decir que el mayor promedio lo tuvo el aceite esencial de *Citrus aurantifolia* al 100% ($p < 0,05$) con respecto a las demás sustancias de prueba y en los tres periodos de tiempo evaluados en el presente estudio.

Tabla 5. Prueba de Friedman y Wilconxon en las diferencias de los efectos antibacterianos de las concentraciones de *Citrus aurantifolia* en los tres tiempos de evaluación.

| Sustancia de prueba | Prueba de Friedman | Valor p | | |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------|---------------|
| | | Prueba de Wilcoxon | | |
| | | 24 y 48 horas | 24 y 72 horas | 48 y 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 100% | 0,000 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |
| Citrus aurantifolia al 75% | 0,000 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |
| Citrus aurantifolia al 50% | 0,000 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |
| Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 0,000 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |

Se observó que existen diferencias significativas a las 24 y 48 horas ($p < 0,05$) de incubación, a las 24 y 72 horas ($p < 0,05$) y a las 48 y 72 horas de estudio para *Citrus aurantifolia* al 100%, al 75%, al 50% y el digluconato de clorhexidina al 0,12%. Por lo cual, queda demostrado estadísticamente que el mayor efecto antibacteriano para las tres concentraciones de la semilla de *Citrus aurantifolia* y el control positivo, digluconato de clorhexidina al 0,12% frente a *Streptococcus mutans* se evidencia a las 24 horas de incubación.

Tabla 6. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de las semillas de *Citrus aurantifolia* a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas.

| Sustancia de prueba | Valor p | | |
|--|----------|----------|----------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 100% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Citrus aurantifolia al 75% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| Citrus aurantifolia al 50% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Toma de decisión:

El valor p fue de 0,000 en los tres periodos evaluados, el cual es menor al valor alfa ($\alpha = 0,05$), para las comparaciones de las tres concentraciones de la semilla de *Citrus aurantifolia*, lo cual evidenció que existió efecto antibacteriano frente a *S. mutans*.

Con el 95 % de confianza, se pudo afirmar que “Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas”

Prueba de hipótesis específica 1

Hipótesis estadística N° 1

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 7. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de *Citrus aurantifolia* al 50% sobre *S. mutans* a las 24, 48 y 72 horas.

| Sustancia de prueba | Valor p | | |
|---|----------|----------|----------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 50% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Toma de decisión:

El valor de p fue de 0,000 en los tres periodos evaluados, el cual es menor al valor alfa ($\alpha=0,05$), para la comparación de la semilla de *Citrus aurantifolia* al 50% con la actividad nula de Escala de Duraffourd, lo cual evidenció que existió efecto antibacteriano frente a *S. mutans*. Por ello, con el 95 % de confianza, se pudo afirmar que “Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 50% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas”.

Prueba de hipótesis específica 2

Hipótesis estadística 2

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 8. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de *Citrus aurantifolia* al 75% sobre *S. mutans* a las 24, 48 y 72 horas.

| Sustancia de prueba | Valor p | | |
|---|----------|----------|----------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 75% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Toma de decisión:

El valor de p fue de 0,000 en los tres periodos evaluados, el cual es menor al valor alfa ($\alpha=0,05$), para la comparación de la semilla de *Citrus aurantifolia* al 75% con la actividad nula de escala de sensibilidad de Duraffourd, lo cual evidenció que existió efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. Por ello, con el 95 % de confianza, se pudo afirmar que “Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 75% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas”.

Prueba de hipótesis específica 3

Hipótesis estadística 3

H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 100% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas.

H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 100% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 9. Prueba U de Mann Whitney para el efecto antibacteriano de semillas de *Citrus aurantifolia* al 100% sobre *S. mutans* a las 24, 48 y 72 horas.

| Sustancia de prueba | Valor p | | |
|--|----------|----------|----------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Citrus aurantifolia al 100% vs. Actividad nula de Escala de Duraffourd | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Toma de decisión:

El valor de p fue de 0,000 en los tres periodos evaluados, el cual es menor al valor alfa ($\alpha=0,05$), para la comparación de la semilla de *Citrus aurantifolia* al 100% con la actividad nula de escala de sensibilidad de Duraffourd, lo cual evidenció que existió efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*.

Con el 95 % de confianza, se pudo afirmar que “Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 100% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas”.

4.2. Discusión

En este estudio, se utilizaron las diferentes concentraciones de las semillas de *Citrus aurantifolia* para examinar la efectividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y se encontró efectividad antibacteriana a las 24, 48 y 72 horas que respaldan la aprobación de la hipótesis del estudio; se obtuvo efectividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans*, comparado con el grupo control positivo empleado (digluconato de clorhexidina al 0,12%).

Se observó que en las 24, 48 y 72 horas frente a *S. mutans* ATCC 25175 las semillas de *Citrus aurantifolia* al 100% presentó promedio de $(28,91 \pm 4,958\text{mm})$ $(28,79 \pm 4,956\text{mm})$ $(28,67 \pm 4,959\text{mm})$ respectivamente, al 75% $(19,64 \pm 3,326\text{mm})$ $(19,53 \pm 3,322\text{mm})$ $(19,39 \pm 3,306\text{mm})$ respectivamente y al 50% $(12,94 \pm 1,675\text{mm})$ $(12,81 \pm 1,657\text{mm})$ $(28,67 \pm 4,959\text{mm})$ respectivamente y el control positivo de ensayo, digluconato de clorhexidina al 0,12%, tuvo un promedio de $22,10 \pm 1,031\text{mm}$; $21,97 \pm 1,059\text{mm}$ y $21,86 \pm 1,050\text{mm}$ en los tres tiempos evaluados respectivamente, siendo similar a lo obtenido por **Romero (2020)** donde las mediciones del el diámetro medio de los halos para *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue de 17,4 mm al 75%, 28,3 mm al 100%, 24,5 mm para clorhexidina al 0,12% (14), esta similitud se puede deber a que se utilizó la técnica de Kirby-Bauer y se colocaron discos de filtro en placas con agar Mueller-Hinton; los resultados de **Espinoza et al. (2022)** demostró la acción antibacteriana del Limón al 75% y 100% con medidas de 47,96 mm y 16,31 mm, respectivamente (11) similar a este estudio sin embargo, debemos considerar que evaluaron cepas de *Cutibacterium acnes* ATCC 6919 que es un bacilo grampositivo anaeróbico que forma parte de la flora comensal de la piel, predominantemente en las glándulas sebáceas, así mismo los resultados de **Denkova-Kostova et al (2020)** evidenciaron que el aceite de cáscara de limón presenta actividad antimicrobiana frente a microorganismos saprofitos y patógenos (12).

Espinel (2020) por su lado, encontró que los aceites básicos de limón tienen propiedades antibacterianas e indican que *C. aurantifolia* mostró una actividad de control superior frente a *S. aureus*, mientras que *C. lantifolia* mostró una actividad de control superior frente a *E. coli* (13) coincidiendo con los resultados sobre la acción antibacteriana en diferentes concentraciones y debemos mencionar que el estudio de Espinel evaluó otras bacterias, lo que bien podría haber influido en la concentración de los componentes químicos antibacterianos.

Sin embargo, estos resultados discrepan con el estudio realizado por **Sánchez et al. (2018)** quién evaluó diferentes tipos de limón entre ellos *el Citrus aurantifolia Swingle*) 25%, 50%, 75% y 100% en agar *Mueller-Hinton* frente a *Staphylococcus aureus* metilino resistente (aislado clínico) y *Streptococcus β-hemolítico del grupo A a ATCC 19615*, y estableció que el efecto inhibitorio de zumo de limón estudiada es evidente, pero ninguna de las variedades estudiadas supera la eficacia antibacteriana in vitro del control positivo a la azitromicina (15). Probablemente estas diferencias se deban a que Sánchez empleó otras bacterias que causan una amplia variedad de infecciones de piel y partes blandas así como faringitis o infecciones cutáneas hasta enfermedades invasivas como bacteriemia, artritis séptica, neumonía, síndrome del shock tóxico o sepsis puerperal así mismo estos resultados discrepan con **Estrada (2017)** quien encontró diámetros de 6,50 mm al 50%, de 13,57 mm al 75% y de 14,78 mm al 100% y estableció que el compuesto tiene actividad antibacteriana al 75% y al 100% de inhibición, pero ninguna actividad al 50% de inhibición (17).

Así mismo, resultados totalmente diferentes al estudio de **Baca y Yábar (2016)** quien para determinar la eficacia midió los halos al cabo de 24 horas y encontraron diámetros de 14.667 mm para el aceite de *Citrus aurantifolia swingle* demostrando que el aceite esencial del limón no tiene actividad antibacteriana (18)

Respecto al *Streptococcus mutans* se puede decir que es sumamente sensible (+++) frente al *Citrus aurantifolia* al 100% y digluconato de clorhexidina al 0,12%, según la escala de Duraffourd; Asimismo, *S. mutans* es muy sensible (++) y sensible (+) a *Citrus aurantifolia* al 75% y *Citrus aurantifolia* al 50%, respectivamente según dicha escala de sensibilidad antes mencionada a las 24, 48 y 72 horas de estudio discrepando con los encontrados por **Estrada (2017)** quien encontró que en la escala de Duraffourd, el aceite presentaba una eficacia antibacteriana al 75% y al 100% con una sensibilidad de (+) y ++ respectivamente. En consecuencia, esta investigación descubrió que la eficacia antibacteriana del aceite esencial de Citrus limón a una concentración del 50% contra *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM era nula (-) (17).

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Primera:

Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle en las concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre el *Streptococcus mutans* a las 24, 48 y 72 horas; donde el efecto antibacteriano de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100% fue mayor en los tres periodos de tiempo evaluados, así mismo se evidencia que el mayor efecto antibacteriano frente a *S. mutans* fue a las 24 horas para las tres concentraciones y también, para el digluconato de clorhexidina al 0,12%, el cual fue el control positivo del ensayo.

Segunda:

Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 50% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas; donde el *S. mutans* fue sensible frente a las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 50%.

Tercera:

Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 75% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas; donde el *S. mutans* fue muy sensible frente a las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 75%.

Cuarta:

Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a 100% sobre el *Streptococcus mutans*, a las 24, 48 y 72 horas; donde el *S. mutans* fue sumamente sensible frente a las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100%.

5.2. Recomendaciones

Primera:

Se recomiendan incrementar la producción del extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) por tener actividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* causante de enfermedades orales.

Segunda:

Se sugiere realizar futuras investigaciones analizando las diferentes concentraciones en otros tipos de bacterias del medio bucal.

Tercera:

Se recomienda continuar evaluando el extracto de las semillas de *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil), posteriormente, identificar y aislar los metabolitos secundarios causantes de tal efecto.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales (en línea) 2004. (Citado el 11 de enero 2024) Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
2. Piña R., Laurel L., Ortíz Y., Marcel A. y Hernández M. Caracterización fitoquímica de extractos obtenidos a partir de hojas y corteza de *Spondias mombin* (jobo), su relación con las propiedades medicinales de esta especie. Universidad de Granma. Bayamo. Granma, Cuba 2016; 20(2). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2016/mul162a.pdf>
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos (en línea) 2017. (Citado el 11 de enero 2024) Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
4. Palomer L. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. Rev. Chil. Pediatr. [Internet]. 2006 Feb [citado 2024 enero 12] ; 77(1): 56-60. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062006000100009&lng=es.
5. Espinel A. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tres especies de Citrus limon contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis]. Ecuador. Universidad Agraria del Ecuador; 2020 [Citado el 12 de enero de 2024]. Disponible en: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ESPINEL%20OBREGOSO%20ANDREA%20JUDITH.pdf>
6. Figueroa M, Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. Rev. Odont Ven [Internet]. 2008 Jun [citado 2024 enero 13]; 4

- (1): 14. Disponible en:
https://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/1/microorganismos_progresion_lesion_caries_dental.asp Fundación Acta Odontológica Venezolana.
7. Márquez-Pérez K, Zúñiga-López CM, Torres-Rosas R, Argueta-Figueroa L. Prevalencia reportada de caries dental en niños y adolescentes mexicanos [Reported prevalence of dental caries in Mexican children and teenagers]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2023 Sep 4;61(5):653-660. Spanish. doi: 10.5281/zenodo.8316465. PMID: 37769137; PMCID: PMC10599778.
 8. Gonzales N, Lopez C. Efecto de la liberación de *Ceraeochrysa cincta* sobre el control de insectos picadores-chupadores en el cultivo de Mango (*Mangifera indica* L) y Limonero (*Citrus aurantifolia* Swingle), en Jayanca distrito de Lambayeque. [Tesis pregrado]. Lambayeque. Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo”; 2017
 9. Estada A. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial Citrus Limón en diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus Mutans*. [Tesis]. Cusco. Universidad Andina del Cusco; 2017. Disponible en:
<http://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/UAC/1409/1/RESUMEN.pdf>
 10. Ojeda J, Oviedo E, Salas A. *Streptococcus mutans* and dental caries. *CES Odontol.* [Internet]. 2013 Jan [cited 2024 febrero 01] ; 26(1): 44-56. Available from:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005&lng=en.
 11. Espinoza A, Huiñac M, Flores O. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de la cáscara de citrus x limón (Limón) frente a *Cubibacterium acnés* ATCC 6919 in vitro. [Tesis de titulación]. Lima]: Universidad María Auxiliadora; 2022. Disponible en:
<https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1160/TESIS%20ESPINOZA-HUI%C3%91AC.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

12. Denkova-Kostova R, Teneva D, Tomova T, Goranov B, Denkova Z, Shopska V, Slavchev A, Hristova-Ivanova Y. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Z Naturforsch C J Biosci.* 2020 Nov 23;76(5-6):175-185. doi: 10.1515/znc-2020-0126. PMID: 33909955.
13. Espinel A. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tres especies de Citrus limon contra *Escherichia coli* y *staphylococcus aureus*. [Tesis de titulación]. Milagro: Universidad agrarian del Ecuador; 2020. Disponible en: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ESPINEL%20OBREGOSO%20ANDREA%20JUDITH.pdf>
14. Romero T. Efecto antibacteriano del aceite esencial de citrus Limón (Limón) al 75% y 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 Trujillo, 2018. [Tesis de titulación]. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2020. Disponible en: https://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/19145/ANTIBACTERIANO_MUTANS_ROMERO_CASTILLO_YEIMY_JANNY.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Sánchez S, Vásquez D, Pacheco A. Actividad antibacteriana in vitro del jugo de limón persa (*citrus latifolia* Tanaka), criollo (*citrus aurantifolia* Swingle), real (*citrus limón burm*), Lima (*citrus limeta* risso) y jugo de limón comercializado (rabinal) contra *Staphilococcus aureus* meticilino resistente y *streptococcus* B-hemolítico del grupo “A” ATCC 19615. [Tesis de titulación]. Guatemala: Universidad de San Carlos; 2018. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/05/05_10978.pdf

16. Sun Y, Chen S, Zhang C, Liu Y, Ma L, Zhang X. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of lemon essential oil on the acid tolerance and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*. 2018 Mar;87:235-241. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.12.028. Epub 2017 Dec 29. PMID: 29331510.
17. Estada A. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial Citrus Limón en diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus Mutans*. [Tesis de titulación]. Cusco. Universidad Andina del Cusco; 2017. Disponible en: <https://repositorio.uandina.edu.pe/handle/20.500.12557/1409>
18. Baca L, Yábar A. Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de: *foeniculum vulgare* (hinojo), *cimbopogon citrus* (hierba luisa), *origanum vulgare* (oregano), *citrus aurantifolia* swingle (limon) y *citrus sinensis* (naranja), frente a cepas estandarizadas de *streptococcus mutans*, CUSCO 2016. [Tesis de titulación]. Cusco. Universidad Andina del Cusco; 2016. Disponible en: https://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12557/559/Lisseth_Adriana_Tesis_bachiller_2016.pdf?sequence=3&isAllowed=y
19. Duque J, Pérez A, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2006 Mar [citado 2024 enero 20]; 43(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007&lng=es..
20. Figueroa M, Alonso, Guillermina; Acevedo A. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. [Internet] 2009 Jun [Citado el 20 de enero de 2024]; 47 (3); 34-37. Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-27/>.
21. Ojeda J, Oviedo E, Salas A. *Streptococcus mutans* and dental caries. *CES Odontol*. [Internet]. 2013 Jan [cited 2024 enero 24] ; 26(1): 44-56. Available from:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005&lng=en.

22. Mejía C, Kember, Rengifo S, Elsa E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana 2da Ed. Tarea Asociación Gráfica Educativa. 2000.
23. Juárez J, Castro A, Jaúregui J, Lizano J, Carhuapoma M, Choquesillo F, Félix L, Cotillo P, López J, Jaramillo M, Córdova A, Ruíz J, Ramos N. Composición química, actividad antibacteriana del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. (Naranja dulce) y formulación de una forma farmacéutica. CI [Internet]. 2010 [citado 20 enero 2024];13(1):9-3. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3157>.
24. Arriola E. Estudio Preliminar de las Propiedades de la Semilla de Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) para su Posible Aprovechamiento. La Serena [revista en la Internet]. 2006 [citado 2024 en 21] v. 17(1) 97-102. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642006000600015&script=sci_arttext&lng=en.
25. Bernal C. Metodología de la investigación. 3.^a ed. Pearson; 2010.
26. Hernández Sampieri R. Fernández Collado C, Baptista Lucio M. Metodología de la Investigación. 6a ed. México: Mc-Graw-Hill; 2014.
27. Muñoz C. Como elaborar y asesorar una investigación de tesis. Segunda Edición. México, Pearson, 2011.
28. Valderrama S. Pasos para elaborar proyectos y tesis de investigación científica. Editorial San Marcos; (2017).
29. Otzen T, Manterola C. Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. Int. J. Morphol. [Internet]. 2017 Mar [citado 2025 Feb 24]; 35(1): 227-232. Disponible

- en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000100037&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>.
30. Barragán J. Actividad de inhibición del extracto de Limón en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% frente a streptococcus mutans en 20 muestras in vitro. Facultad de Odontología. Quito; 2018.
31. Oliveira A, Rabelo M, Bispo Reis Di Iorio F, Pereira C, Cardoso A. The antimicrobial effects of Citrus limonum and Citrus aurantium essential oils on multispecies biofilms, Braz. Oral Res.2014; 28(1):22-27.
32. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Lozada O, Acuña L, Arellano C. La investigación científica. Una aproximación para los estudios de posgrado. Universidad Internacional del Ecuador; 2020.
33. Briceño G, García J, Maselli A, Rosales LC. Efecto de extractos etanólicos de Ruda y Neem sobre el control de bacterias fitopatógenas del género Erwinia. Agronomía Trop. [Internet]. 2011 [citado 08 de julio del 2024]; 61(2): 141-148. Disponible en: <https://ve.scielo.org/pdf/at/v61n2/art05.pdf>
34. Pacheco CF. Obtención y caracterización del aceite esencial de Manzanilla (Matricaria recutita L.), mediante microondas y arrastre con vapor [tesis de titulación]. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina, 2021 [citado 08 de julio del 2024]. 107p. Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/4624/pacheco-ferrer-claudia-fernanda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
35. Manzini J. Declaración De Helsinki: Principios Éticos Para La Investigación Médica Sobre Sujetos Humanos. [Internet] Acta Bioethica. 2000; 6(2) https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2000000200010

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

| FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS | VARIABLES | DISEÑO METODOLÓGICO |
|--|---|--|---|---|
| <p>Problema general:</p> <p>¿Qué efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?</p> <p>Problema específicos</p> <p>1- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?</p> <p>2- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?</p> <p>3- ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas?</p> | <p>Objetivo general:</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1- Establecer el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 50% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> <p>2- Establecer el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 75% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> <p>3- Identificar el efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a 100% sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> | <p>H₁ Existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> <p>H₀ No existe efecto antibacteriano del extracto de las semillas de citrus aurantifolia swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans, a las 24, 48 y 72 horas.</p> | <p>Efecto antibacteriano sobre streptococcus mutans.</p> <p>Extracto de semillas de citrus aurantifolia swingle (limon)</p> | <p>33.1. Método de la investigación: Método hipotético - deductivo partiendo de un conjunto dado de principios.</p> <p>3.2. Enfoque de la investigación: Enfoque cuantitativo, implicó la evaluación cuantitativa de variables en múltiples dimensiones utilizando indicadores apropiados.</p> <p>3.3. Tipo de investigación: Aplicada realizando un análisis exhaustivo del tema, delimitando el fenómeno específico objeto de investigación y estableciendo una metodología estructurada para el proceso de investigación.</p> <p>3.4. Diseño de la investigación: Diseño experimental El investigador intervino sobre una variable para modificar un resultado, con fines de observar una relación causal. Corte Longitudinal: Se realizó un seguimiento a los mismos sujetos de estudio por un largo periodo de tiempo,</p> |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| | | | | <p>esto permitió ver la evolución de características y variables observadas.</p> <p>Prospectivo: El inicio del estudio es anterior a los hechos estudiados, los datos se recopilan a medida que se van obteniendo.</p> |
|--|--|--|--|--|

Anexo 2: Instrumento de recolección de datos



Universidad
Norbert Wiener

“FICHA DE RECOLECCION DE DATOS”

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS DEL
CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE (LIMON SUTIL) A DIFERENTES
CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS”**

| N° de repeticiones | Semillas de citrus aurantifolia swingle (limon) | | | Control |
|--------------------|---|-----|------|---------|
| | 50% | 75% | 100% | |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |
| 6 | | | | |
| 7 | | | | |
| 8 | | | | |
| 9 | | | | |
| 10 | | | | |

Anexo 03: Validación del instrumento



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Omar Minaya Rondón
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente Universidad Norbert Wiener
 1.3 Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos.
 1.4 Autor del instrumento: Arellano Brandán, Ruilita Adeli.
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS DEL CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE (LIMON SUTIL) A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS.

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

| | CRITERIOS | Deficiente 1 | Baja 2 | Regular 3 | Buena 4 | Muy buena 5 |
|---|--|--------------|----------|-----------|-----------|-------------|
| 1. CLARIDAD | Está formulado con lenguaje apropiado. | | | | X | |
| 2. OBJETIVIDAD | Está expresado en conductas observables | | | | X | |
| 3. ACTUALIDAD | Adecuado al avance de la ciencia y tecnología | | | | X | |
| 4. ORGANIZACIÓN | Existe una organización lógica. | | | | X | |
| 5. SUFICIENCIA | Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems | | | | X | |
| 6. INTENCIONALIDAD | Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas. | | | | X | |
| 7. CONSISTENCIA | Alineado a los objetivos de la investigación y metodología | | | | X | |
| 8. COHERENCIA | Entre los índices, indicadores y las dimensiones. | | | | X | |
| 9. METODOLOGÍA | La estrategia responde al propósito del estudio | | | | | X |
| 10. PERTINENCIA | El instrumento es adecuado al tipo de Investigación. | | | | | X |
| CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala) | | | | | 32 | 10 |
| | | A | B | C | D | E |

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 0.84$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubi que el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

| Categoría | Intervalo |
|-------------|---------------|
| Desaprobado | [0,00 – 0,60] |
| Observado | <0,60 – 0,70] |
| Aprobado | <0,70 – 1,00] |

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lima, 06 de abril del 2024.


 Mg. CD. Minaya rondón Omar
 Docente / Metodólogo
 DNI 25713506

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Chilón Minaya Ledý Johanna
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente Universidad Norbert Wiener
 1.3 Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos.
 1.4 Autor del instrumento: Arellano Brandán, Ruilita Adeli
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS DEL CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE (LIMON SUTIL) A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS.

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

| | CRITERIOS | Deficiente 1 | Baja 2 | Regular 3 | Buena 4 | Muy buena 5 |
|---|--|-----------------|-----------|--------------|------------|----------------|
| 1. CLARIDAD | Está formulado con lenguaje apropiado. | | | | X | |
| 2. OBJETIVIDAD | Está expresado en conductas observables. | | | | X | |
| 3. ACTUALIDAD | Adecuado al avance de la ciencia y tecnología. | | | | X | |
| 4. ORGANIZACIÓN | Existe una organización lógica. | | | | X | |
| 5. SUFICIENCIA | Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems. | | | | X | |
| 6. INTENCIONALIDAD | Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas. | | | | X | |
| 7. CONSISTENCIA | Alineado a los objetivos de la investigación y metodología. | | | | X | |
| 8. COHERENCIA | Entre los índices, indicadores y las dimensiones. | | | | X | |
| 9. METODOLOGÍA | La estrategia responde al propósito del estudio. | | | | | X |
| 10. PERTINENCIA | El instrumento es adecuado al tipo de Investigación. | | | | | X |
| CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala) | | | | | 32 | 10 |
| | | A | B | C | D | E |

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 0.84$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubi que el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

| Categoría | Intervalo |
|-------------|---------------|
| Desaprobado | [0,00 – 0,60] |
| Observado | <0,60 – 0,70] |
| Aprobado | <0,70 – 1,00] |

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Lima, 5 de abril del 2024


 Docente / Metodólogo
 DNI 40505773

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Enzo Renato Viale Oré
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente Universidad Norbert Wiener
 1.3 Nombre del instrumento motivo de evaluación: Instrumento de recolección de datos.
 1.4 Autor del instrumento: Arellano Brandán, ruilita Adeli
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS DEL CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE (LIMON SUTIL) A DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS.

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

| | CRITERIOS | Deficiente 1 | Baja 2 | Regular 3 | Buena 4 | Muy buena 5 |
|---|--|-----------------|-----------|--------------|------------|----------------|
| 1. CLARIDAD | Está formulado con lenguaje apropiado. | | | | X | |
| 2. OBJETIVIDAD | Está expresado en conductas observables. | | | | X | |
| 3. ACTUALIDAD | Adecuado al avance de la ciencia y tecnología. | | | | X | |
| 4. ORGANIZACIÓN | Existe una organización lógica. | | | | X | |
| 5. SUFICIENCIA | Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems. | | | | X | |
| 6. INTENCIONALIDAD | Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas. | | | | X | |
| 7. CONSISTENCIA | Alineado a los objetivos de la investigación y metodología. | | | | X | |
| 8. COHERENCIA | Entre los índices, indicadores y las dimensiones. | | | | X | |
| 9. METODOLOGÍA | La estrategia responde al propósito del estudio. | | | | | X |
| 10. PERTINENCIA | El instrumento es adecuado al tipo de Investigación. | | | | | X |
| CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala) | | | | | 32 | 10 |
| | | A | B | C | D | E |

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = 0.84$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

| Categoría | Intervalo |
|-------------|---------------|
| Desaprobado | [0,00 – 0,60] |
| Observado | <0,60 – 0,70] |
| Aprobado | <0,70 – 1,00] |

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Lima, 09 de abril del 2023



Enzo Renato Viale Oré
 Cirujano Dentista
 C.O.E 15483
 Docente
 DNI 15431063

Anexo 4: Confiabilidad del instrumento (Calibración)

Coefficiente de Kappa para especialista y bachiller

| Variable | n | calibración | % de concordancia | Kappa | P valor |
|-------------------------------------|---|----------------|-------------------|-------|---------|
| Citrus aurantifolia swingle al 100% | 1 | Interevaluador | 100% | 1.00 | <0.01 |
| Citrus aurantifolia swingle al 75% | 1 | Interevaluador | 100% | 1.00 | 1.00 |
| Citrus aurantifolia swingle al 50% | 1 | Interevaluador | 100% | 1.00 | 1.00 |
| Gluconato de clorhexidina | 1 | Interevaluador | 100% | 1.00 | 1.00 |

Se realizó el análisis estadístico para determinar la medida de acuerdo (concordancia inter evaluador) de la mano con un experto en el tema (Microbiólogo) en la inspección visual de la placa Petri y medición del halo de inhibición.

| Valoración del Índice Kappa | |
|-----------------------------|---------------------------|
| Valor de κ | Fuerza de la concordancia |
| <0,20 | Pobre |
| 0,21-0,40 | Débil |
| 0,41-0,60 | Moderada |
| 0,61-0,80 | Buena |
| 0,81-1,00 | Muy buena |

Tabla II. Escala de interpretación del valor de κ .



Méjico, Oriel Elias Juárez Viquepuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 14090

Anexo 5: Constancia de exoneración del Comité de Ética



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA DE EXONERACIÓN DE REVISIÓN

Lima, 16 de abril de 2024

Investigador(a)
Ruilita Adeli, Arellano Brandan
Exp. N°: 0221-2024

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 antibacteriano del extracto de las semillas del citrus aurantifolia swingle (limon sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans**” Versión 01 con fecha 22/03/2024.

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Ruilita Adeli, Arellano Brandan.

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

Atentamente,



Raul Antonio Rojas Ortega
Presidente del CIEI-UPNW

Avenida Arequipa 440
Universidad Privada Norbert Wiener
Teléfono: 706-5555 anexo 3286-3287 Cel. 981000698
Correo: comite.etica@uwiener.edu.pe

Anexo 6: Informe de asesor

| | | | |
|--|--|------------------------------------|--------------------------|
|  Universidad Norbert Wiener | CARTA DE CONFORMIDAD DE APROBACIÓN DEL ASESOR | | |
| | CÓDIGO: UPNW-EES-FOR-072 | VERSION: 01 REVISIÓN: 01 | FECHA: 11/08/2022 |

Lima, 19de marzo del 2024.

Dra. Yenny Marisol Bellido Fuentes
Presidenta
Comité Institucional de Ética para la Investigación (CIEI)
UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER
Av. República de Chile Nro. 432 Urb. Santa Beatriz
Jesús María. -

"Efecto antibacteriano del extracto de las semillas del citrus aurantifolia swingle (limon sutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans"

Asunto: Conformidad de **Asesor** de Proyecto de tesis

De nuestra consideración,

Me es grato dirigirme a usted para saludarle y a la vez informar en mi condición de Asesor(a) del proyecto de tesis titulado: "Efecto antibacteriano del extracto de las semillas del citrus aurantifoliaswingle(limonsutil) a diferentes concentraciones sobre el streptococcus mutans" presentado por el alumno(a) Ruilita Adeli Arellano Brandan de la Facultad de Ciencias de la Salud - Escuela Académico Profesional de Odontología para optar el grado académico de título profesional, se encuentra con mi CONFORMIDAD como asesor(a) para su revisión.

El alumno(a) ha levantado las observaciones hechas durante el desarrollo de la asesoría de Tesis y su proyecto de investigación aprobado el 17/03/2024 es apto para la evaluación por parte del Comité Institucional de Ética UPNW.

Agradezco de antemano su atención a la presente,

Atentamente,



Nombre del asesor: **Jorge Antonio Enciso Lacunza**
DNI: 42449549

Prohibida la reproducción de este documento, este documento impreso es una copia no controlada.

Anexo 7: Informe de Turnitin

Anexo 8: Prueba de normalidad

Hipótesis de normalidad:

H₀: datos siguen normalidad.

H₁: Datos no siguen normal.

Nivel de significancia: 0.95 % alfa = 0.05

Test de normalidad

Si n > 50: Kolmogorov –Smirnov Si < 50: Shapiro – Wilk.

Criterio de selección

Si p-valor < 0.05 se rechaza la H₀ Si p – valor > 0.05 se acepta la H₀ y se rechaza la H₁

Análisis de Normalidad por Shapiro Wilk (n<50) de las sustancias de prueba frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

| Sustancia de prueba | Valor p | | |
|---|-------------|-------------|-------------|
| | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% | 0,742 | 0,741 | 0,740 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% | 0,232 | 0,244 | 0,280 |
| Aceite esencial de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% | 0,254 | 0,354 | 0,357 |
| Digluconato de clorhexidina al 0,12% | 0,108 | 0,061 | 0,062 |

Se infiere que el conjunto de resultados de los halos de inhibición de las sustancias de prueba a las 24, 48 y 72 horas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 presentan una distribución normal para el aceite esencial de *Citrus aurantifolia* al 100% (p>0.05), aceite esencial de *Citrus aurantifolia* al 75% (p>0.05), aceite esencial de *Citrus aurantifolia* al 50% (p>0.05) y digluconato de clorhexidina al 0,12% (p>0.05). Por lo tanto, se presentaron grupos de resultados con distribución normal, sin embargo, no presentaron homogeneidad de varianzas (p<0,05) para ningunos de los tres tiempos de estudio, por lo cual se recomendó usar estadísticos no paramétricos para analizar los resultados como las pruebas de Kruskal Wallis, Friedman, U de Mann Whitney y Wilcoxon.

Anexo 9: Base de datos



INFORME DE ENSAYO N° SQ240622.01

| | |
|--------------------------------------|--|
| SOLICITUD DE ENSAYO | : SQE 240605.01 |
| SOLICITANTE | : RULITA ADELI ARELLANO BRANDAN |
| DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE | : No indica |
| PROCEGENCIA DE LA MUESTRA | : Preparado por el laboratorio Scientific Quality S.A.C. |
| PROCEDIMIENTO DE MUESTREO | : No aplica |
| IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA | : M1: Aceite esencial de semilla de <i>Citrus aurantifolia</i> al 100% ⁽¹⁾ M2: Aceite esencial de semilla de <i>Citrus aurantifolia</i> al 75% ⁽¹⁾ M3: Aceite esencial de semilla de <i>Citrus aurantifolia</i> al 50% ⁽¹⁾ M4: Digluconato de clorhexidina al 0,12% ⁽²⁾ |
| CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA | : M1: Una (01) unidad de 4mL M2: Una (01) unidad de 4mL M3: Una (01) unidad de 4mL M4: Una (01) unidad de 500mL |
| LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO | : No aplica |
| FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN | : 05 de junio del 2024/ 10:00h |
| CONDICIONES A LA RECEPCIÓN | : Temperatura ambiente |
| FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS | : 05 de junio del 2024 |
| FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS | : 15 de junio del 2024 |
| FECHAS DE EMISIÓN | : 22 de junio del 2024 |

RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

| N° Réplica en placa Petri | Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25176 en milímetros (mm) en agar Mueller Hinton a las 24 horas | | | |
|---------------------------|--|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| 1 | 22,28 | 20,44 | 13,84 | 22,25 |
| 2 | 24,40 | 27,07 | 14,46 | 22,91 |
| 3 | 23,64 | 16,55 | 13,95 | 21,49 |
| 4 | 36,76 | 20,15 | 11,81 | 22,97 |
| 5 | 34,95 | 20,47 | 9,48 | 21,55 |
| 6 | 30,87 | 21,78 | 11,43 | 19,68 |
| 7 | 29,20 | 16,82 | 14,01 | 23,32 |
| 8 | 26,02 | 15,51 | 14,85 | 22,27 |
| 9 | 27,86 | 17,75 | 12,18 | 22,19 |
| 10 | 33,12 | 19,85 | 13,41 | 22,36 |



Los resultados de los ensayos corresponden solo a los(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 actualización o uso indebido del presente informe constituirá un delito contra la fe pública y se regirá por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO N° SQ240622.01

| N° Replicio en placa Petri | Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Staphylococcus mutans</i> ATCC 26175 en milímetros (mm) en agar Mueller Hinton a las 48 horas | | | |
|----------------------------|--|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| 1 | 22,15 | 20,32 | 13,61 | 22,12 |
| 2 | 24,27 | 26,94 | 14,35 | 22,80 |
| 3 | 23,51 | 16,41 | 13,81 | 21,41 |
| 4 | 36,61 | 20,08 | 11,65 | 22,86 |
| 5 | 34,81 | 20,39 | 9,40 | 21,40 |
| 6 | 30,74 | 21,65 | 11,35 | 19,44 |
| 7 | 29,12 | 16,71 | 13,78 | 23,16 |
| 8 | 25,88 | 15,39 | 14,80 | 22,19 |
| 9 | 27,75 | 17,68 | 12,10 | 22,10 |
| 10 | 33,01 | 19,70 | 13,26 | 22,25 |



| N° Replicio en placa Petri | Halo de inhibición de las sustancias de prueba frente a <i>Staphylococcus mutans</i> ATCC 26175 en milímetros (mm) en agar Mueller Hinton a las 72 horas | | | |
|----------------------------|--|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| 1 | 22,00 | 20,18 | 13,40 | 21,98 |
| 2 | 24,14 | 26,71 | 14,24 | 22,68 |
| 3 | 23,38 | 16,27 | 13,70 | 21,34 |
| 4 | 36,45 | 20,00 | 11,40 | 22,75 |
| 5 | 34,74 | 20,30 | 9,29 | 21,29 |
| 6 | 30,65 | 21,57 | 11,30 | 19,35 |
| 7 | 28,98 | 16,52 | 13,64 | 23,05 |
| 8 | 25,81 | 15,25 | 14,66 | 22,04 |
| 9 | 27,63 | 17,62 | 12,06 | 22,02 |
| 10 | 32,90 | 19,51 | 13,15 | 22,10 |

Los resultados de los ensayos corresponden solo a los(los) muestra(s) ensayado(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 explotación o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regirá por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO N° SQ240622.01

| ENSAYOS | NORMA DE REFERENCIA |
|-------------|--|
| ANTEIOGRAMA | TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN AGAR EN PLACAS. (2) |

OBSERVACIONES:

(1): Preparado en el laboratorio Scientific Quality S.A.C.

(2): Marca "Origenes". Lote: 222257. F.V.05/025.

(3): Basado en artículo de Escalante M. (2016) Sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovi* frente al aceite esencial de *Cocco nucifera*. REBOL. 38(1): 38 – 44. Enero – Junio.



Los resultados de los ensayos corresponden solo a los muestra(s) ensajada(s). Los resultados no deben ser utilizados como un certificado de conformidad con normas de producto o como certificado de 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 actualización 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.

CONSTANCIA

Dra. Brenda Vergara Pinto
Directora
E.A.P. Odontología – Universidad Norbert Wiener
Presente.

Estimado:

Es grato dirigirme a usted para comunicarle que la señorita RUILITA ADELI ARELLANO BRANDAN con DNI 47580838, bachiller en Odontología, realizó las pruebas microbiológicas del estudio experimental *in vitro* titulado: "Efecto antibacteriano del extracto de las semillas del *Citrus aurantifolia* swingle (limón sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*". Dicho estudio corresponde a la tesis para obtener el título de Cirujano dentista.


Toda la experimentación y recolección de datos fue realizada entre los días 05 al 15 de junio del presente año y fue supervisado en su totalidad por mi persona, cumpliendo con todos los protocolos de bioética, bioseguridad y control de infecciones requeridos.



Sin otro particular.

Atentamente.




Mglo. Oniel Elías Juárez Vilcapuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 14090

Lima, 03 de julio del 2024

Constancia de eliminación de material de ensayo biocontaminado



CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de tesis "Efecto antibacteriano del extracto de las semillas del *Citrus aurantifolia* swingle (limon sutil) a diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans*" como indica nuestro Instructivo de Tratamiento de material contaminado del Laboratorio de microbiología 103-P02-JL, 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, 03 de julio del 2024




Mglo. Oniel Elias Juarez Vilcapuma
Jefe de Laboratorio
C.B.P. 14090

Ficha técnica del estándar de sulfato de bario Mc Farland 0.5



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 particolar 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.
Confrontare 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 | 1.5×10^8 |
| 1.0 | 3.0×10^8 |
| 2.0 | 6.0×10^8 |
| 3.0 | 9.0×10^8 |
| 4.0 | 12.0×10^8 |

BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. McFarland, 1907. J.Am.Med.Assoc.49:1176.
2. Patella M, Tille, 2014. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 13^a 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

| | | | | | | | |
|-----|--|--|--|--|---|--|----------------------------------|
| LOT | Codice del lotto Batch Code | | Contenuto sufficiente per ≤ 10 usaggi Content sufficient for ≤ 10 tests | | Fabbricante Manufacturer | | Non riutilizzare Do not reuse |
| REF | Numero di catalogo Catalogue Number | | Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Attention, see instructions for use | | Fragile, maneggiare con cura Fragile, handle with care | | |



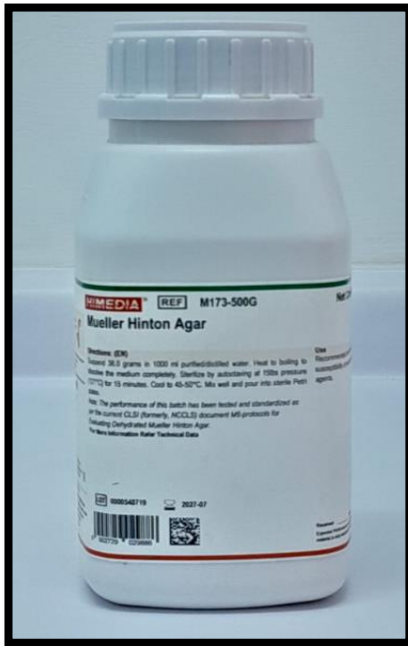
LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scoria, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 085930745 Fax +39 0859300330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

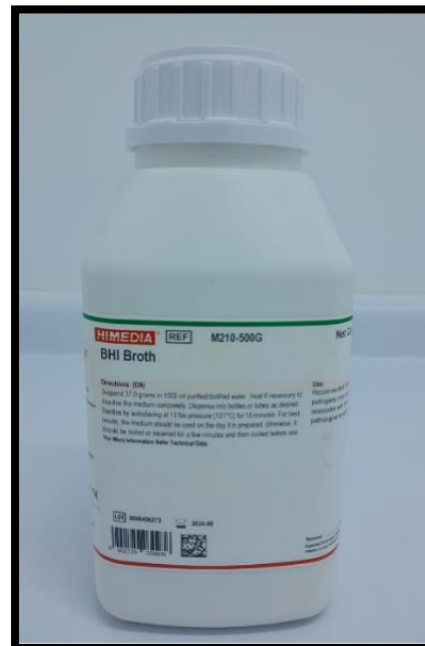
Rev.3 / 10.01.2014

Anexo 10: Fotografías del ensayo

1. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS



Agar Mueller Hinton



Caldo BHI



A.E. de *C. aurantifolia*
100%

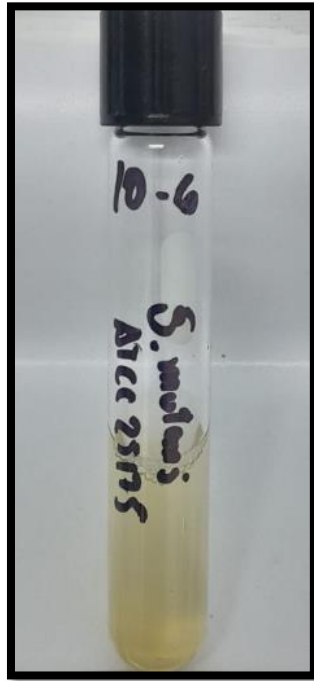


A.E. de *C. aurantifolia*
75%



A.E. de *C. aurantifolia*
50%

2. CEPA MICROBIANA E INSUMOS PARA ANTIBIOGRAMA



CEPA DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en caldo BHI

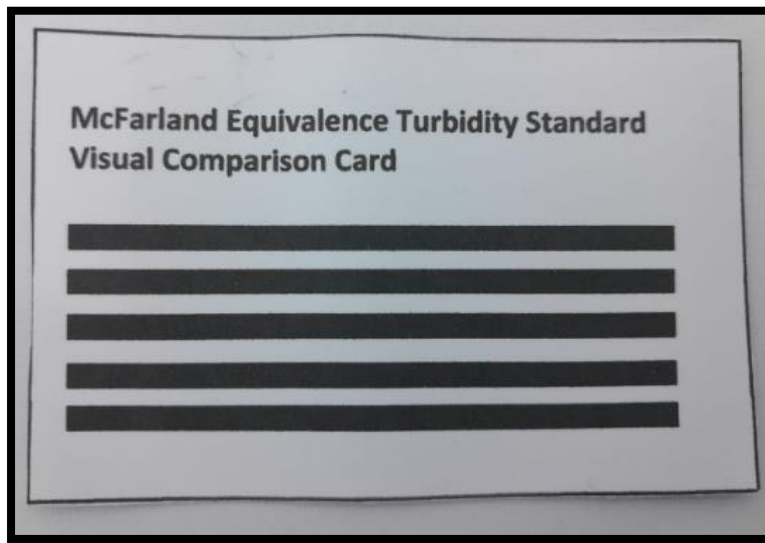


Estándar de turbidez de 0,5 de Mc Farland

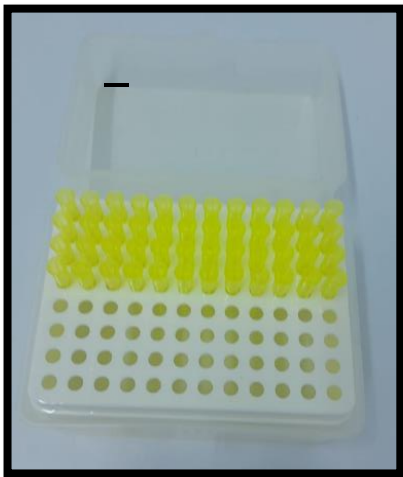


Diguconato de Clorhexidina al 0.12%. Marca "Oralgene"

Tarjeta de comparación visual para el estándar de turbidez McFarland



CAJA CON TIPS PARA MICROPIPETA

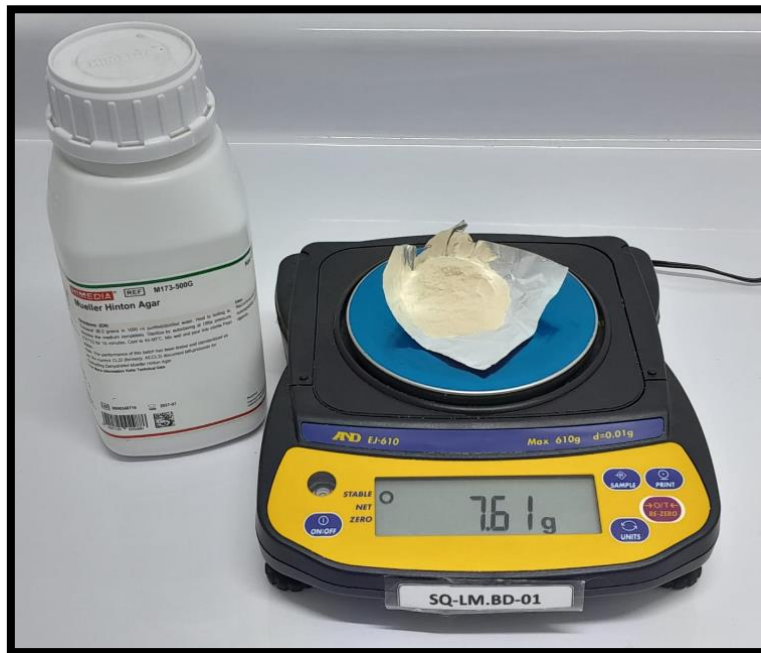


MICROPIPETA

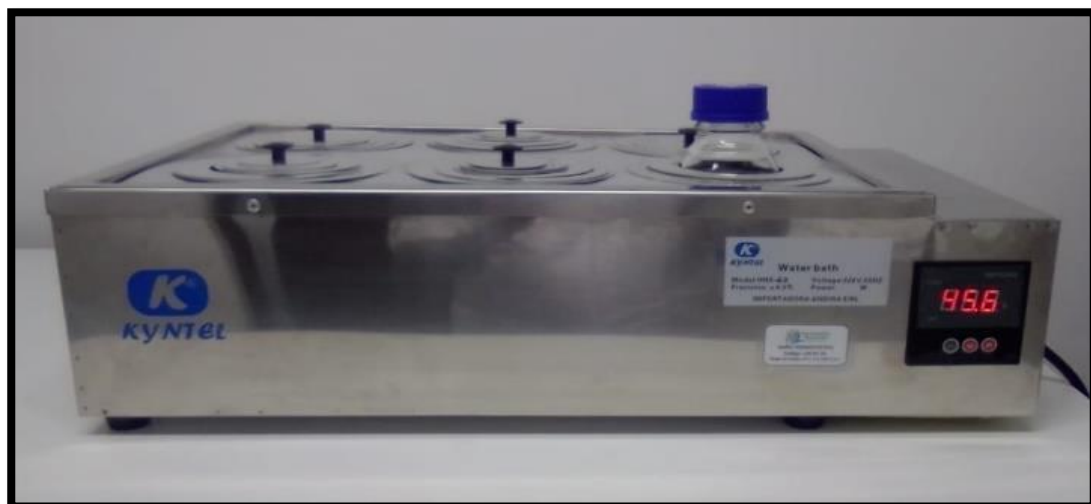


3. PREPARACIÓN DEL AGAR

Pesaje del Agar Mueller Hinton



Luego, el frasco de agar Mueller Hinton se esteriliza por autoclave y se estabiliza en un rango de temperatura de 44°C a 46°C temperatura en baño maría antes de su traslado en placas Petri.



4. Preparación de las tres concentraciones del aceite esencial de *Citrus aurantifolia swingle*



Fruto de *Citrus aurantifolia swingle*



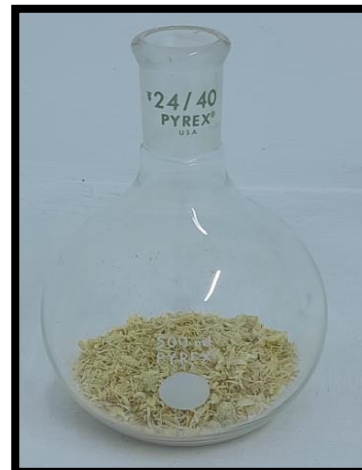
Semilla de *Citrus aurantifolia swingle*



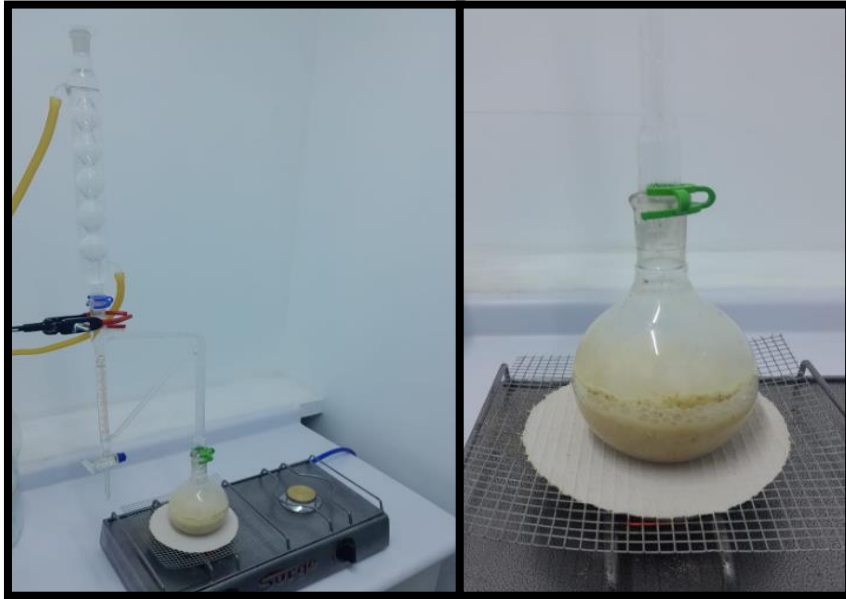
Secado en estufa de semillas



Molienda de semillas de *Citrus aurantifolia swingle*



Semillas molidas de *Citrus aurantifolia swingle*.



Semillas molidas de *Citrus aurantifolia swingle* en balón del aparato Clevenger para comenzar la hidrodestilación por calor de cocinilla

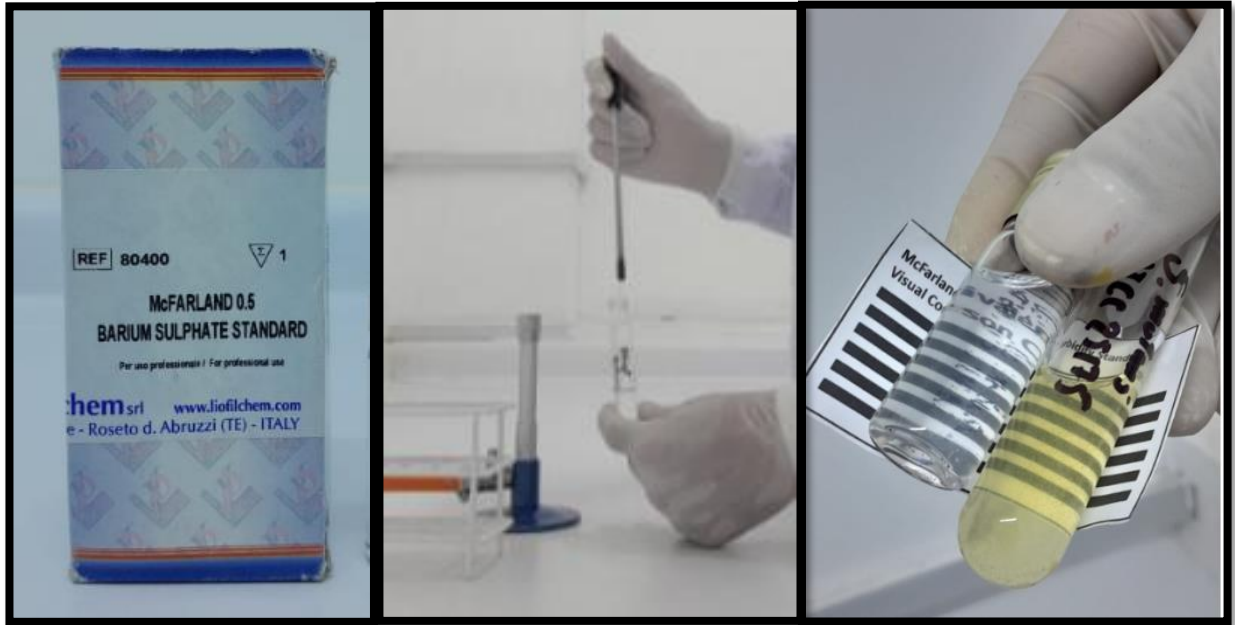


Obtención de aceite esencial de las semillas de *Citrus aurantifolia swingle* del tubo graduado del aparato Clevenger



Diluciones del aceite esencial de las semillas de *Citrus aurantifolia swingle*

5. Comparación de la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25125 con patrón de turbidez 0,5 Mc Farland.



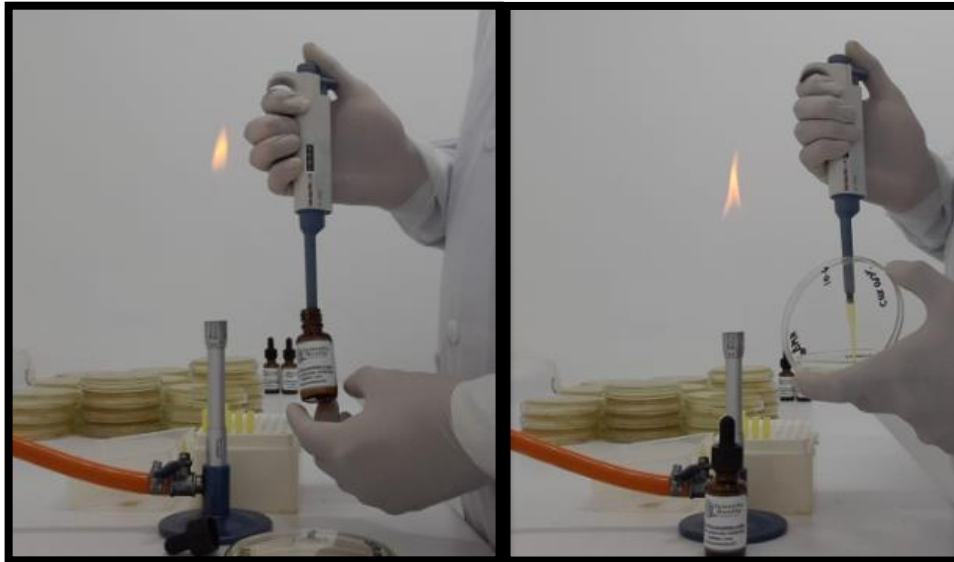
6. Traslado del agar Mueller Hinton (Frasco con medio color ámbar), en esterilidad, a las placas Petri estériles (mechero de bunsen encendido)



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

7. Procedimiento de inoculación de 30uL de las sustancias de prueba, en esterilidad, frente al mechero de Bunsen.

7.1 Inoculación en los pocillos antibiograma con aceite esencial de semilla de *Citrus aurantifolia* al 100%



7.2 Inoculación en los pocillos antibiograma con Diguconato de clorhexidina al 0.12%



8. Colocación de Placas Petri de agar Mueller inoculados con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con las tres de concentraciones del aceite esencial de *Citrus aurantifolia* swingle y control de ensayo en jarra de anaerobiosis para su estudio.

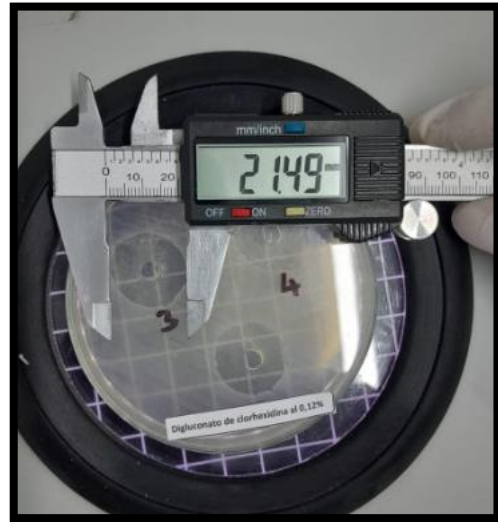


9. Colocación en la incubadora microbiológica de las placas Petri con agar Mueller Hinton inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (en jarra de anaerobiosis) conteniendo las tres de concentraciones del aceite esencial de *Citrus aurantifolia* swingle y control de ensayo en la incubadora a 37°C por los periodos de tiempo de 24, 48 y 72 horas



10. RESULTADOS

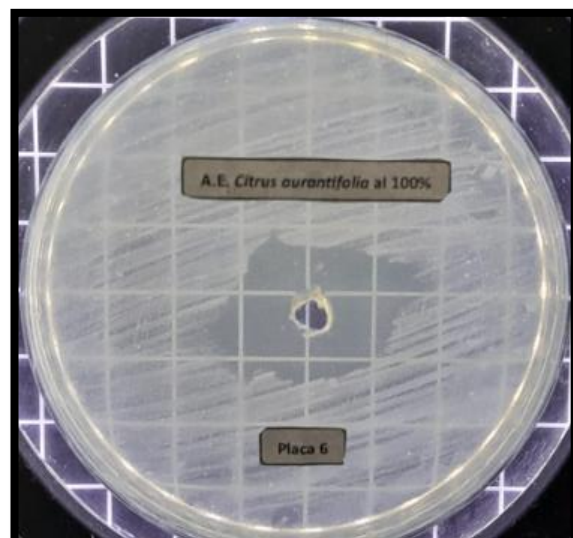
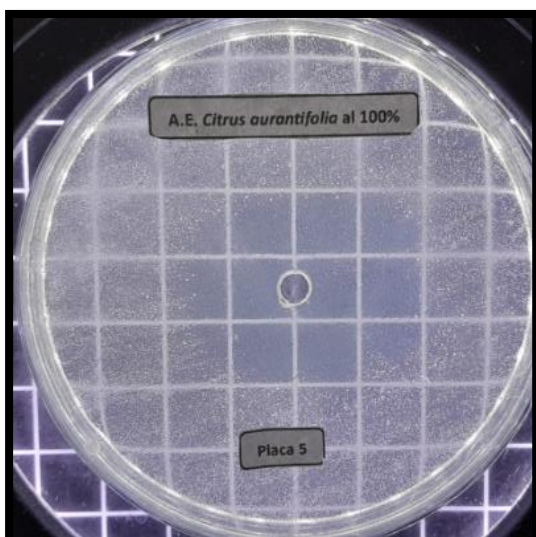
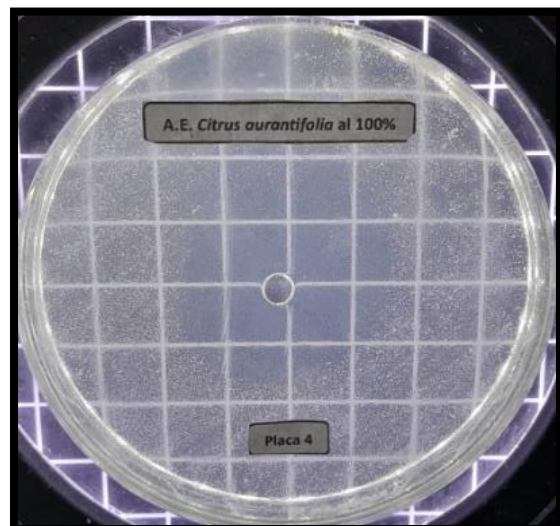
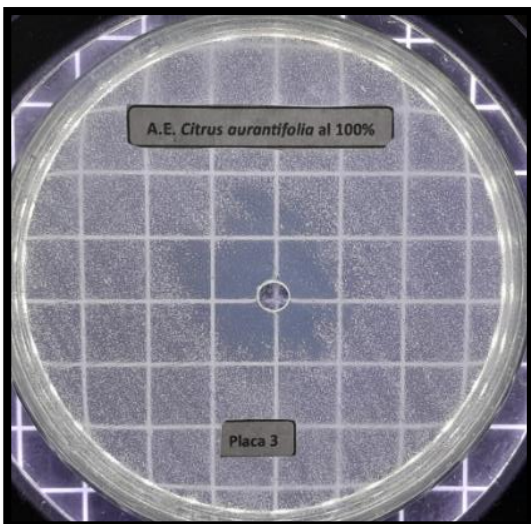
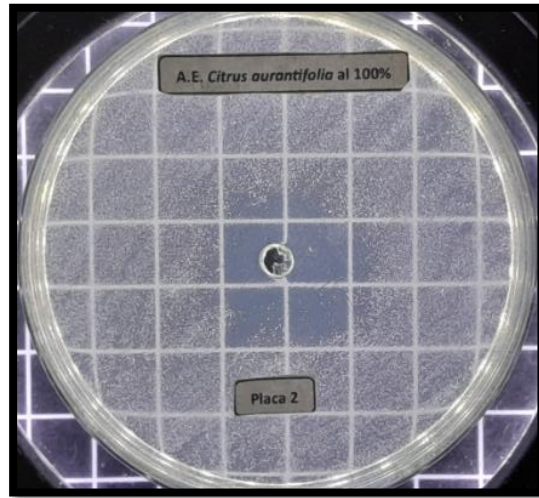
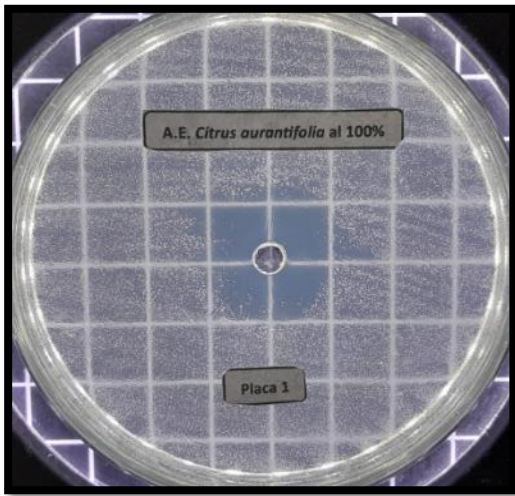
Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacaron del equipo y se midieron con una regla Vernier digital y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias microbiológico de fondo oscuro que dio contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las concentraciones del aceite esencial de *Citrus aurantifolia* Swingle.



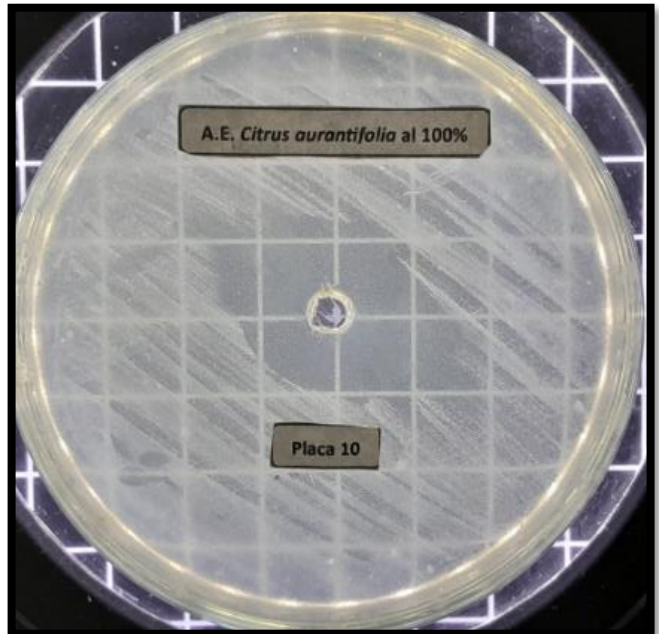
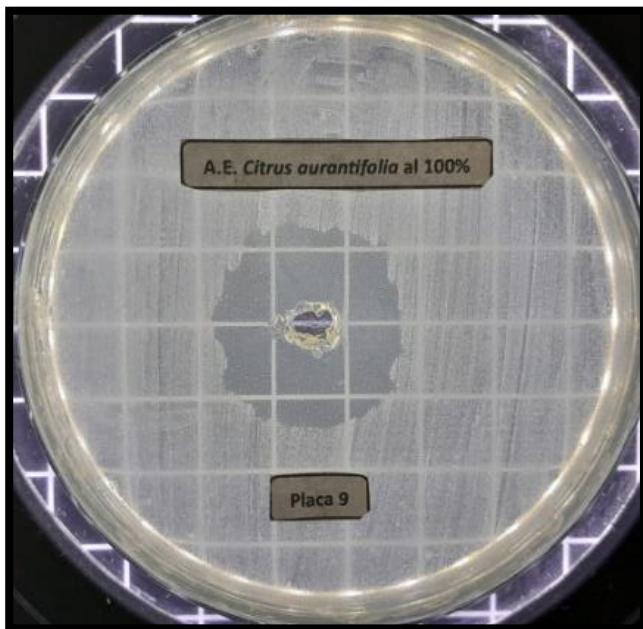
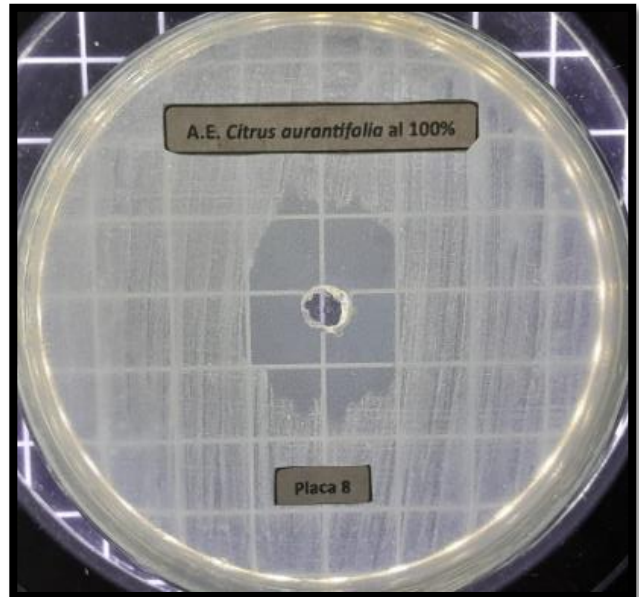
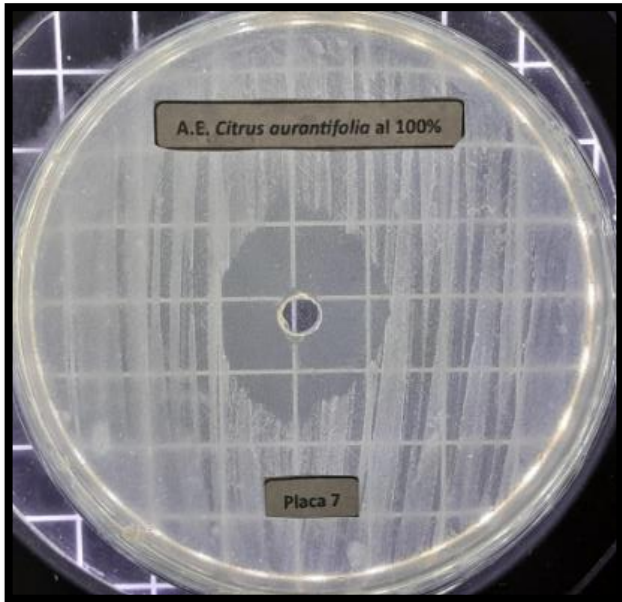
Regla Vernier digital



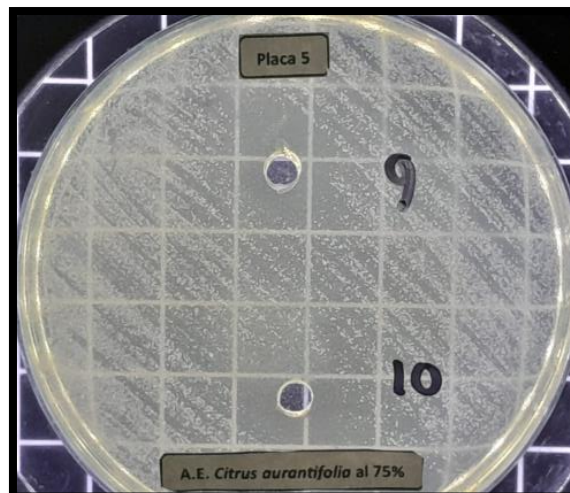
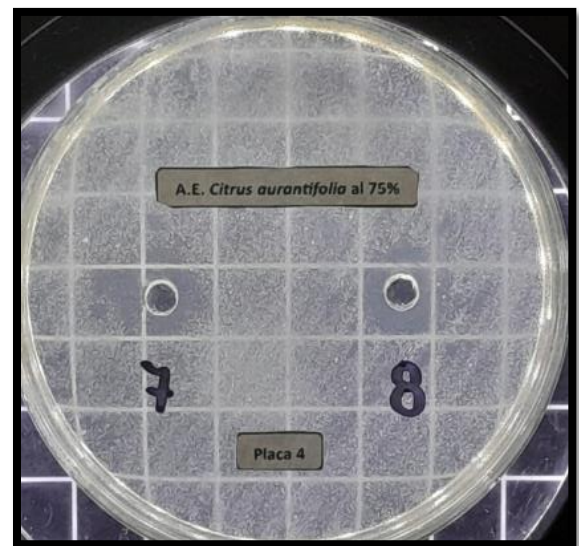
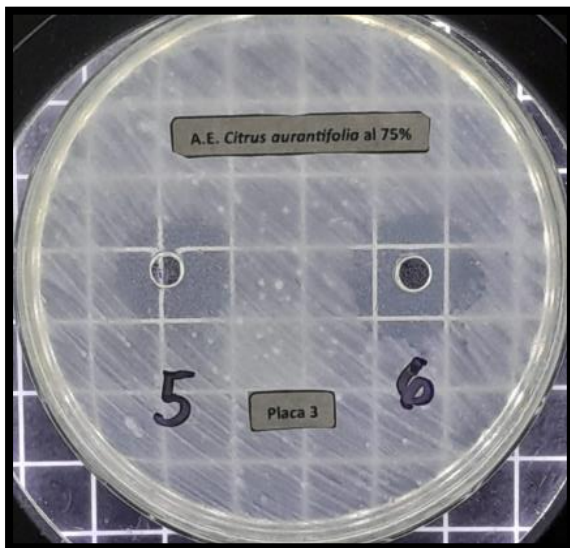
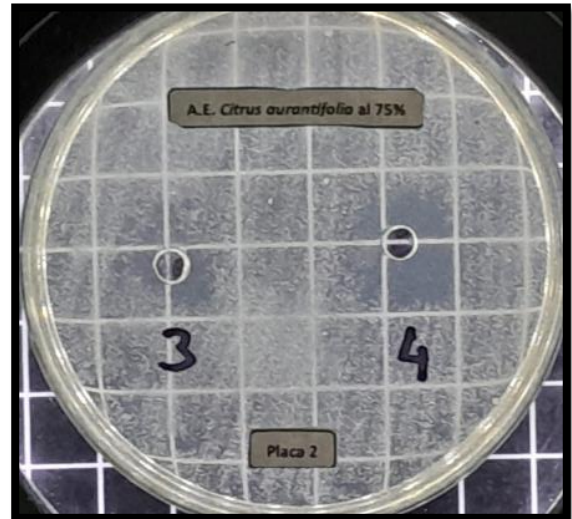
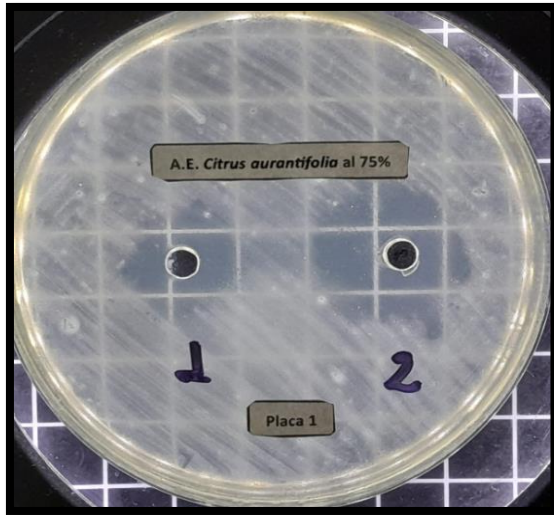
10.1 Fotografías de placa Petri con Agar Mueller Hinton con el aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas



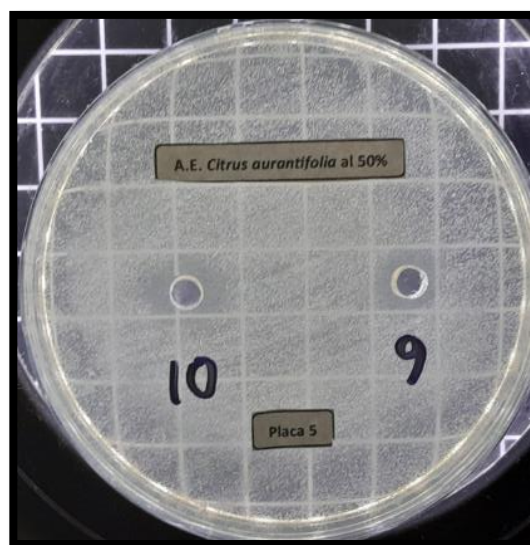
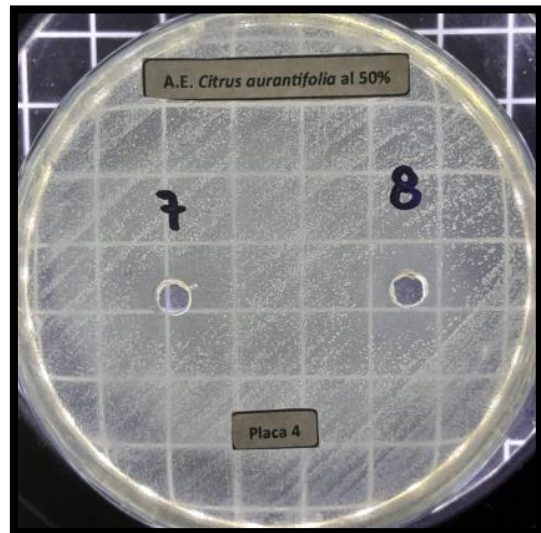
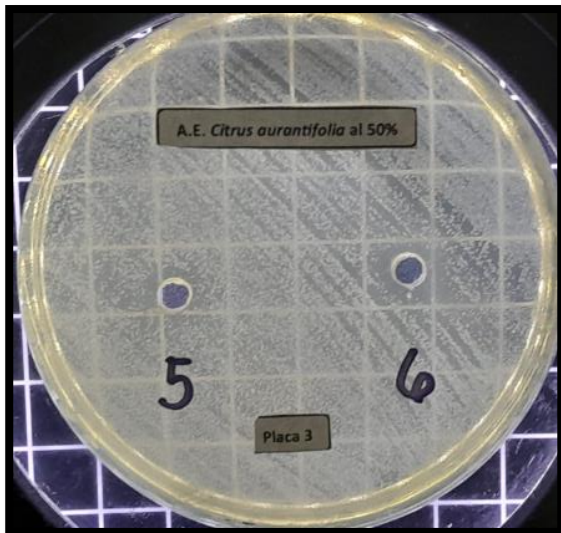
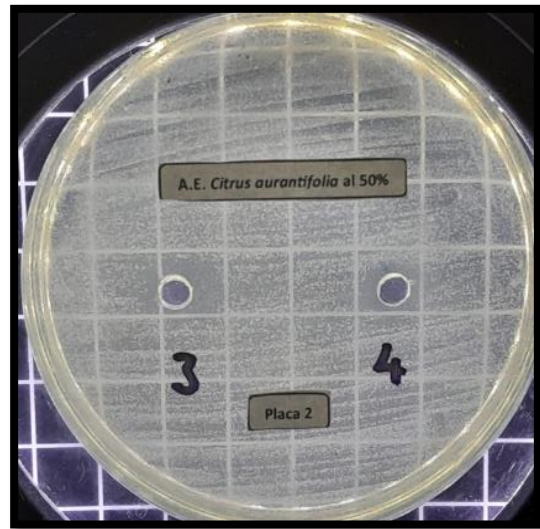
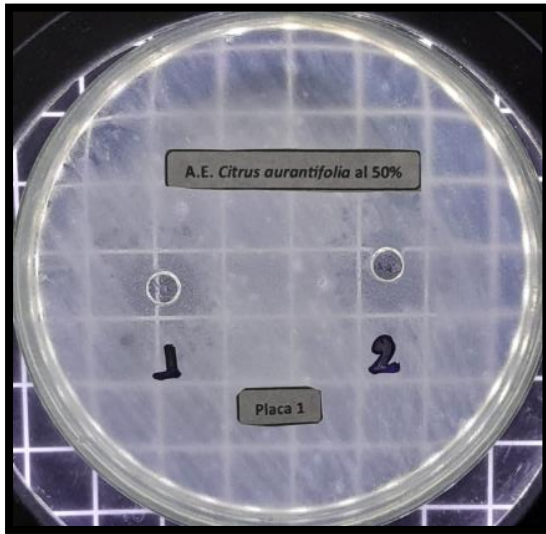
10.2 Fotografías de placa Petri con Agar Mueller Hinton con el aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas



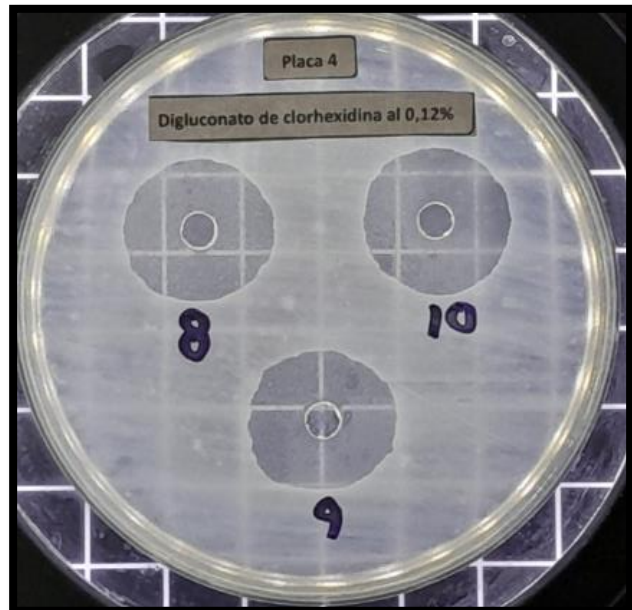
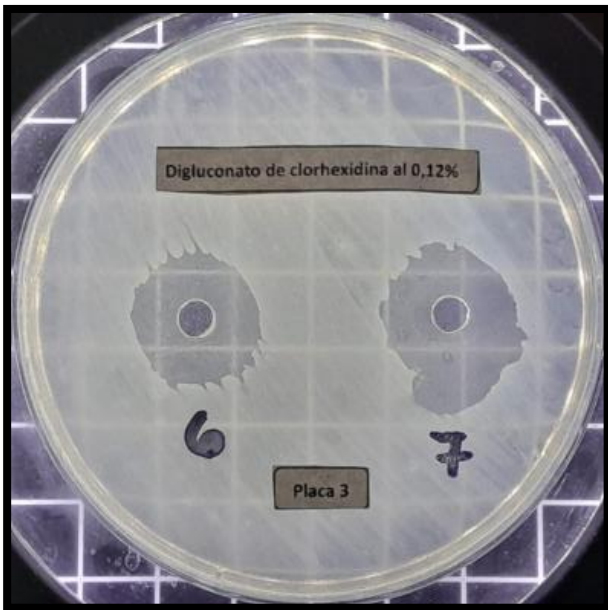
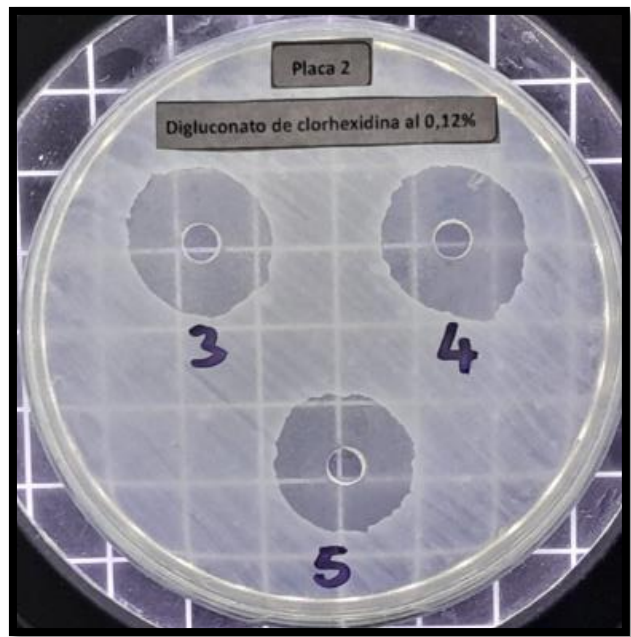
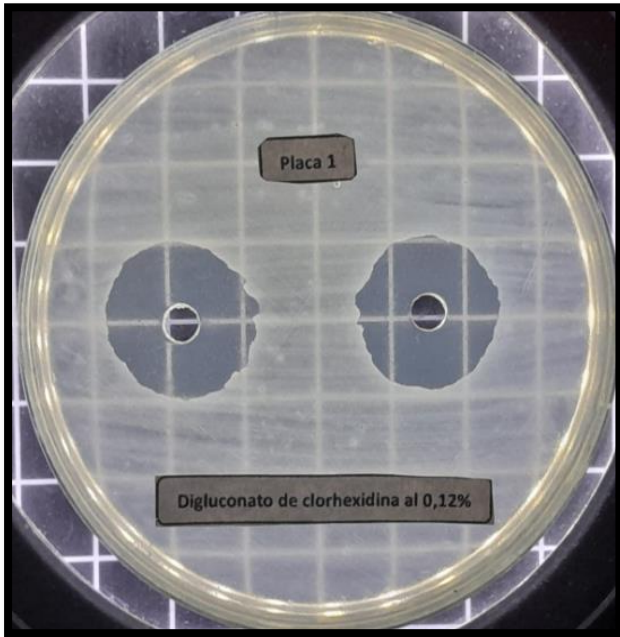
10.3 Fotografías de placa Petri con Agar Mueller Hinton con el aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 75% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas



10.4 Fotografías de placa Petri con Agar Mueller Hinton con el aceite esencial de semillas de *Citrus aurantifolia* swingle al 50% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas.



10.5 Fotografías de placa Petri con agar Mueller Hinton con el aceite esencial de semillas de digluconato de clorhexidina al 0,12% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas



11. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS BIOCONTAMINADOS

Se colocó los materiales biocontaminados incluyendo placas Petri, tubos de ensayos con cultivo de *Streptococcus mutans* en bolsas rojas especiales para esterilización por autoclave.



Luego, la bolsa roja amarrada se introduce en autoclave

● 15% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% 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 | repositorio.uwiener.edu.pe Internet | 3% |
| 2 | Universidad Alas Peruanas on 2019-10-08 Submitted works | 3% |
| 3 | repositorio.uladech.edu.pe Internet | <1% |
| 4 | biblioteca.medicina.usac.edu.gt Internet | <1% |
| 5 | Universidad Cesar Vallejo on 2017-10-01 Submitted works | <1% |
| 6 | Universidad Católica de Santa María on 2017-12-02 Submitted works | <1% |
| 7 | intra.uigv.edu.pe Internet | <1% |
| 8 | Universidad Andina del Cusco on 2018-04-03 Submitted works | <1% |