UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL CYMBOPOGON CITRATUS "HIERBA LUISA" SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175

PARA OPTAR AL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

Autor:

Bach. Quintos Coronado Deysi Rosa

https:// 0000-0001-5217-369X

Asesor:

Dra. C.D Valenzuela Ramos Marisel Roxana

https:// 0000-0002-1857-3937

Línea de Investigación

Ciencias de la Vida y Cuidado de la Salud Humana

Pimentel – Perú

2019

APROBACIÓN DE LOS JURADOS

APROBADO POR:

_____

Dra.C.D. Valenzuela Ramos Marisel Roxana
Asesor metodólogo

_____

Dra.C.D. Valenzuela Ramos Marisel Roxana
Presidente del jurado de tesis

_____

Mg. C.D. Portocarrero Mondragón Juan Pablo
Secretario del jurado

_____

Mg. C.D. Lavado La Torre Milagros
Vocal de jurado tesis

DEDICATORIA

A Dios por darme salud y fuerza para poder culminar mi etapa universitaria. A mis padres; Eulalio Quintos Y Celina Coronado, por todo su apoyo incondicional, su amor infinito demostrado cada instante de mi vida. A mis hermanos; María, Miguel y Alex por haberme brindado su apoyo y aliento en cada instante de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarme y darme fortaleza en cada momento crucial de mi vida. Toda mi familia por estar presente en todo momento.

A la Universidad Señor de Sipan donde nos formarnos como profesionales.

A mi asesor metodológico Dra. Marisel Roxana Valenzuela Ramos por su contante apoyo y asesoría que fue de gran importancia en el desarrollo de la tesis.

A todos docentes por compartirme sus conocimientos durante todo el trayecto de mi carrera.

RESUMEN:

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" contra la cepas del *Streptococcus mutans* ATTC 25175. **Materiales y métodos:** Es un estudio de investigación de tipo experimental. Se realizó dos concentraciones de aceite esencial *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" al 70% y 100% de aceite esencial, Se empelaron 20 unidades experimentales y una cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in vitro empleando el método de Kirby-Bauer. **Resultados:** Al enfrentar el microorganismo *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Al aceite esencial *Cymbopogon .Citratus* "hierva luisa", se obtuvo un halo promedio de inhibición de 18 mm para la concentración 100%; **Conclusión:** sin embargo, el aceite esencial al 70 % obtuvo un efecto bacteriano muy bajo con un halo de medición de 7 mm. Se concluye que el aceite esencial Cymbopogon Citratus "hierba luisa" a la concentración de 100% tiene .mayor afectividad antimicrobiana sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Palabras clave: Hierba luisa, *Cymbopogon citratus* y *Streptococcus mutans* (Fuente: DeCS BIREME)

ABSTRACT:

Objective: To determine the antibacterial effect in vitro of the essential oil of Cymbopogon Citratus “Hierba Luisa” against the strains of Streptococcus mutans ATTC 25175. Materials and methods: It is an experimental research study. Two concentrations of essential oil Cymbopogon Citratus "Hierba luisa" were made at 70% and 100% essential oil. 20 experimental units and a strain of Streptococcus mutans ATCC 25175 were used in vitro using the Kirby-Bauer method. Results: When facing the microorganism Streptococcus mutans ATCC 25175. To the essential oil Cymbopogon. Citratus "Hierba Luisa", an average inhibition halo of 18mm was obtained for the 100% concentration; Conclusion: however, the 70% essential oil obtained a very low bacterial effect with a measurement halo of 7 mm. It is concluded that the essential oil Cymbopogon. Citratus "Hierba Luisa" at a concentration of 100% has. Greater antimicrobial affectivity. On Streptococcus mutans ATCC 25175.

Keywords: Lemon verbena, Cymbopogon citratus, and Streptococcus mutans (Source: DeCS BIREME)

INDICE

APROBACIÓN DE LOS JURADOS ii
DEDICATORIA iii
AGRADECIMIENTO iv
RESUMEN: v
ABSTRACT: vi
INDICE vii

I. INTRODUCCION 9
1.1 Realidad Problemática. 10
1.2 Trabajos previos. 11
1.3 Teorías Relacionadas al tema. 13
1.3.1 Plantas Medicinales 13
1.3.3 Llantén (Plantago major) 17
1.3.4 Perejil 17
1.3.5 Caries dental 17
1.3.6 Bacterias asociadas al desarrollo de caries dental 18
1.3.7 Streptococcus mutans 18
1.3.8 Clasificación de Streptococcus mutans 18
1.3.9 Factores de virulencia del Streptococcus mutans 19
1.4 Formulación. del Problema. 20
1.5 Justificación e importancia del estudio 20
1.6 Hipótesis 20
1.7 Objetivos 21
1.7.1 Objetivos General 21
1.7.2 Objetivos Específicos 21
II. MATERIAL Y MÉTODO
2.1 .Tipo y Diseño de Investigación…. 21
2.3 Variables Operacionalización 23
2.5 Procedimientos de análisis de datos 26
2.6 Aspectos éticos. 26
2.7 Criterios de Rigor Científicos. 27
2.7.1 Validez 27

2.7.2 Confiabilidad…….. 27
III. RESULTADOS
3.1 Tablas y Figuras 28
3.2 Discusión y Resultados… 30
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
4.1 Conclusiones…. 31
4.2 Recomendaciones..... 31
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 32
ANEXOS 37

I. INTRODUCCION

Las lesiones cariosas son consideras multifactorial más resaltante de la cavidad dental a medida del paso del tiempo va teniendo más protagonismo en la población y consiguiendo hacer uno de los principales complicaciones en el mundo. Por lo tanto un solo instrumento de prevención no alcanza a combatir o destruir lesión cariosa. En la actualidad, se ha comenzado a fomentar el uso de plantas medicinales en nuestro medio, debido a que la gran parte de tratamientos para las enfermedades se realizan con los principios activos de los vegetales.[1]

Se estima que acerca de un 80% de la población mundial prefieren la medicina con base de plantas en el tratamiento de las diferentes enfermedades. Según estudios se ha confirmado que extractos, aceites esenciales de los vegetales obtienen una efectividad antimicrobiana. Hoy en día los productos naturales tienen un buen protagonismo en la rama de la medicina y odontología se realizan diferentes estudios experimentales microbiológicos que acredita el éxito antimicrobiano de extractos y aceites naturales, sin manipular las soluciones extractoras de alcohol, para la inhibición de *Streptococcus mutans* favorecen la medida coadyuvante a la prevención de futuras enfermedades tal como caries.[1]

Los vegetales en ocasiones son componentes comprobados en diferentes presentaciones de pastas dentales, colutorios, geles, etc. los cuales se han demostrado una disminución de Streptococcus mutans en la saliva.[2]

Este estudio de investigación es gran importancia científica y de interés para la sociedad que contribuye con conocimientos, indicando que podemos utilizar otras opciones de aspecto natural para tratar las enfermedades orales dentro de ellas la caries dental, esto motivo a la interrogación ¿Tiene Inhibición antimicrobiana el aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* "hierba luisa" frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175? Pudiendo ser posible que haya una variable del efecto en relación de las concentraciones utilizadas, por eso se propone en la siguiente investigación determinar la inhibición antimicrobiana. La hierba luisa como planta medicinal con propiedades Antibacterianas, antinflamatorias y aromática, pueden ser utilizadas como alternativas de distintos tratamiento preventivo de la patología más común en la cavidad oral como la caries, es usada para enfrentar enfermedades gastrointestinales, etc., de carácter

bacteriano, lo cual ayudaría a la prevención y combatir diferentes enfermedades, debido a las propiedades antibacterianas, sin efectos adversos.[2]

1.1. Realidad Problemática.

Según estudios reportados en el año 2004 por la OMS (organización mundial de la salud), que el 60 a 90 % de la población escolar y aproximadamente el 100% de la población adulta tiene caries. El año 2010 la FDI (federación dental internacional) demostró un 44 % de la población tienen incidencia de caries[3]

Así mismo en 2005 en Perú el Ministerio de salud (MINSA), reporto una prevalencia de caries del 90 % población. Una cifra realmente alarmante ya que la caries no discrimina sexo, edad y condición socioeconómica, en cual coloca a Perú en una situación no favorable en relación a la salud oral[3]

En la región Lambayeque en 2018 se realiza un estudio experimental para determinar la prevalencia de caries y de enfermedad periodontal a estudiantes de las edades de 6 años,12 años y 15 años, de la institución educativa N° 80821 Cesar vallejo. Presentando caries el 73.3% estudiantes de 12 y 15 años y el 25% presentaron enfermedad periodontal[4.]

Hoy en día a nivel mundial las plantas medicinales siguen siendo un excelente refuerzo para sistema de salud en los diferentes países desarrollados. Sin embargo no hay datos exactos precisos para tasar el uso mundial de medicina alternativa. Según la a demostrados que más del 80% de las personas a nivel mundial la practican cubriendo sus prioridades de salud a medida realizan extractos o principios activos de las plantas[3]

El manejo las vegetaciones curativas, de aliviar sus males. Hoy en la actualidad hay diversas plantas curativas utilizadas desde la época antigua que hasta hoy tienen eficacia necesaria. Se han registrado diversas investigaciones donde se dice que los orientales que datan del año 3700 a.c, utilizaban una planta medicinal para cada tipo de enfermedad, por lo que da entender que la medicina alternativa ha sido una principal herramienta terapéutica en diferentes pueblos y civilizaciones añejas.[4]

A nivel nacional el Perú es uno de los 12 países más ricos en biodiversidad del mundo, en uso de los vegetales curativos ha tomado gran importancia en la salud oral debido a los beneficios que brindan tanto en económico y terapéutico siendo utilizadas en diferentes presentaciones como pastas dentales, colutorios, soluciones tópicos, etc. [5]

1.2. Trabajos previos.

Nada Rasaie[6] Irán (2017). En su estudio "Antimicrobial Efecto of Myrtus communis. L. Essential Oils Against Oral Microorganism" fue evaluar los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales (OE) aislados de Myrtus communis L. (mirto) contra los streptococcus mutas, sanguis y salivarius a través de experimentos in vitro. Las OE fueron aisladas de Hojas de mirto por el método de hidrodestilación. El método que se realizó es difusión en disco se utilizó para evaluar la zona de aumento microbiano. Por diferentes concentraciones de los OE. La zona de inhibición para todas las concentraciones se midió en diámetro después de Incubación a 37 ° durante 18 horas. Se utilizaron tetraciclina y eritromicina como control positivo. El resultado mostró que los OE de las hojas de mirto tenían antimicrobianos. Actividad en las placas de difusión de discos contra todas las cepas de Streptococcus, que se probaron.

Spoorthi B[7] Iran (2017) "Antibacterial effects of natural herbal extractos in *Streptococcus mutans*: Can they be potential additives in toothpastes?" Se realizó un ensayo microbiológico (método de difusión de pozo) para determinar la zona de inhibición contra formas puras de *Streptococcus mutan*. Se estudiaron los efectos antibacterianos de los extractos metabólicos de ramitas de mango, ramitas de eucalipto, hojas de pudina y bulbos de ajo. Los compuestos de ensayo se evaluaron adicionalmente para su MIC. Los extractos derivados de ramitas de mango y eucalipto mostraron efectos antibacterianos significativos en las concentraciones de prueba. Los extractos de pudina y ajo no mostraron ningún efecto antibacteriano significativo en concentraciones similares. Tras una evaluación adicional de los 2 compuestos positivos para su MIC, las ramitas de mango demostraron un mayor potencial antimicrobiano que las ramitas de eucalipto en una concentración más baja.

Ortega. M etal[8] Colombia (2018). "En su estudio Antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on *Streptococcus mutans* biofilm and its cytotoxic effects" Valoraron

el efecto antibacteriano sustancia a base aceite de hierba luisa se realizó tres concentraciones que se enfrentó a las bacterias del Streptococcus mutans. Así mismo se evaluó el efecto toxico de la hierba en los queratinocitos y fibroblastos , preparando tres concentraciones, y utilizando como control positivo etanol, peróxido de hidrogeno control negativo. Obteniendo resultados exitosos con los tres concentraciones, además se confirmó que no es cito tóxico.

Jessica M etal[9] Ecuador (2018)"Eficacia inhibitoria del aceite esencial de Cymbopogon Citratus sobre cepas de Porphyromona Gingivales: Estudio in vitro" Se realizado un estudio que consistió 24 cultivos. En 3 concentraciones de aceite al 100%,50%,75%,0.12% y como control negativo se utilizó suero fisiológico, y clorhexidina 0,12% control positivo. Arrojando como resultado que dichas bacterias son sensibles ante las tres tipos de concentraciones del aceite esencial de Cymbopogon Citratus.

Daysi R etal[10] Ecuador (2015). En su estudio "Aceite esencial de schinus molle l. (molle) como potencial antimicrobiano sobre *streptococcus mutans in vitro*" se llevó acabo en 20 placas Petri con agar sangre. Se preparó dos concentraciones al 100% y 50% utilizando clorhexidina para el control positivo y para el control negativo se utilizó agua destilada, de mostrando que el aceite en dos concentraciones tiene efecto inhibitorio parecido al del clorhexidina.

Daysi G etal[11] Ecuador (2016) en su estudio experimental "myrtus communis como alternativa natural sobre cepas de microorganismos bucales: *streptococcus mutans y Streptococcus sanguis"* hicieron una comparación de la inhibición antimicrobiana in vitro del óleo y extracto de myrtus, en concentración del 100% frente a las bacterias mutans y sanguis, se utilizaron para el control positivo la clorhexidina al 0.12 % y para el control negativo el agua destilada. Probando que el óleo fue más efectivo ante dichas bacterias antes mencionadas y el extracto acuoso no tuvo efecto antimicrobiano.

César C etal[12] Perú (2016) en su estudio experimental "In vitro evaluation of the antibacterial effect of Propolis on cultures of *Streptococcus"* se evaluó el efecto antibacteriano diferentes concentraciones del Propolis. En donde los resultados al 100 % de propolis tuvieron inhibición antibacteriana sobre las cepas del Streptococcus mutans. Para dicho estudio se realizó el método de difusión en discos.

1.3 Teorías Relacionadas al tema.

1.3.1 Plantas Medicinales

Son parte de la medicina natural que poco a poco van a remplazar el uso de fármacos en combinación. Se utilizan en sus diferentes formas como en extractos, aceites, etc. Para aliviar el estado salud.[13,14]

La medicina alternativa se practica desde la época antigua para remediar o aliviar las diferentes enfermedades, dando protagonismo a los fitofármacos y es considerada como económico también porque reduce índices de toxicidad.[15]

1.3.2 Cymbopogon citratus

Es una planta que pertenece a la familia de las gramineas, esta tiene un promedio de 60 especies ninguna prominente del Perú. Dicha hierba es originaria de la región suroriente de Asia encontrándose distribuida en todo América central como también en América del sur. En el Perú las principales regiones de producción son Lima, Cajamarca y Ucayali.[16,17]

Planta con tallos con ramas de unos 1 metros de alto con nódulos. Tienen hojas aromatizadas, acaparadas en su raiz, tiene forma lisa con ramas alargadas con un tanto pendulazas.[17]

En tanto a su taxonomia es:

Reino: Plantae
Familia: Poaceae (Gramíneas)
Especie: Cymbopogon citratus
En su familia: Las poáceas

Son un grupo de vegetales con ausencia de tallos leñoso, pertenecientes a las poales de las monocotiledóneas. Forma parte de los cuatro modelo ejemplar de la familia con una alta cantidad de grandes especies seguida de las orquídeas y leguminosas.

Sin embargo son muy importantes en la economía del mundo, ya que es considerada apto para el consumo humano. Las gramíneas en sus especies y géneros; que lo encontramos de forma directa en los diversos granos de cereales, aceites y harinas; de forma indirecta las carne, leche, huevos que procede de aves y de ganado que se alimentan de granos o pastos. Son una atrayente familia, no solo por el aspecto económico descrito anteriormente, sino por su trascendencia biológica.[18]

Por lo tanto los aceites esenciales aparte que presentan propiedades medicinales reconocidas. También tiene participación curativa en el sistema cardiocirlatorio, asimismo utilizado con antihipertensivo se utiliza también como antiasmático, a modo que también si utiliza en bacterias Gran negativas y Gram positiva, tiene un efectividad antimicótica, etc. Según los estudios precisan que las propiedades terapéuticas de dicha planta en estado de aceite esencial se usen como analgésico para alguna zona del cuerpo y administración es tanto vía oral o vía tópica[19]

- **Aceites Esenciales**

Son sustancias volátiles obtenidas de diferentes platas, que presenta una composición química muy compleja, tienen propiedad aromática. Se han realizó un aproximado de 4000 aceites esenciales diferentes. Los vegetales aromáticos son las que tiene más cantidad de esencia, por lo tanto constituyen la materia prima para su extracción. .[20]

- **Composición química**

Se encuentras dentro de los hidrocarburos, así mismo de los terpenos, sesquiterpenos, diterpenos y entre los compuestos hidrogenados, nitrogenados o azufrados se encuentran los tepenoides, alcoholes, aldehídos, ésteres, compuestos, fenólico, óxido y lactonas, compuestos nitrogenados y sulfuros. Comprenden de una variedad compuestos químicos.[21]

- **Propiedades físicas**

Entre ellas podemos mencionar:

- Punto de ebullición es superior a los 100°C
- Poco solubles en agua
- Solubles en solventes orgánicos y alcohol
- Desvían la luz polarizada
- Índice de refracción elevado
- Densidad inferior a la del agua
- Líquidos a temperatura ambiente
- Ligeramente coloreados.[22]

- **Localización de los aceites esenciales**

Todas las plantas de la misma especie llegaran a contener aceite esencial, así mimos el contenido de aceites en los vegetales en muy poco. Por lo tanto su rendimiento no es mayor al 1% en peso.[23]

Sin embargo las especies más representativas que contienen aceites esenciales son: rutáceas, rosáceas, lamiáceas y mirtáceas.[24]

- **Funciones de los aceites esenciales en las plantas**

Los oleos son desechos de los vegetales y se presentan formando emulsiones. Las plantas los vierten al exterior por sus canales excretores y aquellas que emanan un olor fuerte, pues son estos compuestos los que le dan aroma a los vegetales.[25]

La presencia depredadores (microorganismos, insectos, hongos y herbívoros), como medio de defensa del vegetal.[26]

- **Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales**

Diferentes oleos hoy en día tienen un alto protagonismo ante la actividad microbiana, que pueden ser aprovechadas para realizar diferentes productos farmacéuticos como

cosméticos, alimentos y agroquímicos, como por ejemplo tenemos el aceite de citronela que es ampliamente conocido por su espectro antimicrobiano frente a las bacterias de la Escherichia coli y estafilococos. Entre otros aceites de alta actividad microbiana conocidos como el orégano, romero, entre otros.[27]

- **Mecanismo de acción de los aceites esenciales**

Su mecanismo de acción es de inhibiendo el crecimiento to bacteriano al parecer ser la alteración del funcionamiento de la membrana, esto causa despolarización y degradación de la permeabilidad de la membrana, pérdida del contenido celular y finalmente la muerte del microorganismo.[28]

- **Elaboración de los aceites esenciales**

Hay varios métodos de extracción del óleo así tenemos:

Uno de ellos es el de arrastre con vapor de agua consiste en colocar el vegetal en trozos pequeños en depósito totalmente cerrado y sujetado al vapor de agua. En contenido extraído separada de solución acuosa.[29]

Otro método es el hidrodestilación realiza por medio de una destilación de agua es llevarlo a un estado de ebullición una solución acuosa de la planta olorosa, de tal modo que los vapores obtenidos se pueden condensar y recolectar.

Método de Percolación: o también llamado Hidrodifusión que se realiza en darle al ingrediente vegetativo primero alta presión y una baja presión, corriendo el riesgo que las sustancias no volátiles se combinen con la esencia de percolación.

Método de Extracción por fluido o gas supercrítico (CO2): Es un método súper costoso que por lo general solo es realizado por las industrias de perfumerías para hierbas de poco rendimiento. Consiste en un sistema continuo pero controlado donde existe presión y caudal elevado así como para gas y el fluido.

Método Efleurage: usualmente es para flores con poco rendimiento de sustancias. Normalmente se utiliza para flores que tienen bajo contenido de aceite esencial, una vez ya saturadas se procede a decanta.

Método Maceración: se obtienen en un macerado aceitoso, se protege del frio y de la entrada de la luz, usualmente es utilizado en aceites con esto principios lipofílicos.[30]

Método de Incisión: son utilizados para las astillas de los árboles, obteniendo para lo exudaciones, para después destilarlo para la extracción del aceite esencial.

Método Extracción con solventes volátil: Es idéntico al técnica de arrastre de vapor de agua, la diferencia es que ya saturado se hace evaporar el solvente, dicho método es más utilizado en las fábricas de perfumes.

Sin embargo de todos los métodos mencionado el más utilizado es para la extracción de aceite son los expresión, hidrodestilación y por fluido supercrítico. Los demás son utilizados en las grandes industrias de perfumerías. Y teniendo en cuenta que se usan bastantes volúmenes de vegetales para la extracción de poco aceite esencial. [31, 32]

1.3.3 **Llantén** (Plantago major)

El llantén es un vegetal que tiene una raíz muy larga con hojas redondeadas de más o menos de un medio metro de largo , suele terne flores pequeñas en épocas de primavera.se utiliza para diferentes enfermedad por tener propiedades desinflamante, antibacterial.[33]

1.3.4 Perejil

Nombre científico: Petroselinum crispum Descripción: vegetal herbácea bienal. Tiene una forma ojales fragmentadas que mide más o menos 15 cm de largo, posee flores de color verde amarillentas,. Forma de aplicación: Solo tienes que agarrar un poco de perejil y masticarlo un poco, pero varias veces durante el día. [34]

1.3.5 Caries dental

Las lesiones cariosas son una afección multifactorial, ocasionada por la adhesión de las bacterias del biofilm a las los dientes. Esto nos dice que los azucares son metabolizados por las bacterias dan paso a la producción de las ácidos los cuales se van adherir al esmalte provocando su desmineralización.[35]

Dentro las principales microorganismo causantes de la enfermedad de la caries están los Streptococcus mutans y el Streptococcus sobrinus.[36]

1.3.6 Bacterias asociadas al desarrollo de caries dental

En boca es cultivada por varios microorganismos. Se registrado acerca de 700 géneros de microorganismo que colonizan cada nicho ecológico. Hoy en día el agente causal de las lesiones cariosas, son los microorganismos Streptococcus mutans y el Streptococcus sobrinus, Actinomyces spp y Lactobacillus spp.[37]

1.3.7 Streptococcus mutans

Los microorganismos que se encuentran en la boca pertenecen a una agrupación muy difícil de distinguir los géneros que son protagonistas deposición de la placa dental. Sin embargo en el conocimiento de la actualidad comprende de múltiples bacterias que intervienen la enfermedad la caries. (Streptococcus del grupo mutans, Lactobacillus spp y Actinomyces spp) Siendo más importantes los Streptococcus mutans.[38]

La conformación de la placa dental y su sistema de quórum sensing son principalmente en la existencia del streptococcus Mutans.[39]

Las bacterias del Streptococcus mutans producen ácido láctico, que llegan a sintetizar los carbohidratos fermentables como los azucares. Así mismo los ácidos pasas al esmalte por la placa acumula, dando paso al desmineralización del esmalte.

Se han realizo estudios de pruebas bioquímicas, moleculares y serológicas que en dichas pruebas están incluidas la hibridación ADN - ADN y posteriormente están la continuación de los genes de ARN ribosomales. Sin embargo estas se han señalado como colonizadores secundarios de la placa en vuelve estructura de las piezas dentales, debiéndose a la gran capacidad de poseer producción de ácidos a partir de los azucares. Actualmente se sabe que las principales bacterias asociadas a las caries son los S. mutans que asociadas a otros microorganismos pueden modificar la proliferación de las lesiones.[40]

1.3.8 Clasificación de Streptococcus mutans

Con respecto a los a la composición y tipo de enlaces de los polisacáridos de pared celular, Estos se clasifican en 8 serotipos en: S. mutas (c, e, f y k) S. sobrinus (d y g)[41]

1.3.9 Factores de virulencia del Streptococcus mutans

Se refiere a la propiedad que tiene la bacteria para ocasionar daño o provocar la enfermedad. Los factores de virulencia son las situaciones específicas de cada bacteria que lo hacen patógeno.[42, 43]

- **La acidogenecida:** Las bacterias producen de sacarosa en de la dieta, desencadenado el ácido láctico esto va provocar que disminuya el PH y produzca la desmineralización del esmalte.[44]
- **La aciduricidad :** Tiene la capacidad de producir acido en PH bajo[44]
- **La Acidofilicidad:** La bacteria del Streptococcus mutans se hace resistente a la acides.[44]
- **La Síntesis de y fructanos:** Se da mediante las enzimas como es glucosil así mismo la fructosiltransferasas, estas va a producir polímeros glucanos y fructanos, partiendo de los azucares (sacarosa). Sin embargo los glucanos insolubles van apoyar a los microorganismos adherirse a las estructuras dentales.[44]

1.3.10 Medios de cultivo y conservación del Streptococcus mutans.

Los mutans son microorganismo de tipo anaerobios facultativos, que se desarrollan a una temperatura mínima de 36 +- 1°C, se aconseja incubar las placas Petri inoculas en 24 hrs en anaerobiosis y 24 hrs en aerobios va ayudar al desarrollo de agua oxigenada que es de suma importancia para la síntesis de polisacáridos extracelulares Que no ayudaran a la observación de las colonias. Tenemos diferentes agares.

En el agar de carnero proliferan cepas α - hemolíticas β – hemolíticos γ – hemolíticos. En el agar Mueller – Hilton. Se utiliza generalmente para actividades de cultivos de sensibilidad antibacterianos, que está compuesta por caldo de carne, almidón e hidrolizacion de caseína. Es el medio de cultivo que utilizamos para el presente estudio.

1.3.11 Técnicas bacterianas para medir la sensibilidad de los microorganismos.

El método es la difusión de discos. Dicha prueba es cuantitativa que va demostrar la resistencia de las bacterias frente los antibacterianos que se encuentran embebidos en los discos. Va consistir en la aplicación el cultivo con el agar ya inoculado las bacterias del estudio, las sustancias que se van trabajar ya deben estar embebidas en los discos.

Posteriormente el disco se pone en unión con la área del agar a las 24 horas de la colocación de disco se formaran unas zonas redondeadas traslucidas y limpias esto quiere decir que existe efecto antibacteriano

1.4 Formulación. del Problema.

¿Existe efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" sobre las cepas del S*treptococcus mutans* ATCC 25175?

1.5 Justificación e importancia del estudio

La cavidad bucal consta de diferentes estructuras asi mismo son cubiertas por bacterias. Algunos de estos microorganismo han sido implicadas en las diferentes enfermedades bucales como la lesiones cariosas y la enfermedad periodontal dichas afecciones son frecuentes en la ´población. Ya que bacterias principales que la causan es el *streptococcus mutans.* Bacteria que va producir ácido láctico, ocasionando la desmineralización del esmalte dental.

Actualmente la medicina alternativa se utiliza como soluciones para mejoras de las personas. Sin embargo en rama de la odontología las plantas medicinales no es muy conocida debido a los pocos estudios, Perú es uno del países ricos en flora. En la cual es muy común las plantas de *Cymbopogon citratus* "hierba luisa", dicho vegetal tiene propiedades de antipalúdico, estimulante, antiespasmódico entre otros.

Este estudio es para la obtención de beneficio en bien de la salud bucal. Para poder combatir el desarrollo de la caries dental además poder bajar las tasas de prevalencia de la enfermedad en el Perú. Así mismo aportar en bien de la odontología por medio de utilización de los aceite esencial de hierba luisa como antibacteriano contra los *Streptococcus mutans.*

1.6 Hipótesis

$H_{1:}$ Si existe efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial del Cymbopogon citratus (Hierba luisa), sobre los Streptococcus mutans .ATCC 25175.|

$H_{o:}$ No existe efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del Cymbopogon citratus (hierba luisa), sobre Streptococcus mutans ATCC25175

1.7 Objetivos.

1.7.1 Objetivos General

- Determinar el efecto antibacteriano del aceites esenciales de Cymbopogon citratus (hierba luisa), en la cepa del Streptococcus mutans ATCC 25175.

1.7.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" a la concentración del 70 % sobre la cepa se de *Streptococcus mutans* ATCC 2517.
- Determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* "hierba luisa" a la concentración del 100 % en la cepa se de *Streptococcus mutans* ATCC 2517.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Tipo y Diseño de Investigación

En el siguiente estudio de investigación posee un enfoque de tipo cuantitativa. Ya que se refiere al análisis y recopilación de datos numéricos que se obtuvieron de la recopilación del instrumento de medición para comprobar y corroborar la hipótesis a través de la determinación de variables, las cuales se comprobaran y analizaran hasta conseguir los resultados. [45]

Así mismo el diseño de este trabajo es de tipo experimental. Según periodo y secuencia de estudio es Transversal ya que son analizados por única vez para luego procesados.

Es de tipo prospectivo, dado que los datos necesarios son recogidos de primera mano y a propósito de la investigación.[45]

2.2 Población y muestra.

Se obtiene una muestra probabilística, compuesta por tipos de concentraciones aceite de hierba luisa, una cepa del Streptococcus mutans ATCC15175, efectuándose 20 repeticiones por lo tanto en total fueron 40 unidades experimental.

2.3 Variables Operacionalización

- Independiente: Aceite esencial Cymbopogon citratus
- Dependiente: Efecto antibacteriano.

VARIABLE	DEFINICCION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	VALORES FINALES	TECNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
Aceite esencial Cymbopogon citratus	Líquido oleoso diluido obtenidos de la las hojas de Cymbopogon Citratus	Es un óleo obtenido Mediante el proceso de destilación con vapor de agua.	Oleo de Cymbopogon citratus	Concentración de 70% y al 100%	Cuál es el efecto antibacteriano	Método de Kirby-Bauer, empleado para determinar la sensibilidad de un agente antibacteriano
Efecto antibacteriano	Capacidad del Streptococcus mutans para desarrollarse en un medio de cultivo sólido, formando un halo de inhibición	Los microrganismos sensibles al antibacteriano del óleo Cymbopogon citratus.	Proliferación de la bacteria S. mutans	Se siguió la escala de duraffourd. Nula: menor o igual a 8 mm. Sensibilidad límite: 9- 14 mm Sensibilidad media: 15 a19 mm Sumamente sensible: igual o superior a 20 mm.		

2.4 Técnicas e instrumento de recolección de datos, validez y confiabilidad

Obtención y procesamiento del vegetal.

Se obtuvo 20 kilos de hierba luisa, en el puesto del mercado modelo de Chiclayo. Se seleccionó el vegetal almacenado para después ser transportado a la facultad de farmacia al laboratorio de bioquímica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Se excluyeron las hojuelas degradadas todo tipos partículas ajenas al vegetal. Se procede al lavado de los vegetales con agua destilada, empleando NaCLO 0.5 %. Luego se realizaron un lavado con H2O estéril, con el fin de eliminar los sobrantes de hipoclorito. Cymbopogon citratus "hierba luisa" fue empaquetado papel Kraft para ser sometidas a desecado en temperatura del ambiente por 24 hrs. Asimismo, las hojuelas frescas de hierba luisa fueron fraccionadas en trozos pequeños para su determinación del peso para obtener valores constantes.

Obtención del aceite esencial

Una vez ya preparadas las hojuelas del vegetal, fueron procesadas en el equipo de destilación mediante la técnica por arrastre de vapor de agua. El destilado se obtuvo, teniendo en cuenta las propiedades de densidades entre el aceite esencial y el agua, se utilizó una pera de decantación de vidrio. Luego dejamos reposar por un día, consiguiendo obtener el aceite esencial libre de residuos. Una vez obtenida la muestra del aceite esencial de hierba luisa se dejó en frasco de vidrioso oscuro se cerró herméticamente para poder evitar contaminación, se guardó a una temperatura de 21 °C, para su posterior uso.

Preparación de las concentraciones del aceite esencial

Se utilizó 10 ml del aceite esencial de hierba luisa obtenido en su estado puro para la concentración máxima al 100%.

Se utilizó 0.7 ml del aceite esencial de hierba luisa obtenido y se le agrego 0,3 ml de tween 80 para la concentración mínima de 70%.

Obtención de la cepa Bacteriana

La bacteria del S. mutans ATCC 25175 fue adquirida del laboratorio GENLAB conservándose a una temperatura de 2 a 8 °C.

Identificación de la cepa bacteriana

Se realizó diluciones de la cepa antibacteriana en caldo peptonado, después agrego las cepas bacterianas estandarizadas en la escala de Mc Farland, donde observamos la turbidez que indica el crecimiento microbiano.

Se sembró bacteria del S. mutans en el medio de agar Mueller Hinton, para ser identificada. Para ser incubado a la temperatura de 37 °C aproximadamente.

Estandarización del inóculo de Streptococcus mutans ATCC 25175.

Se realizó siguiendo la escala de turbidez de McFarland 0.5 que equivale cerca de 1-2 x 10^8 UCF/mL. En el cual se tomó con un asa estéril las colonias del S. mutans para luego ser trasladadas a un tubo de 4 a 5 ml que contenía solución salina estéril. Controlando siempre la turbidez hasta obtener la misma según la escala.

Sembrado de la cepa bacteriana

Con un hisopo estéril lo embebimos en la bacteria estreptococos Mutans ATCC 25175 e hicimos la siembra en la placa Petri de 90 x 150mm. Este procedimiento se continuó rayando en tres direcciones.

Colocación de discos

Una vez teniendo las placas listas con el S. mutans, procedimos ubicar los discos estériles fueron 3 cada uno media 6 mm de diámetro. Se embebió en el aceite a la concentración de 70% y 100% y un disco se embebió en el control positivo de amoxicilina. Luego se rotulo cada pozo con su descripción. Se procede a sellar con parafilm para ser encubada las placas a una temperatura 37 °C por 24 hrs.

Análisis Microbiológico

La técnica que llego a utilizar para el análisis de inhibición antimicrobiana fue el método por difusión en agar, se colocó discos de 6 mm de diámetro, los cuales fueron embebidos e las diferentes concentraciones al 100 y 70 % de aceite de hierba luisa.

Ensayo con las cepas bacterias in vitro.

Se trabajó con cepas in vitro estándar S. mutans ATCC 25175. Para lograr la caracterización, reconstitución, inoculación, estandarización, se aplicaron los discos, se procedió a la incubación y se realizó a anotar datos de la cepa bacteriana utilizada.

Recolección de datos.

Se realizó a las 24 hrs de la incubación, fue evaluada cada placa. Para eso utilizó un calibrador de manual (vernier) o pie de rey, se precede a la lectura de los halos de inhibición en milímetros para luego ser anotados en la ficha de recolección de datos. Para esto se tuvo en cuenta la escala de Durafford. La efectividad se consideró en función del diámetro del HICM: Nula menos o igual a 8 mm, sensibilidad al límite de 9 a 15 mm, sensibilidad media de 15 a 19 mm y sumamente sensible igual o superior a 20 mm.

2.5 Procedimientos de análisis de datos

El siguiente trabajo de investigación será descriptivo y transversal. Para realizar el análisis estadístico se procesaron en Excel, y el análisis estadístico en Spss. Empleamos pruebas paramétricas, para lo cual se deben cumplir 3 requisitos. En primer lugar, debe tener una variable cuantitativa, segundo, cumplir el supuesto de normalidad (muestra homogénea) y finalmente cumplir el supuesto de homocedasticidad (que las varianzas sean homogéneas).

Si se cumple el supuesto de normalidad, emplearemos las muestras paramétricas. Como este estudio es transversal, comprobamos el supuesto de homocedasticidad mediante la prueba F de Levene, si el supuesto se cumple empleamos t de Student para muestras independientes o F ANOVA. Si no se cumple el supuesto utilizamos t Welch para muestras independientes o F de Welch. Si no se cumple el supuesto de normalidad utilizamos pruebas no paramétricas.

Como este estudio es transversal utilizaremos la prueba de ANOVA con lo cual se comprobó si hay diferencia significativa ($p< 0.05$) en el cual la inhibición antimicrobiana de las dos concentraciones del óleo hierba luisa y lo corroboramos con el análisis de d cohen lo cual se obtuvo el resultado de 1,53. Por lo tanto quiere decir que cuya fuerza del efecto es mucho.

2.6 Aspectos éticos.

En la Universidad Señor de Sipan en código de ética establecido, mediante el articulo numero 1°, posee el propósito de cuidar los derechos, la vida y la salud, la intimidad, la dignidad y el bien de los participantes que interviene en la investigación científica, tecnológica e innovación, partiendo de los principios éticos establecidos por la norma

nacional e internacional, así mismo los pactos inscritos por el país al que pertenecemos. Por lo tanto la información personal se halla cuidada y reconocidos mediante la ley 2933, salvaguardando los derechos del autor y la intimidad la investigación.

Se estimarán aspectos de bioseguridad al culminar la fase experimental realizados en los laboratorios de la facultad de microbiología y bioquímica de la facultad de farmacia de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, con relación a la inactivación de la bacteria utilizada s. mutans, se procederá al lavado a una temperatura de 120°C Y 1 atm de fuerza aproximadamente por 15 minutos, con el propósito de impedir du difusión.

2.7 Criterios de Rigor Científicos.

2.7.1 Validez

Para la siguiente investigación se utilizó una ficha para recolección de datos los cuales fueron mm, con el propósito de adquirir una respuesta de la inhibición antimicrobiana del aceite de las hojuelas de la hierba luisa.

La metodología que es empleada fue aprobada internacionalmente, puesto que los capítulos del proyecto certifican la veracidad de los resultados adquiridos. Así mismo se consideró el modo de escritura de las referencias bibliográficas para ello se empleó el formato de Vancouver, puesto que son conocidas internacionalmente además son empleadas para desarrollo de trabajos de Ciencias De La Salud. Por lo tanto el presente trabajo de investigación cumple todos los requisitos de rigor científico, por lo cual esta investigación es original.

2.7.2 Confiabilidad

Los halos del efecto antibacteriano se calculó con un calibrador manual vernier o pie de rey, los cuales obtuvimos resultados en milímetros, con una finalidad de disminuir los errores. A continuación se utilizara pruebas estadísticas como el Alfa de Cronbach y para reafirmar la voracidad de los resultados adquiridos en el presente estudio dando como respuesta > 0.05.

III. RESULTADOS

3.1 Tablas y Figuras

TABLA N° 01: Comparación de la inhibición antimicrobiana del aceite de las hojuelas del Cymbopogon citratus contra las cepas del Streptococcus mutans ATCC 25175.

Aceite esencial Cymbopogon citratus			
Concentraciones	**100 %**	**70 %**	**Amoxicilina**
	Halo de inhibición (mm)		
	17	7	21
	17	7	21
	17	7	21
	17	7	20
	17	7	21
	17	7	21
	17	7	21
	18	7	21
	18	7	21
	18	7	21
	17	7	21
	18	7	21
	18	7	20
	18	7	21
	17	7	21
	18	7	20
	18	7	21
	18	7	21
	18	7	21
	18	7	21

Fuente: Elaboración propia.

TABLA N° 02: Comparación de la inhibición antimicrobiana del aceite de las hojuelas de Cymbopogon citratus al 100% contra las cepas del Streptococcus mutans ATCC 25175.

	Aceite esencial Cymbopogon citratus			
Concentración	**100 %**		P	
	Halo de inhibición (mm)			
	17			
	17			
	17			
	17			
	17			
	17			
	17			
	18			
	18			
	18			
	17			
	18	t= 48,91	P= 0,00	d= 1,53
	18			
	18			
	17			
	18			
	18			
	18			
	18			
	18			

Fuente: Elaboración propia

Según los resultados obtenidos de la inhibición antimicrobiana del aceite esencial Cymbopogon citratus, podemos indicar que P es superior significativamente (p = 0,000) y se corrobora con el análisis de D de Cohen que nos da como resultado 1.53. Por lo tanto quiere decir que cuya fuerza de efecto es bastante.

3.2 Discusión y Resultados

En la investigación realizada, se confirmó que si hay un efecto antimicrobiano del óleo del Cymbopogon citratus, sobre las cepas del S. mutans, a la concentración de 100%. Donde obtuvimos un halo de sensibilidad de promedio de 18 mm de diámetro. Sin embargo a la concentración del 70 % se halló un halo de 7 mm siendo este no susceptible al S. mutans. Así mismo para el control positivo de la amoxicilina un halo de 21 mm. Quiere decir que a mayor concentración del aceite esencial habrá mayor inhibición.

Aguilar AE etal (2018)[48.] Realizo un estudio de la inhibición antimicrobiana de aceite esencial de 5 plantas andinas. Dando como resultado que el Cymbopogon citratus y el P elongatum, tuvieron mayor efectividad antimicrobiana a las concentración de 15 y 20 % sobre a las cepas de S. mutans. Cuyos halos fueron 15.67 y 10 mm. Así mismo hiso una comparación con otros aceites esenciales de *M. setosa* y *S. molle* mostrando una baja inhibición bacteriana. Por lo tanto demuestra que el C. citratus es un potente antimicrobiano para el S. mutans.

En este estudio Ortega CM etal (2016)[49] Corrobora que el óleo del Cymbopogon citratus tiene una efectividad de eliminación de la placa bacteriana de S. mutans de 95.4% en las concentraciones 0.1, 0.01 mg/100 mL. En conclusión C. citratus muestra que es altamente efectivo para remover la placa bacteriana de S. mutans así mismo no es toxico. Por lo cual puede ser utilizado como alternativa de origen vegetal para tratar y prevenir las lesiones cariosas.

En este estudio se demostró que el aceite esencial de hierba luisa tiene una alta capacidad bacteriana a la concentración del 100 %, lo cual pueden ser utilizados para elaborar diferentes productos de prevención de las diferentes enfermedades orales entre ellas la caries dental.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se comprobó la efectividad antimicrobiana del aceite esenciales de Cymbopogon citratus a las concentraciones de 100% y 70% frente al estreptococos mutans ATCC 25175.
- Los aceites esenciales de Cymbopogon citratus del 100% obtuvo mayor efecto antibacteriano contra S. mutans ATCC 25175. Adquiriendo un halo de sensibilidad de 18 mm, por lo tanto esto quiere decir que si es sensible de acuerdo los indicadores
- Los aceites esenciales de Cymbopogon citratus de concentración del 70 % tubo menor efecto frente al estreptococos mutans ATCC 25175. Obteniendo un halo de sensibilidad de 7 mm, quiere decir que no es sensible de acuerdo los indicadores

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda realizar más estudios sobre la efectividad antibacteriana del aceite esencial C. citratus “hierba luisa” frente diferentes bacterias que son agente causal de otras patologías bucales
- Se sugiere elaborar colutorios a base del vegetal Cymbopogon citratus “hierba luisa” Ya que se podría utilizado como alternativa de origen vegetal para tratar y prevenir las lesiones cariosas u otras afecciones orales.
- Se recomienda realizar más investigaciones del mismo vegetal, pero extraída de otra región, para corroborar si los elementos de la tierra o clima tiene que ver en el efecto.

REFERENCIAS

1. Tsang P, Qi F, Shi W. Medical Approach to Dental Caries: Fight the disease, not the lesion. Pediatr Dent. 2006;28(2):188-191.

2. Busumann. R. Dunglas .S. Plantas, medicinales de los andes de amazonas (2015). Jardín botánico de Missouri.

3. Calixto M. Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). Kiru. 2006; 3(2):80-85.

4. C Vázquez-Briones, María del Carmen, & Guerrero-Beltrán, José Ángel.Etal Efecto del aceite esencial de Cymbopogon citratus sobre propiedades fisicoquímicas en películas de quitosano. *Scientia* . (2017).

5. Tsang P, Qi F, Shi W. Medical Approach to Dental Caries: Fight the disease, not the lesion. Pediatr Dent. 2006;28(2):188-191

6. asaie N, Esfandiari E, Rasouli S Abdolahian F Antimicrobial Effect of *Myrtus communis*. (2017). L. Essential Oils Against Oral Microorganism

7. Spoorthi B, Sudarshini N, Prashanthi Ch, Rohit P. Antibacterial Effects of Natural Herbal Extracts on Streptococcus mutans: Can They Be Potential Additives in Dentifrices? International Journal of Dentistry (2017) disponible en: http://downloads.hindawi.com/journals/ijd/2017/4921614.pdf

8. Ortega-Cuadros, M., Tofiño-Rivera, A. P., Merini, L. J., & Martínez-Pabón, M. C. (2018). Antimicrobial activity of Cymbopogon citratus (Poaceae) on Streptococcus mutans biofilm and its cytotoxic effects. Revista de Biología Tropical, 66(4), 1519-1529.

9. Jessica Morillo,Mariela Balseca (20189. Inhibitory effect of the essential oil of Cymbopogon Citratus on the strain of Porphyromona Gingivalis: In Vitro Study. Revista odontologia.vol20.n2.2018-5-13 disponible en: http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1470/1425.

10. Rivadeneira D , Velasco p. Aceite esencial de *schinus molle l.* (molle) como potencial antimicrobiano sobre *streptococcus mutans.*estudio *in vitro(2015)* Facultad de Odontología Universidad Central del Ecuador.

11. Daysi G, Ana A, Mayra N. Myrtus communis as a natural alternative on strains of oral microorganisms: streptococcus mutans and streptococcus sanguis (2016).

12. Cayo C, Quijandría L, Ramos J. In vitro evaluation of the antibacterial effect of Propolis on cultures of *Streptococcus mutans (2016)disponible en:* http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/index

13. White LB, Foster S, Staff H for H. El Recetario Herbario: Las mejores alternativas naturales a los medicamentos. Emmaus, PA: Rodale Books; 2004;672 pp.

14. OMS. Medicina tradicional: definiciones [Internet]. WHO. [citado 24 de julio de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.

15. Pascual Casamayor D, Pérez Campos YE, Morales Guerrero I, Castellanos Coloma I, González Heredia E. Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. MEDISAN. 2014;18(10):1467-

16. Arellano, J. J. (1992) El Libro Verde Guía de recursos Terapéuticos Inmetra .Lima: Talleres gráficos Inmetra. Brack, A. (1991) Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. Lima: Centro Bartolomé de Las Casas.

17. Lock, O (1998). Investigación Fotoquímica. Método de estudio de productos naturales. Perú: PUCP Fondo

18. Finot V, Marticorena C, Barrera J, Muñoz M, Negritto M. Diversidad de la familia Poaceae (Gramineae) en la región del BIO – BIO, Chile, Basada en colecciones de Herbario. GayanaBot. [serie en internet] 2009 [Citado 20 noviembre 2018] 66 35 (2): 134 – 157. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-66432009000200003

19. Koba, K. ; Sandak, K. , Raynaud,C. ; Nenonene, Y. A. ; Mollet, J. &Chaumont, P. (2006) .Activities antimicrobiennes d huiles essentielles de trios Cymbopogon sp. Africanins vis-avis de germen pathogenes d animaux decompagnie.Ann Med. Vet, 148, 202-206.
20. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. 1st ed. España: Aiyana; 2006.
21. Thorpe E. Diccionario de quimica aplicada. 10th ed. Londres : Sir Ian Heilbron; 2006.
22. Agapito T, Sung I. fitomedicina: 1100 plantas medicinales. 1st ed. Lima: Isabel IRL; 2003.
23. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. 1st ed. España: Aiyana; 2006.
24. Romero M. Plantas Aromáticas: Tratado de Aromaterapia Científica Argentina: Keir; 2004
25. Muñoz F. Plantas medicinales y aromaticas España: Ediciones Mundi Prensa; 2002.
26. Romero M. Plantas Aromáticas: Tratado de Aromaterapia Científica Argentina: Keir; 2004
27. Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica México: Omnia Sciencia; 2016
28. Lamont R, Hajishengallis G, Henkinson H. Microbiología e inmunología oral. 1st ed. Mexico: Manual Moderno; 2014.
29. Kukleva M, Kondeva V. A study on the prevalence of caries incipiens in 7-14 years old children from Plovdiv. Foila Med. 1998; 40(4): p. 541
30. Barrancos J. Operatoria Dental. cuarta ed. Buenos Aires: Panamericana; 2006.
31. Romero M. Plantas Aromáticas: Tratado de Aromaterapia Científica Argentina: Keir; 2004.
32. Ryman D. Aromaterapia: Eciclopedia de plantas aromaticas y de sus aceites esenciales. primera ed. Barcelona: Kairos; 1995.
33. Pahlow, M. (2013). El Gran Libro de las Plantas Medicinales. Mexico: S.A.Editorial Everest
34. Pérez, C. (27 de Enero de 2015). Perejil:beneficios, propiedades y contraindicaciones. Recuperado el 9 de Marzo de 2015, de Perejil:beneficios,

propiedades y contraindicaciones: http://www.natursan.net/perejil-beneficios-propiedades-ycontraindicaciones/

35. El Desafío de las Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. 2ª ed. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015
36. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. Community Dent Oral Epidemiol [Internet]. 1998;26(14):8–27. Disponible en: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ddh&AN=12014678&lang=pt-br&site=ehost-live
37. Laurisch, L. El análisis microbiológico de la saliva. Base de la moderna odontología preventiva. 5ta ed. España: Reverte S.A. 2000
38. Johany Duque de Estrada Riverón, José Alberto Pérez Quiñonez, Iliana Hidalgo-Gato Fuentes. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes
39. Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. Streptococcus mutans y caries dental. Rev. CES Odont. 2013; 26(1) 44-56.
40. Ingraham, J. Introduction of Microbiology. Editorial Reverte S.A .2da Ed. Barcelona. 1998
41. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of Streptococcus mutans with a Cell Wall Polysaccharide Specific to a New Serotype, k, in the Human Oral Cavity. J. Clin. Microbiol. 2004;42(1):198–202.
42. Moromi H. Manual de prácticas de microbiología general y estomatológica Perú: Fondo Editorial de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
43. Abello R BS, Delgado J, Gonzales O, Jaramillo L, Martínez M, Rodríguez A. Generalidades sobre la caries dental; 2004
44. . Duque de Estrada J, Pérez JA, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cub. Estomatología. 43(1);2006, Jan-Mar.

45. Hernández Sampieri R. Metodología de la investigación. 6ta ed. México: Editorial McGraw Hill; 2014.
46. Valgas C, Machado S, Smânia EFA, Smânia AJr. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. Brazilian Journal of Microbiology. 2007; 38: 369-380.
47. McFarland J. Nephelometer: an instrument for media used for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J Am Med Assoc 1907; 14:1176-8.

48. Clinical and Laboratory Standars Institute. Métodos de dilución para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. Norma aprobada—octava edición. 2009; (26)2: 1 -100. M07-A8

49. Aguilar EA; Garay B; Mamani V; Quispe M: En su estudio Actividad antibacteriana frente a Streptococcus mutans de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. 2018;35(1):160-1.
50. Liz Morales Miranda 1, a, Walter Gómez Gonzáles. Dental caries and its clinical consequences related to the impact on the quality of life of preschoolers of a state school, Rev. Estomatol Herediana. 2019 Ene-Mar;29(1):17-29

ANEXOS

ANEXO N° 01

Análisis De Cohen

DATOS																				media	Desviación estándar	t	p	d de Cohen
21	21	21	20	21	21	21	21	21	21	21	21	20	21	21	20	21	21	21	21	21,47	0,871	48,91	0,00	1,53
7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7				
17	17	17	17	17	17	17	18	18	18	17	19	18	18	17	18	18	18	18	18	18,81				

De acuerdo a la interpretación del análisis d cohen para el aceite esencial del Cymbopogon citratus del 100 %, se obtuvo un valor de d 1.53 , por lo tanto, se concluye que aceite esencial del Cymbopogon citratus del 90%, tiene efecto antibacteriano ante el *Streptococcus mutans .*

ANEXO 02

Ficha de recolección de datos

REPETICION	ACEITE ESENCIAL CYMBOPOGON CITRATUS (HIERBA LUISA) HALOS DE INHIBICION		Amoxicilina (control positivo)
	70%	100%	
Placa 1			
Placa 2			
Placa 3			
Placa 4			
Placa 5			
Placa 6			
Placa 7			
Placa 8			
Placa 9			
Placa 10			

ANEXOS N° 03

Autorización para el uso de ambientes y para el recojo de información

UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

AUTORIZACIÓN PARA EL USO DE LOS AMBIENTES Y PARA EL RECOJO DE INFORMACIÓN

Ciudad, Chiclayo 25 de Mayo del 2019

Quien suscribe:

Sr. Gabriel Esteban Zúñiga Valdera

Encargado de laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

AUTORIZA: Permiso para la ejecución y el recojo de información del proyecto de investigación, denominado: Efecto antibacteriano del aceite esencial del Cymbopogon citratus "hierba luisa" sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC25175.

Por el presente, el que suscribe, Gabriel Esteban Zúñiga Valdera; Encargado de laboratorio de microbiología, **AUTORIZO** a la alumna: **Quintos Coronado Deysi Rosa,** identificada con DNI N°48027727, estudiante de la Escuela Profesional de Estomatología, y autor del trabajo de investigación denominado: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL CYMBOPOGON CITRATUS "HIERBA LUISA" SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, al uso de dicho ambiente para efectos exclusivamente académicos de la elaboración de tesis, enunciada líneas arriba de quien se garantice la absoluta confidencialidad de la información solicitada.

Atentamente.

Lic. Gabriel Esteban Zúñiga Valdera

Gabriel Esteban Zúñiga Valdera
DNI: 47805293
Lic. en Biología Microbiología Parasitología

ANEXOS N° 04

Constancia de calibración

Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

CONSTANCIA DE CALIBRACIÓN

Yo Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera, doy fe y certeza de haber realizado la capacitación a la alumna Quintos Coronado Deysi Rosa, calibrándonos con un índice de confiabilidad muy bueno, lo cual servirá para la recolección de datos mediante el uso el método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano, para la realización de su investigación que lleva como nombre " Efecto antibacteriano del aceite esencial de Cymbopogon citratus(hierba luisa) sobre el Streptococos mutans ATCC 25175.

Chiclayo, 20 de junio del 2019.

BIOTECNÓLOGOS EN ACCIÓN
Laboratorio de Biotecnología Microbiana

Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO N° 05

Autorización para el uso de laboratorio.

Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

CERTIFICADO

Certifico que la Srta. Deysi Rosa Quintos Coronado identificado con DNI N° 48027727, realizo las pruebas diagnósticas, bacteriológicas en el laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para el estudio de su tesis con el tema EFECTO ANTIBACTERIANO DE DOS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ECENCIAL DE CYMBOPAGON CITRATUS (hierba luisa) SOBRE CEPAS DE *streptococcus mutans* ATCC 25175, CHICLAYO 2019. Dicho estudio fue establecido con las normas de calidad establecidas.

La mencionada puede hacer uso de este documento como crea por conveniente a sus intereses.

Chiclayo, 25 de mayo del 2019

BIOTECNOLOGOS EN ACCION
Laboratorio de Biotecnología Molecular

Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO 06

Certificado de uso de material estéril

Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

CERTIFICADO

El laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, certifica que todo el material utilizado para el estudio de tesis con el tema EFECTO ANTIBACTERIANO DE DOS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ECENCIAL DE CYMBOPAGON CITRATUS (hierba luisa) SOBRE CEPAS DE streptococcus mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019, es sometido a proceso de esterilización previo a su uso.

Chiclayo, 25 de mayo del 2019

BIOTECNÓLOGOS EN ACCIÓN
Laboratorio de Biotecnología Microbiana

Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXOS N° 07

Certificado de desecho de material contaminado

Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

AUTORIZACIÓN

Se autorizó el uso de instalaciones del depósito de desechos infecciosos del laboratorio de microbiología de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, para descartar material contaminado que fueron utilizados en el proyecto de investigación EFECTO ANTIBACTERIANO DE DOS CONCENTRACIONES DEL ACEITE ECENCIAL DE CYMBOPAGON CITRATUS (hierba luisa) SOBRE CEPAS DE streptococcus mutans ATCC 25175, CHICLAYO 2019. Realizado por Srta. Deysi Rosa Quintos Coronado.

Chiclayo, 25 de mayo del 2019

BIOTECNOLOGOS EN ACCIÓN
Laboratorio de Biotecnología Microbiana

Lic. Gabriel Esteban Zuñiga Valdera
EGRESADO DE LA UNPRG

GABRIEL ESTEBAN ZUÑIGA VALDERA

ANEXO N° 08

Planta de Cymbopogon citratus/ (hierba luisa)

Obtención del Cymbopogon citratus (hierba luisa) método de arrastre de vapor de agua

Obtención de las concentraciones

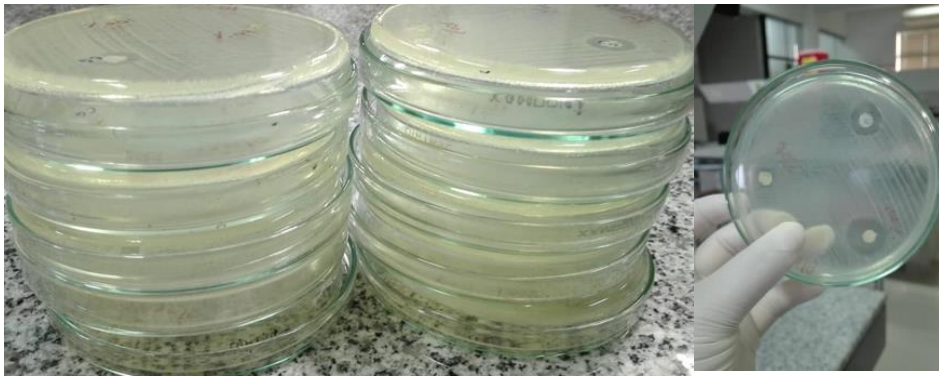
Aceite esencial Cymbopogon citratus (hierba luisa) al 70 % y 100%

Escala de McFarland

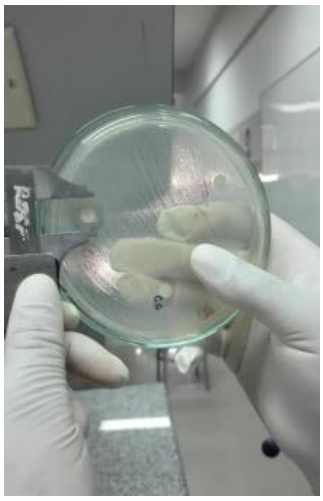
Sembrado del Streptococcus mutans

Colocación de los discos con las diferentes concentraciones

Incubación de las placas por 24 horas.



Cultivo listo para la toma de datos



Medición de los halos de inhibición con el vernier

Medición de los halos de inhibición con el vernier