



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

**Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de  
*Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus  
mutans* ATCC 25175**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
CIRUJANO DENTISTA

**AUTORAS:**

Cardenas Pachas, Aslhey Brisset (ORCID: 0000-0002-5563-4698)

Farfán Villafuerte, Paola Estela (ORCID: 0000-0002-5740-065X)

**ASESORA:**

Mg. Ibáñez Sevilla, Carmen Teresa (ORCID: 0000-0002-5551-1428)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

## **Dedicatoria**

A Dios, por darnos la vida, salud y cuidarnos de todo mal.

A nuestros padres, que nos apoyaron en todo momento, gracias por tanto esfuerzo, dedicación y comprensión en nuestro proceso de convertirnos en profesionales.

A nuestros hermanos, por cuidarnos y apoyarnos siempre, sabemos que ellos lograrán todos sus objetivos y estaremos para apoyarlos.

## **Agradecimiento**

A nuestros asesores, por las enseñanzas brindadas y siempre estar dispuestos a resolver nuestras dudas, a motivarnos a seguir investigando y nunca rendirnos.

A la Universidad César Vallejo por abrirnos las puertas para seguir cumpliendo nuestros objetivos.

## Índice de contenidos

Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento .....	iii
Índice de contenidos .....	iv
Índice de tablas .....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	15
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	15
3.2. Variables y operacionalización .....	15
3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.....	15
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	16
3.5. Procedimientos .....	16
3.6. Método de análisis de datos .....	19
3.7. Aspectos éticos.....	19
IV. RESULTADOS .....	20
V. DISCUSIÓN.....	24
VI. CONCLUSIONES.....	30
VII. RECOMENDACIONES .....	31
REFERENCIAS.....	32
ANEXOS .....	41
ANEXO 1 .....	41
ANEXO 2 .....	42
ANEXO 3 .....	43

ANEXO 4 .....	44
ANEXO 5 .....	45
ANEXO 6 .....	46
ANEXO 7 .....	51

## Índice de tablas

Tabla 1.....	20
Tabla 2.....	22
Tabla 3.....	23

## Resumen

El objetivo fue comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) y un control clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Corresponde a un estudio básico con diseño experimental verdadero. El método de difusión en disco fue utilizado para evaluar la actividad antibacteriana, y el método de microdilución en caldo se empleó para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB). El extracto hidroetanólico se obtuvo por el método de maceración con agitación temperada y se prepararon 10 concentraciones en  $\mu\text{g/mL}$ . La clorhexidina 0,12% fue el control positivo y DMSO 1% el control negativo. Se reportó que el efecto antibacteriano de todas las concentraciones del extracto fue superior al del control positivo ( $14,48 \pm 0,413$  mm) con halos de inhibición entre  $16,37 \pm 0,485$  mm ( $10 \mu\text{g/mL}$ ) y  $25,47 \pm 0,362$  mm ( $100 \mu\text{g/mL}$ ). La CMI y la CMB fue  $10 \mu\text{g/mL}$ . Se concluye que extracto hidroetanólico de *C. Citratus* presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *S. mutans* ATCC 25175 de tipo bactericida y el efecto de las concentraciones de  $40 \mu\text{g/mL}$  y  $50 \mu\text{g/mL}$  y las concentraciones  $80 \mu\text{g/mL}$  y  $90 \mu\text{g/mL}$  fueron estadísticamente iguales entre sí.

**Palabras clave:** Antibacterianos, *Cymbopogon*, *Streptococcus mutans*, Extractos vegetales.

## Abstract

The objective was to compare the in vitro antibacterial effect of different concentrations of the hydroethanolic extract of *Cymbopogon Citratus* (lemon verbena) and a 0.12% chlorhexidine control on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. It corresponds to a basic study with true experimental design. The disk diffusion method was used to evaluate the antibacterial activity, and the broth microdilution method was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Bactericidal (CMB). The hydroethanolic extract was obtained by the temperate stirring maceration method and 10 concentrations were prepared in  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Chlorhexidine 0.12% was the positive control and 1% DMSO the negative control. The antibacterial effect of all extract concentrations was reported to be superior to that of the positive control ( $14.48 \pm 0.413 \text{ mm}$ ) with inhibition halos between  $16.37 \pm 0.485 \text{ mm}$  ( $10 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) and  $25.47 \pm 0.362 \text{ mm}$  ( $100 \mu\text{g} / \text{mL}$ ). The MIC and WBC were  $10 \mu\text{g} / \text{mL}$ . It is concluded that the hydroethanolic extract of *C. citratus* presents antibacterial effect in vitro on *S. mutans* ATCC 25175 of bactericidal type and the effect of the concentrations of  $40 \mu\text{g} / \text{mL}$  and  $50 \mu\text{g} / \text{mL}$  and the concentrations  $80 \mu\text{g} / \text{mL}$  and  $90 \mu\text{g} / \text{mL}$  were statistically equal to each other.

**Keywords:** Antibacterials, *Cymbopogon*, *Streptococcus mutans*, Plant extracts.

## I. INTRODUCCIÓN

El informe Global Burden of Disease (GBD) ha demostrado sistemáticamente que la salud bucal representa un importante desafío de salud de la población mundial desatendida y que la prevalencia de las principales enfermedades orales no ha disminuido significativamente en los últimos años. Se informa que, a nivel mundial, hubo 3.500 millones de casos de afecciones orales, de los cuales 2.300 millones eran caries no tratadas en dientes permanentes, 532 millones tenían caries no tratadas en dientes temporales, 796 millones presentaban periodontitis severa y 267 millones eran edéntulos totales.<sup>1,2</sup>

La caries dental es una patología crónica y progresiva de los tejidos duros dentales de etiología multifactorial y mediada por la biopelícula dental que es un determinante biológico importante en su progreso. Representa un problema clínico común en pacientes de todas las edades.<sup>3</sup> Su principal causa reconocida es la fermentación de carbohidratos simples como la sacarosa por los microorganismos orales, específicamente por especies bacterianas pertenecientes a los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*. La lesión cariosa inicia con desmineralización subsuperficial y luego avanza a una cavitación que si no es atendida puede comprometer la pulpa, causando hinchazón, abscesos y signos y síntomas sistémicos.<sup>4</sup>

El inicio y progreso de esta enfermedad está asociada a la frecuencia del consumo de azúcar y la duración de este en la boca pues se constituye en el sustrato para los microorganismos denominados cariogénicos.<sup>5,6</sup> Se reconoce que la especie bacteriana acidogénica - acidúrica *Streptococcus mutans* está íntimamente involucrada con los procesos cariogénicos, que incluyen caries de la primera infancia, lesiones cariosas del esmalte, lesiones cavitadas o dentina cariosa.<sup>7</sup> Adicionalmente a su acidogenicidad tiene la capacidad de producir grandes cantidades de mutan, que es un glucano extracelular que favorece su permanente colonización y el de otras especies cariogénicas a las superficies duras del diente.<sup>8</sup> Además de la caries, *S. mutans* es responsable de casos de endocarditis infecciosa con un subconjunto de cepas implicadas indirectamente con la aparición de patologías extraorales adicionales.<sup>9</sup>

Como parte del tratamiento de caries principalmente para pacientes de alto riesgo de caries, además de una higiene bucal eficaz,<sup>10</sup> se recomienda terapia química, consistente en una combinación de terapia antibacteriana diaria que incluye enjuague bucal con gluconato de clorhexidina al 0,12% p/v y dentífrico con una concentración de fluoruro de 5,000 ppm dos veces al día.<sup>11</sup> La clorhexidina es un compuesto químico con acción antiséptica de amplio espectro. Si bien, su eficacia antimicrobiana ha sido comprobada, mediante estudios *in vitro* e *in vivo* también se han informado efectos adversos después de su uso, como alteración del gusto, dolor, ardor, irritación, descamación leve, ulceración de la mucosa,<sup>12</sup> pigmentación dentaria<sup>13</sup>, reacciones alérgicas<sup>14</sup> y fenómenos de resistencia bacteriana.<sup>15</sup>

Además de la problemática derivada de los efectos adversos a largo plazo de los antisépticos orales, y ante la ausencia de una cultura de prevención en la población peruana, se suma el alto costo de los tratamientos odontológicos especializados, lo que dificulta aún más el acceso de la población de bajos recursos a los servicios de salud oral.<sup>16</sup> Ante esta situación, se requieren enfoques novedosos, eficaces, seguros y accesibles para que la población pueda preservar su salud oral.

En ese contexto, han tomado amplio interés en odontología los agentes antimicrobianos derivados de plantas medicinales como una alternativa para controlar a los principales patógenos responsables de las patologías orales más prevalentes como la caries dental.<sup>17</sup> *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) es una planta medicinal utilizada ampliamente como medicina tradicional y es bien conocida por sus propiedades antimicrobianas que podrían ser efectivas contra *Streptococcus mutans*.<sup>18</sup>

Vista la realidad problemática nos planteamos el siguiente cuestionamiento, ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

En ese sentido, la presente investigación se justifica teóricamente pues la caracterización de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) realizada por diversos investigadores establecen la presencia de diversos compuestos bioactivos dentro de los que destacan; taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, fenoles y antraquinonas, y en su aceite esencial; citral, geranial, nerol, mirceno, geraniol,

linalol, tumerona, eugenol, isoeugenol, limoneno, burneol, citronelol, neral,  $\alpha$ -terpineol y  $\alpha$ -cariofileno responsables de su capacidad antimicrobiana que ha sido comprobada principalmente como aceite esencial<sup>19-22</sup> pero no como extracto total y frente a diversos microorganismos pero no sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados de esta investigación permitirán llenar estos vacíos del conocimiento respecto al potencial inhibitorio del extracto hidroetanólico total de *C. Citratus* sobre una bacteria de interés estomatológico como *S. mutans*. Su justificación practica radica en que, si se demuestra un alto potencial antibacteriano de esta planta, se estaría generando las bases para continuar con investigaciones que permitan materializar sus bondades en productos accesibles y seguros para la población y se constituiría en una alternativa natural para reducir la carga microbiana cariogénica. Tiene justificación social pues esta investigación permitirá revalorar y ampliar las potencialidades de las plantas medicinales que se han adaptado adecuadamente a diferentes regiones del país como es el caso de *C. Citratus* no solo para su uso por la población sino también desde el aspecto industrial. También presenta justificación por conveniencia debido a que la realización de esta investigación y su sustentación permitirá a los investigadores obtener el título profesional de Cirujano Dentista en la Universidad César vallejo.

En ese sentido, para responder al problema planteado proponemos el siguiente objetivo general; Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) y un control clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El cual será fundamentado con los siguientes objetivos específicos; Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La hipótesis planteada es que el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es de tipo bactericida y dependiente de la concentración.

## II. MARCO TEÓRICO

Gao, et al<sup>23</sup> (2020) en China, evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon flexuosus*) y su componente activo citral contra biofilms formado por *Staphylococcus aureus* y *Candida*. Fue una investigación experimental. Las cepas utilizadas fueron *C. albicans* SC 5314, *C. tropicalis* ATCC 1369 y *S. aureus* ATCC 25923. La actividad antimicrobiana se obtuvo mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) de las células planctónicas a través del método de microdilución. Los resultados indicaron que la MIC del aceite esencial de *C. flexuosus* contra *C. albicans*, *C. tropicalis* y *S. aureus* planctónico fue de 8 µg/mL (0.0781%), 4 µg/mL (0.039%) y 8 µg/mL (0.0781%) respectivamente. Mientras que la MIC del citral contra *C. albicans*, *C. tropicalis* y *S. aureus* 3,2 µg/mL (0.0313%), 1,6 µg/mL 0.0156% y 3,2 µg/mL (0.0313%). Se concluye que el aceite esencial de *C. flexuosus* y del citral en concentraciones bajas son suficientes para inhibir el crecimiento de las especies planctónicas de *S. aureus* y *Candida* y muestran potencial como agentes prometedores contra las biopelículas polimicrobianas.

Subramaniam, et al<sup>24</sup> (2020) en Malasia, evaluaron la actividad antibacteriana de *Cymbopogon citratus* contra bacterias clínicamente importantes. Fue una investigación experimental *in vitro*. Se evaluaron extractos acuosos, metanólicos y aceite esencial sobre aislamientos clínicos de *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *A. baumannii*, *C. freundii*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* y *P. aeruginosa*. La eficacia antibacteriana de los extractos se determinó con los ensayos de difusión en disco y en pozos de agar. Los resultados mostraron que el aceite esencial de *C. citratus* mostró la mayor actividad antibacteriana (zonas de inhibición entre 10 mm y 20 mm en *P. mirabilis*, *E coli*, *P. vulgaris*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae*) seguido del extracto metanólico. El extracto acuoso no exhibió actividad antibacteriana. El extracto también exhibió una mejor actividad antibacteriana en bacterias gram positivas que en bacterias gram negativas, con la excepción de *P. aeruginosa* que fue muy susceptible a los extractos metanólicos (halos de inhibición superiores a 35 mm). Concluyeron que *C. citratus* podría tener un uso potencial en el tratamiento de infecciones relacionadas con el desarrollo de biopelículas.

Leja, et al<sup>25</sup> (2020) en Polonia, compararon la efectividad de aceites comerciales de *Piper nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* y *Juniperus communis* L. con aceites obtenidos en nuestro laboratorio. Fue una investigación experimental. La actividad biológica antimicrobiana fue determinada contra cepas de *Pseudomonas orientalis* empleando la técnica de difusión en discos estándar. Los resultados demostraron que tanto los aceites esenciales comerciales como los extraídos en el laboratorio pueden inhibir eficazmente el crecimiento de bacterias saprofitas de *P. orientalis*. El aceite esencial extraído de *C. citratus* formó halos de inhibición de 18,1 a  $\pm 1,9$  mm sobre la bacteria evaluada. La CIM fueron calculadas en 70,6 a  $\pm 0,33$  mg/mL y  $98 \pm 0,5$  mg/mL para el aceite comercial y el aceite extraído respectivamente. Concluyeron que los aceites destilados en el laboratorio tuvieron un efecto bacteriostático a menor concentración, lo cual es importante para su aplicación en la industria alimentaria.

Boeira, et al<sup>26</sup> (2020) en Brasil, investigaron la caracterización fitoquímica y la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Cymbopogon citratus* para su aplicación como antioxidante natural en embutidos frescos. Fue una investigación experimental. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en disco sobre las cepas *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados mostraron que el extracto de *C. citratus* es un agente antibacteriano potencial. Las zonas de inhibición formadas fueron para *E. coli*  $9,30 \pm 0,14$  mm; para *S. enteritidis*  $10,02 \pm 0,04$  mm y para *S. aureus*  $10,60 \pm 0,27$  mm. Concluyeron que el extracto *C. citratus* puede mantener la calidad de la salchicha de pollo refrigerada hasta por 42 días de almacenamiento.

Basera, et al<sup>27</sup> (2019) en India, investigaron el potencial de nanopartículas de plata desarrolladas a partir del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* contra bacterias patógenas. Fue un estudio experimental. Las bacterias evaluadas fueron *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. La actividad antibacteriana se determinó con el método de difusión en disco y la concentración mínima inhibitoria y bactericida (CMI) (CMB) por el método de microdilución. Los resultados mostraron que las nanopartículas sintetizadas a partir de la concentración de 25  $\mu\text{g/mL}$  del extracto metanólico de *C. citratus* formó

zonas de inhibición de  $1,41 \pm 0,12$  mm sobre *B. cereus*; de  $1,92 \pm 0,07$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $2,51 \pm 0,44$  mm sobre *E. coli* y de  $2,91 \pm 0,12$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  formó zonas de inhibición de  $6,93 \pm 0,08$  mm sobre *B. cereus*; de  $7,52 \pm 0,42$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $8,12 \pm 0,12$  mm sobre *E. coli* y de  $9,12 \pm 0,14$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 100  $\mu\text{g/mL}$  formó zonas de inhibición de  $12,23 \pm 0,4$  mm sobre *B. cereus*; de  $13,24 \pm 0,12$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $18,96 \pm 0,46$  mm sobre *E. coli* y de  $19,23 \pm 0,24$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 150  $\mu\text{g/mL}$  formó zonas de inhibición de  $20,12 \pm 0,42$  mm sobre *B. cereus*; de  $20,12 \pm 0,42$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $31,87 \pm 0,24$  mm sobre *E. coli* y de  $35,23 \pm 0,46$  mm sobre *P. aeruginosa*. La CMI y la CMB para todas las bacterias evaluadas fue 25  $\mu\text{g/mL}$  y 50  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. Concluyen que se demostró la elevada actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata sintetizadas a partir del extrado de *C. citratus* contra especies patógenas gram positivas y gram negativas y que podrían utilizarse como una aplicación biomédica eficaz.

Ebani, et al<sup>28</sup> (2019) en Italia, investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de aceites esenciales de *Aloysia triphylla*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon citratus*, *Litsea cubeba*, *Mentha piperita*, *Syzygium aromaticum* contra *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* aisladas de aves de corral. Fue una investigación experimental. La actividad antibacteriana fue determinada por el método de difusión en disco y la más alta se obtuvo con el aceite esencial de *C. zeylanicum* con MIC que van desde 1,26 mg/mL a 0,63 mg/mL. En el caso del aceite esencial de *C. citratus* formó zonas de inhibición de  $7,0 \pm 0,0$  mm tanto sobre *S. enteritidis* como *S. typhimurium*. Con una MIC de 17,9 mg/mL para ambas bacterias. Concluyeron que los aceites esenciales evaluados podrían utilizarse solos o en combinación para la desinfección del entorno de la granja y en la dieta de aves de corral como un enfoque integrado para evitar la colonización intestinal de Salmonella.

Iram, et al<sup>29</sup> (2019) en Pakistán, evaluaron el potencial biológico de extractos de metanol y n-hexano de partes aéreas de siete especies de la familia Poaceae. Fue una investigación experimental. El potencial antimicrobiano se determinó mediante el método de difusión en disco y la concentración inhibitoria mínima

(MIC). Los estudios revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, glucósidos, fenoles, esteroides, saponinas, taninos, antocianinas y cumarinas en la mayoría de los extractos vegetales. Se observó un potencial antimicrobiano máximo en el extracto metanólico y hexanólico de *Cymbopogon citratus*. Los organismos más susceptibles e inhibidos por la mayoría de los extractos fueron *Staphylococcus aureus* y *Bacillus spizizenii* seguidos de *Listeria monocytogenes*. *C. citratus* formó zonas de inhibición de  $7.0 \pm 0.5$  mm sobre *S. aureus* con una MIC a  $50 \mu\text{g/mL}$ ; de  $9.0 \pm 2.0$  mm sobre *L. monocytogenes* con una CIM a  $50 \mu\text{g/mL}$ . Sobre *B. spizizenii* formó un halo de inhibición de  $8.0 \pm 2.3$  mm con una MIC a  $75 \mu\text{g/mL}$ . Concluyeron que los extractos de metanol exhiben un potencial antioxidante y antimicrobiano significativo que puede correlacionarse con sus valores medicinales.

Erhabor, et al<sup>30</sup> (2019) en Nigeria, evaluaron las propiedades antibacterianas, fitoquímicas y citogenotóxicas del extracto acuoso de hoja de *Cymbopogon citratus*. Fue una investigación experimental *in vitro*. El potencial antibacteriano del extracto se determinó mediante técnicas de difusión y microdilución en pozos de agar. El análisis fitoquímico se realizó mediante protocolos estándar y la citogenotoxicidad del extracto se analizó mediante el ensayo de *Allium cepa*. Las concentraciones del extracto evaluadas fueron  $12,5 \text{ mg/mL}$ ,  $25 \text{ mg/mL}$  y  $50 \text{ mg/mL}$  sobre *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Klebsiella pneumoniae*. Los Reportaron que todas las bacterias de prueba eran sensibles al extracto excepto *P. aeruginosa* donde no se pudo determinar una zona de inhibición medible en todas las concentraciones evaluadas. Las zonas inhibición más grandes se generaron con las tres concentraciones sobre *S. saprophyticus* y *K. pneumoniae*, a la concentración de  $12,5 \text{ mg/mL}$  los halos fueron de  $12,67 \pm 0,88 \text{ mm}$  y  $3,00 \pm 0,58 \text{ mm}$ , respectivamente; a  $25 \text{ mg/mL}$  halos de  $17,67 \pm 1,20 \text{ mm}$  y  $7,00 \pm 0,28 \text{ mm}$  y a  $50 \text{ mg/mL}$  halos de  $21,33 \pm 1,20 \text{ mm}$  y  $13,00 \pm 1,15 \text{ mm}$ , respectivamente. La CMI la mayoría de bacterias fue  $1,56 \text{ mg/mL}$  a excepción de *P. mirabilis* que fue  $3.13 \text{ mg/mL}$ . La CMB fue  $3.13 \text{ mg/mL}$  en todas las cepas evaluadas. Concluyeron que *C. citratus* podría ser una fuente potencial de compuestos antibacterianos para el posible tratamiento de infecciones relacionadas con la reproducción masculina.

Oliveira, et al<sup>31</sup> (2019) en Brasil, investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Contra *Staphylococcus* spp. aislado de bebés recién nacidos en una unidad de cuidados intensivos. Fue una investigación experimental. La susceptibilidad *in vitro* de los microorganismos al aceite esencial de *C. citratus* se comparó con las actividades de los antibióticos estándar administrados a los recién nacidos mediante métodos de difusión por disco y microdilución. Las 107 cepas probadas fueron inhibidas por tratamiento con el aceite esencial de *C. citratus*. Los diámetros medios del halo de inhibición para las cepas de *S. aureus* y *Staphylococcus no aureus* fueron 31,4 mm y 30,47 mm, respectivamente. Estos halos fueron más grandes que los obtenidos con el antibiótico vancomicina, que fueron de 21,52 mm y 21,1 mm, respectivamente. Las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas para el aceite de *C. citratus* fueron 0,625 mg/mL en todas las cepas analizadas. Concluyeron que las cepas de *Staphylococcus* de los recién nacidos son sensibles al aceite de *C. citratus*, demostrando su potencial como alternativa antibiótica.

Elansary, et al<sup>32</sup> (2018) en Egipto, determinaron la bioactividad y los perfiles fenólicos de las plantas medicinales tradicionales en Alejandría *Asparagus aethiopicus* L., *Citrullus colocynthis* L., *Senna alexandrina* L., *Kalanchoe delagoensis* L., *Gasteria pillansii* L., *Cymbopogon citratus*, *Brassica juncea* y *Curcuma longa* L. La actividad antibacteriana de los extractos de plantas se determinó con el cálculo de la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración bactericida mínima (MBC) contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus flavus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Los resultados revelaron actividades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas relativamente altas con los extractos de *C. colocynthis*, *S. alexandrina* y *A. aethiopicus*. Respecto al extracto de *Cymbopogon citratus* establecieron que la CMI para *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *M. flavus* y *S. aureus* fueron  $0,09 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,15 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,20 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,15 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,13 \pm 0,02$  mg/mL y  $0,25 \pm 0,02$  mg/mL respectivamente. La CMB para las mismas bacterias fueron  $0,17 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,33 \pm 0,03$  mg/mL;  $0,41 \pm 0,01$  mg/mL,  $0,41 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,27 \pm 0,01$  y  $0,47 \pm 0,01$  mg/mL respectivamente. Concluyeron que estos extractos de

plantas medicinales tienen un amplio espectro de actividades antimicrobianas que podrían usarse en las industrias farmacéuticas y para controlar enfermedades.

Mohamad, et al<sup>33</sup> (2018) en Malasia, evaluaron la actividad antituberculosa de *Costus speciosus*, *Cymbopogon citratus* y *Tabernaemontana coronaria* y sus efectos sobre la cinética de crecimiento y la integridad celular de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Fue una investigación experimental in vitro. Se determinó la actividad anti-TB diferentes particiones de solvente de los materiales vegetales contra *M. tuberculosis* H37Rv usando un ensayo de microdilución. Los efectos de estas particiones sobre la cinética de crecimiento de las micobacterias se evaluaron durante un período de tratamiento de 7 días en un sistema de cultivo discontinuo. Reportaron que el extracto de n-hexano de *C. speciosus*, *C. citratus* y *T. coronaria* exhibieron la actividad anti-TB más alta con concentraciones inhibitorias mínimas (CMI) de 100-200 µg/mL y concentración bactericida mínima (MBC) de 200 µg/mL. Las particiones de tallo-rizoma de *C. citratus* que exhibieron actividad anti-TB fueron n-hexano (MIC: 200 µg / mL), cloroformo y acetato de etilo (MIC: 1600 µg / mL). Concluyeron que la partición de n-hexano de las plantas evaluadas exhibió una actividad anti-TB in vitro prometedora contra *M. tuberculosis* H37Rv.

Javed, et al<sup>34</sup> (2018) en Pakistán, realizaron la detección y caracterización de fármacos naturales con potencial antibacteriano. Fue una investigación experimental in vitro. Se seleccionaron las plantas medicinales de *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* y *Achillea millefolium*, para estudiar su potencial antibacteriano. El extracto crudo de las plantas seleccionadas se preparó mediante el método de maceración en etanol y hexano. Actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria (CMI) sobre las cepas bacterianas seleccionadas. Comunicaron que el extracto etanólico de hojas de *Rosmarinus officinalis* mostró el efecto inhibitor más prometedor con zonas de inhibición de  $18,17 \pm 0,01$  mm frente a *Klebsiella pneumoniae* y de  $15,5 \pm 0,29$  mm frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* ( $p < 0,05$ ). Los valores de MIC se registraron en el rango de 1 a 20 mg/mL. La inhibición del extracto etanólico de *C. citratus* sobre *E. coli* fue de  $14.3 \pm 0.33$  mm; sobre *K. pneumoniae* fue de  $15.17 \pm$

0.44 mm; sobre *P. vulgaris* fue de  $7 \pm 0.58$  mm y sobre *S. aureus* fue de  $14.33 \pm 0.33$  mm. Concluyeron que las plantas probadas pueden tener el potencial de contrarrestar algunas enfermedades infecciosas causadas por cepas bacterianas patógenas humanas seleccionadas.

De Silva, et al<sup>35</sup> (2017) en Corea, examinaron la actividad antimicrobiana del aceite de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) contra las bacterias patógenas *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis* aisladas de tortugas mascotas. Fue una investigación experimental. La actividad antibacteriana se determinó mediante la prueba de difusión de disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria y bactericida (CMI y CMB) por el método de microdilución en caldo. Los resultados revelaron que el aceite esencial mostró actividad antibacteriana contra la mayoría de las bacterias Gram negativas probadas (85%) excepto *P. aeruginosa* con magnitudes variables. Reportaron que la sensibilidad se incrementa gradualmente con el aumento de la concentración. *E. tarda* fue la especie más susceptible con la zona de inhibición más alta (44 mm). La inhibición más alta registrada para *A. hydrophila* fue de 32 mm. En el caso de *A. caviae*, la inhibición más alta observada fue de 18 mm. Concluyeron que el aceite esencial de *C. citratus* es un agente antimicrobiano eficaz en el control de la infección por bacterias Gram negativas patógenas transmitidas por tortugas con excepción de *P. aeruginosa*.

Kačániová, et al<sup>36</sup> (2017) En Eslovaquia, determinaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de 21 aceites esenciales contra especies de *Pseudomonas* spp. aisladas de peces de agua dulce. Fue una investigación experimental. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó el método de difusión en disco y la detección de la concentración mínima inhibitoria (MIC). Todos los AE evaluados mostraron actividad antimicrobiana, sin embargo, *Cinnamomum zeylanicum* fue el más eficaz contra *Pseudomonas* spp. El aceite esencial de *Cymbopogon nardus* formó zonas de inhibición de  $4,66 \pm 0,58$  mm sobre *P. agglomerans*; de  $5,00 \pm 1,00$  mm sobre *P. antarctica*; de  $3,33 \pm 0,58$  mm sobre *P. brassicacearum*; de  $4,67 \pm 0,58$  mm sobre *P. frederiksbergensis* y de  $4,33 \pm 0,57$  mm sobre *P. koreensis*. La CMI del aceite esencial de *C. nardus* para las

diferentes especies de *Pseudomonas* varió entre 12,5 µL/mL y 100 µL/mL. Concluyeron que los aceites esenciales utilizados en el presente estudio revelaron una actividad antimicrobiana significativa en *Pseudomonas* spp. Además, son una fuente potencial de agentes antibacterianos naturales y puede usarse como compuestos naturales con actividad anti-pseudomonal.

Uzair, et al<sup>37</sup> (2017) en Pakistán, investigaron la eficacia de aceites esenciales para inhibir el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Fue una investigación experimental. Se utilizó el método de difusión por disco para evaluar la actividad anti MRSA de diez aceites esenciales extraídos de las plantas tradicionales; *Thymus vulgaris* L, *Mentha pulegium*, *Ocimum sanctum*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* L., *Cortex cinnamom*, *Citrus nobilis*, *Citrus deliciosa* y *Origanum vulgare*. Reportaron que todos los aceites esenciales inhibieron el crecimiento de *S. aureus* en diferentes grados, al exhibir zonas de inhibición de moderadas a elevadas. Los aceites esenciales de canela y tomillo fueron los más poderosos contra las cepas de MRSA utilizadas en este estudio. A la concentración de 25µl/mL de aceites esenciales, se formaron zonas de inhibición de  $9 \pm 0.085$  mm y  $8 \pm 0.051$  mm, y a concentraciones elevadas hubo una disminución total en el crecimiento de MRSA con una zona de inhibición muy clara. Concluyeron que los aceites esenciales evaluados son efectivos contra *S. aureus* meticilino resistente y podrían contribuir en la terapia farmacológica contra microorganismos resistentes a los antibióticos.

En ese sentido, la región orofacial es única debido a su importancia en las interacciones sociales, incluida la comunicación y la expresión emocional, y en la supervivencia con la masticación. Desde las perspectivas más fundamentales de la relación de salud oral-sistémica, una buena salud bucal garantiza que una persona pueda comer, hablar y socializar sin dolor ni vergüenza. Existen relaciones de salud oral-sistémica más complejas en las que una mala salud bucal puede contribuir a enfermedades sistémicas, incluidos los vínculos entre las enfermedades orofaciales y, por ejemplo, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, la neumonía o la artritis reumatoide. En consecuencia, una

buena salud bucal es componente importante para la salud y el bienestar en general.<sup>38</sup>

Se ha establecido además, que las restricciones económicas de la población afectarían la calidad de su salud bucal pues influyen en la persistencia de las enfermedades orales más prevalentes, que, a largo plazo, se convierten en patologías crónicas irreversibles.<sup>39</sup> Esta mención es importante, tomando en cuenta que en Perú, se han descrito varias desigualdades en salud por regiones naturales o administrativas, entornos de residencia rural y urbana, grupos de edad, quintiles de ingresos, entre otros. Estas desigualdades están relacionadas con el sistema de salud fragmentado y la baja inversión que se ha realizado. La salud bucal es uno de los aspectos más desatendidos del sistema de salud peruano, con una mínima utilización de los servicios dentales a pesar de una alta prevalencia de patologías oro-dentales.<sup>40</sup>

El microbioma oral es natural y tiene una relación simbiótica con el huésped al brindar importantes beneficios. La relación entre el microbioma y el huésped es dinámica y, por lo tanto, susceptible de cambiar si se producen perturbaciones importantes en el medio ambiente. En salud bucal, se alcanza un equilibrio dinámico entre el huésped, el medio ambiente y el microbioma. Sin embargo, la ingesta frecuente de sacarosa y / o las reducciones en el flujo salival dan como resultado períodos prolongados de pH bajo en la biopelícula, alterando la relación simbiótica. Tales condiciones inhiben el crecimiento de especies beneficiosas e impulsan la selección de bacterias acidogénicas y acidúricas, incrementado el riesgo de caries.<sup>42</sup>

La caries dental es una enfermedad dinámica, atribuida a diversos factores que provocan la degeneración localizada del esmalte dental por exposición a los ácidos originados por fermentación microbiana de azúcares.<sup>43</sup> Se sabe que cuanto más ácido se produzca en la boca, la desmineralización del diente será mayor.<sup>44</sup> El avance de la caries, conlleva a la formación de una cavidad en el diente que normalmente va acompañado de dolor e incomodidad. Si la lesión avanza hacia la pulpa dental, conduciría a una infección y podría desencadenar sepsis y pérdida de la pieza dental afectada. La cavitación es el criterio común para la detección de caries en la mayoría de los estudios epidemiológicos a nivel mundial.<sup>45</sup>

La caries dental es una enfermedad que resulta de la disbiosis del microbioma con la participación de múltiples especies cariogénicas, incluido *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp., y *Actinomyces* que tienen los rasgos cariogénicos de producción de ácido y tolerancia a los ácidos. La transmisión de *S. mutans* que abarca múltiples fuentes pudiendo tener impactos a largo plazo en el microbioma oral y el desarrollo de caries.<sup>45-47</sup> El potencial cariogénico y virulencia de *S. mutans* está asociado a su alta capacidad de adhesión a la superficie dental, producir ácidos orgánicos mediante la fermentación de carbohidratos de la dieta, sobrevivir en esas condiciones y sintetizar una amplia gama de polisacáridos extracelulares (EPS) solubles e insolubles a través de exoenzimas tipo glucosiltransferasas a partir de la sacarosa.<sup>48-50</sup> El hecho de que *S. mutans* haya sido claramente reconocida como la principal especie bacteriana implicada en la caries dental ha llevado a la implementación de medidas preventivas y de control tendientes a eliminar o reducir su presencia en la cavidad bucal. Se han diseñado diferentes estrategias para tal fin, pero por falta de continuidad, sistematización, regulación y supervisión, no han resultado muy efectivas.<sup>51</sup>

Las terapias utilizadas actualmente para contrarrestar el efecto de la caries, como el flúor y la clorhexidina, si bien son efectivas, han reportado tener efectos colaterales y provocar el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos en los agentes expuestos. Por lo tanto, se necesita con urgencia el desarrollo de inhibidores alternativos para controlar el desarrollo de *S. mutans*.<sup>52</sup> En este contexto, la fitoterapia presenta recursos valiosos ricos en compuestos bioactivos contra varios agentes infecciosos incluidos los involucrados en el desarrollo de caries dental.<sup>53</sup> Actualmente se está estudiando el uso de los extractos crudos y aceites esenciales con la intención de identificar agentes antimicrobianos alternativos contra *S. mutans*.<sup>54</sup> Los principios bioactivos de origen vegetal son los compuestos polifenólicos que alteran la permeabilidad de la membrana celular y la actividad enzimática del microorganismo ocasionando su muerte. De igual manera estas sustancias pueden provocar cambios en la expresión de genes que codifican la formación de biopelículas incapacitándolos para esa función.<sup>55</sup>

Los extractos de plantas juegan un papel importante debido a sus propiedades nutricionales, visuales y gustativas. La mayoría de las aplicaciones de extractos

de plantas ricos en compuestos fenólicos están relacionadas con su actividad antioxidante y antimicrobiana pudiendo actuar como inhibidores de microorganismos patógenos.<sup>56</sup> Algunos flavonoides importantes son la apigenina, miricetina, quercetina, kaempferol y galato de epigallocatequina. La apigenina afecta la acumulación y el contenido de polisacáridos de las biopelículas de *S. mutans*. Por su parte la miricetina inhibe la capacidad de *S. mutans* para formar biopelículas, inhibe la actividad de la glucosiltransferasa y reduce la expresión del grupo de genes *gtfBC*, que participan en la síntesis de glucanos. La quercetina y el kaempferol inhiben significativamente la acidogenicidad, la acidez, la actividad F-ATPasa y el crecimiento de *S. mutans*.<sup>53-56</sup>

*Cymbopogon citratus* pertenece a la familia Poaceae y se le denomina comúnmente “hierba limón” y en algunas regiones del país “hierba luisa”. Esta planta es una de las fuentes importantes de aceites esenciales para las industrias de aromas y fragancias en todo el mundo. También se utiliza mucho en diversas medicinas tradicionales como infusión o en decocción. Contiene principios activos como taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, fenoles y antraquinonas en el extracto total, mientras que su aceite esencial es rico en citral (potente compuesto bioactivo con actividad antimicrobiana comprobada), geranial, nerol, mirceno, geraniol, linalol, tumerona, eugenol, isoeugenol, limoneno, burneol, citronelol, neral,  $\alpha$ -terpineol y  $\alpha$ -cariofileno.<sup>30, 57, 58</sup>

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación

Estudio de tipo básico porque su finalidad es incrementar el conocimiento preexistente sobre el tema. Los resultados obtenidos en la investigación no pueden ser aplicados para solucionar problemas prácticos en la realidad, sino que permiten generar las bases para futuras investigaciones.<sup>59</sup>

Su diseño es experimental puro, pues el investigador manipula una o más variables independientes, las cuales son sometidas a una o más variables dependientes para establecer su efecto sobre estas.<sup>60</sup>

#### 3.2. Variables y operacionalización

Variable Independiente: Extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa). Es una variable de tipo cuantitativa. Su definición conceptual es el producto total de la maceración hidroetanólica del material vegetal seco de *C. Citratus* que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal (Anexo 1).<sup>26</sup>

Variable dependiente: Efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Es una variable cuantitativa. Su definición conceptual indica que es la capacidad de una sustancia de inhibir el crecimiento de *S. mutans* ATCC 25175 en condiciones *in vitro* (Anexo 1).<sup>61</sup>

#### 3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis

La población estuvo constituida por la planta *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) y la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La muestra estuvo conformada por 10 concentraciones (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 µg/mL) del extracto hidroetanólico de *C. Citratus* y la concentración del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175 equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

El muestreo en las investigaciones experimentales fue equivalente al cálculo de repeticiones mediante<sup>62</sup> (Anexo 2). Las unidades de Análisis fueron 10 cada grupo experimental (Anexo 3). Se evaluaron 12 grupos experimentales que corresponden a 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de *C. Citratus*, un grupo control positivo (clorhexidina 0,12%) y el grupo control

negativo (Dimetilsulfóxido DMSO 1%). Esto hace un total de 120 unidades de análisis bajo el siguiente detalle: Grupo 1 (concentración de extracto 10 µg/mL); Grupo 2 (20 µg/mL); Grupo 3 (30 µg/mL); Grupo 4 (40 µg/mL); Grupo 5 (50 µg/mL); Grupo 6 (60 µg/mL); Grupo 7 (70 µg/mL); Grupo 8 (80 µg/mL); Grupo 9 (90 µg/mL); Grupo 10 (100 µg/mL); Grupo 11 (Clorhexidina 0,12%); Grupo 12 (DMSO 1%) (Anexo 2).

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

La técnica fue la experimentación. La fiabilidad de los datos obtenidos se garantizó mediante la aplicación de métodos estandarizados por el *Clinical and Laboratory standard institute* (CLSI).<sup>63</sup> Estos métodos consistieron en la espectrofotometría con el cual se estandarizó el inóculo de *S. mutans* ATCC 25175. La inoculación microbiana se realizó por el método de diseminación en superficie con hisopo. La dosificación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *C. Citratus* (hierba luisa) se hizo mediante el pesado en µg del extracto total seco en balanza analítica y su dilución en volumen en mL del solvente inerte medido con micropipeta de rango variable. La actividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) se determinaron por el método de microdilución. Los halos de inhibición se midieron con un vernier mecánico de la marca Starrett®.<sup>63-67</sup> El procesamiento microbiológico fue realizado por un especialista en microbiología (Anexo 3-4).

### **3.5. Procedimientos**

#### **Obtención y certificación del material vegetal**

El material vegetal *C. Citratus* (hierba luisa) fue recolectado en el Vivero Forestal (F02L05) ubicado en la Jr. Junín s/n Urb. Hancoccca del distrito Marangani, provincia de Canchis y departamento de Cusco durante el mes de junio del 2021 e identificado taxonómicamente en el *Herbarium Piurense* (Anexo 5).

#### **Obtención del extracto hidroetanólico y dosificación**

El material vegetal recolectado fue transportado vía terrestre envuelto en papel Kraft desde el punto de colecta hasta al laboratorio de Investigación

*Science Experiment* E.I.R.L. en la ciudad de Trujillo donde se realizó la selección de las hojas de color verde homogéneo verdes y sin signos de daño mecánico microbiano o por insecto. Las hojas seleccionadas fueron lavadas dos veces con agua corriente con la finalidad de eliminar impurezas. Luego fueron cortadas en bloques de 5 cm aproximadamente para facilitar su secado y posterior molienda. El material vegetal fue secado en estufa a 40 °C durante 48 horas y posteriormente pulverizado en molino artesanal marca corona. Luego fue pesado y depositado en un matraz Erlenmeyer para el proceso de extracción hidroetanólica mediante maceración con agitación durante 72 h/40 °C en agitador magnético con calefacción marca FOUR E'S Scientific modelo MI0102003. Obtenido el extracto, el sobrenadante fue decantado en matraz estéril y filtrado dos veces con papel de filtro Whatman N° 1 y N° 2. El extracto seco se obtuvo luego de la exposición del filtrado en estufa microbiológica a 38 °C durante 24 h. Las 10 concentraciones del extracto total se obtuvieron por disolución del extracto seco en dimetilsulfóxido al 1 % (DMSO Sigma®). El diluyente DMSO 1% fue utilizado control negativo (Anexo 6).<sup>63-67</sup>

#### **Obtención de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175**

La bacteria *S. mutans* cepa ATCC 25175 certificada, se adquirió mediante importación por la empresa de GenLab del Perú S.A.C en estado liofilizado (Anexo 6).

#### **Medios de cultivo y condiciones de cultivo**

La cepa bacteriana fue reactivada en caldo Mueller-Hinton (Merck®) y en Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®). Las condiciones microbiológicas de cultivo fueron en microaerofilia a 37 °C durante 24 horas. La cepa reactivada se mantuvo viable en Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) en el cual también se realizó la determinación del efecto antibacteriano (Anexo 6).

#### **Obtención y estandarización del inóculo bacteriano**

El inóculo bacteriano fue preparado a partir de las unidades formadoras de colonia (UFC) que desarrollaron en Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) después de la reactivación de la cepa. La estandarización del inóculo se realizó turbidimétricamente en un espectrofotómetro de luz visible marca

Kyntel® modelo KV-1200. El estándar 0,5 de concentración MacFarland fue equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL con una absorbancia de 0,09 a una longitud de onda de 625 nm (Anexo 6).<sup>63-67</sup>

## **Evaluación del efecto antibacteriano**

### **Método Difusión en Disco**

A partir del inóculo estandarizado previamente y en condiciones de esterilidad se realizó la siembra por el método de dispersión en superficie sobre placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®). Pasados 15 minutos se incorporaron los discos de sensibilidad con cada una de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *C. Citratus* y controles. Las placas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego fueron selladas con cinta Parafilm para generar las condiciones de microaerofilia. La incubación se realizó en estufa microbiológica marca Kyntel modelo HHA-12 a 37 °C durante 24 h (Anexo 6).<sup>63-67</sup>

### **Método de Microdilución**

Con este método se realizó la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB). Para ello, se empleó una microplaca estéril de 96 pocillos con tapa. Los pocillos de la microplaca codificados con números del 1 al 10 correspondieron a cada una de las concentraciones del extracto, el número 11 al control positivo y el número 12 al control negativo. Los pocillos codificados con letras de la A hasta la H se constituyeron en replicaciones. A cada pocillo se incorporó 50 µL de las concentraciones de los extractos y 50 µL del inóculo bacteriano. Las microplacas se incubaron a 37°C °C durante 20 horas. El volumen final en cada pocillo fue de 100 µL. Finalizada la incubación se tomó una alícuota de cada uno de los pocillos donde no se observó crecimiento microbiano y se inocularon placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) para la corroboración de la CMI y CMB (Anexo 6).<sup>63-67</sup>

### **Lectura de resultados.**

Los resultados en el método Difusión en disco se obtuvieron mediante la medición con un vernier mecánico marca Starrett® de los halos de inhibición formados alrededor de los discos de sensibilidad con cada una de las

concentraciones del extracto y los controles. Estas mediciones se reportaron en mm según tratamiento  $\pm$  desviación estándar y registrada en la ficha de recolección de datos. Respecto al método de microdilución, la CMI fue la concentración más baja en la que no se observó crecimiento bacteriano. La CMB se determinó mediante la ausencia de UFC en las placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) sembradas a partir de los pocillos donde no se observó crecimiento (Anexo 6).<sup>63-67</sup>

### **3.6. Método de análisis de datos**

Los resultados obtenidos se registraron en una ficha de recolección de datos y se tabularon en el programa Excel 2019. El análisis de datos se realizó con el paquete estadístico SPSS v.26. Se realizó el análisis de la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. A los datos normales se le realizó comparación de medias mediante ANOVA unidireccional y la significancia estadística mediante comparaciones múltiples del análisis post hoc de Tukey con un nivel de confianza del 95% (Anexo 7).<sup>62</sup>

### **3.7. Aspectos éticos**

Se realizó una manipulación responsable y segura de la cepa bacteriana de interés. Para ello, se cumplió la normativa establecida en el Manual de Bioseguridad y Gestión de residuos comunes y biocontaminados del laboratorio Science Experiment E.I.R.L.; del Ministerio de Salud (MINSA)<sup>68</sup> y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>69</sup>

#### IV. RESULTADOS

Tabla 1. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) y un control clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Concentración Sustancias	N	Zona de inhibición en mm sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175										Sig. **	
		Sc*1	Sc2	Sc3	Sc4	Sc5	Sc6	Sc7	Sc8	Sc9	Sc10		
DMSO 1% -	10	0,00 ± 0,000											
CLX 0,12% +	10		14,48 ± 0,413										
10 µg/mL	10			16,37 ± 0,485									
20 µg/mL	10				17,15 ± 0,347								
30 µg/mL	10					18,45 ± 0,384							
40 µg/mL	10						19,74 ± 0,440						0,010
50 µg/mL	10							20,13 ± 0,245					
60 µg/mL	10								21,44 ± 0,357				
70 µg/mL	10									22,62 ± 0,312			
80 µg/mL	10										23,75 ± 0,438		
90 µg/mL	10											24,22 ± 0,365	
100 µg/mL	10												25,47 ± 0,362
Sig.***		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,427	1,000	1,000	0,167	1,000		

Fuente: Base de datos

\*Sc= subconjuntos homogéneos (media ± Desviación estándar).

\*\* Sig. = Significancia: ANOVA (Intervalo de confianza del 95% para la media).

\*\*\* Sig.= *p*= Significancia (HSD Tukey<sup>a</sup>).

- Dimetilsulfóxido

+ Gluconato de Clorhexidina

En la tabla 1 se observa la comparación de las medias de halos de inhibición para los grupos en los subconjuntos homogéneos mediante el análisis de comparaciones múltiples de Tukey. Un subconjunto homogéneo es la agrupación de los promedios de halos de inhibición que no presentan diferencias estadísticas significativas entre sí por lo que se consideran iguales ( $p > 0,05$ ). Como se puede apreciar en la columna de concentración/sustancia se observan los 12 grupos experimentales (10 concentraciones del extracto, el control negativo y el control positivo). Si el efecto antibacteriano de cada uno de estos grupos fuese distinto se habrían formado 12 subconjuntos homogéneos, sin embargo, se observan solo 10. Esto debido a que en el subconjunto 6 se están agrupando las medias de los halos de inhibición (efecto antibacteriano) de las concentraciones de 40  $\mu\text{g/mL}$  ( $19,74 \pm 0,440$  mm) y 50  $\mu\text{g/mL}$  ( $20,13 \pm 0,245$  mm) y se consideran estadísticamente iguales. Lo mismo sucede en el subconjunto 9 donde se agrupan las medias de los halos de inhibición de las concentraciones de 80  $\mu\text{g/mL}$  ( $23,75 \pm 0,438$  mm) y 90  $\mu\text{g/mL}$  ( $24,22 \pm 0,365$  mm) y que al no tener diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) se consideran efectos antibacterianos iguales.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN µg/mL											C-*	C+**
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100			
<i>S. mutans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
ATCC 25175	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-

**CMI**

Fuente: Base de datos

(+) = Presencia de crecimiento Bacteriano.

(-) = Ausencia de Crecimiento Bacteriano.

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

En la tabla 2 se denota la inhibición del crecimiento de *S. mutans* ATCC 25175 al exponerse a 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de *C. Citratus* (hierba luisa). Se observa que no hubo crecimiento bacteriano a partir de la concentración de 10 µg/mL y al ser esta la concentración más baja evaluada indica que esta fue la concentración mínima inhibitoria (CMI). El crecimiento microbiano solo fue observable en el control negativo.

Tabla 3. Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

BACTERIA	CONCENTRACIÓN $\mu\text{g/mL}$											C-*	C+**
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100			
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-
<b>CMB</b>													

Fuente: Base de datos

(+) = Presencia de crecimiento Bacteriano.

(-) = Ausencia de Crecimiento Bacteriano.

CMB: Concentración Mínima Bactericida.

En la tabla 3 se aprecia el efecto antibacteriano sobre *S. mutans* ATCC 25175 de a 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de *C. Citratus* (hierba luisa). No se observó crecimiento bacteriano desde la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ . Se corroboró esta inhibición con siembra en placa y tampoco se observó crecimiento bacteriano lo que indica que la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  no solo fue la concentración mínima inhibitoria (CMI) sino también la concentración mínima bactericida (CMB). El crecimiento microbiano solo fue observable en el control negativo.

## V. DISCUSIÓN

*Cymbopogon citratus* es una planta conocida comúnmente como “hierba limón” y en algunas localidades del Perú como “hierba luisa”. Este vegetal viene siendo utilizado durante muchos años con fines medicinales. Su potencial farmacológico es reconocido tanto en su aceite esencial como en los extractos obtenidos de sus hojas. Sus propiedades antibacterianas se han comprobado tanto en organismos gram positivos como gram negativos. La finalidad de la presente investigación fue evaluar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones del extracto hidroetanólico total de *C. citratus*, comparar el efecto de cada una de las concentraciones con la sustancia Gluconato de clorhexidina 0,12% utilizado como control positivo. Los resultados se expresaron en mm de diámetro de halo de inhibición y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).

Se reportaron halos de inhibición de  $16,37 \pm 0.485$  mm para la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $17,15 \pm 0.347$  mm para 20  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $18,45 \pm 0.384$  mm para 30  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $19,74 \pm 0.440$  mm para 40  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $20,13 \pm 0.245$  mm para 50  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $21,44 \pm 0.357$  mm para 60  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $22,62 \pm 0.312$  mm para 70  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $23,75 \pm 0.438$  mm para 80  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $24,22 \pm 0.365$  mm para 90  $\mu\text{g/mL}$ ; de  $25,47 \pm 0.362$  mm para 100  $\mu\text{g/mL}$ . La clorhexidina 0,12% formó un halo de inhibición de  $14,48 \pm 0.413$  mm, mientras que el control negativo dimetilsulfóxido 1% (DMSO) no formó halo de inhibición. Tanto la CMI como la CMB fueron establecidas a la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ .

En ese sentido; Gao, et al<sup>23</sup> evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial *Cymbopogon flexuosus* y su componente activo citral contra biofilms formado por *Staphylococcus aureus* y *Candida*. Ellos indicaron que la MIC del aceite esencial de *C. flexuosus* contra *S. aureus* planctónico fue de 8  $\mu\text{g/mL}$ . Mientras que la MIC del compuesto purificado citral contra *S. aureus* fue de 3,2  $\mu\text{g/mL}$ . Como podemos observar estos resultados se relacionan con los obtenidos en la presente investigación pues si bien, Gao, et al<sup>23</sup> investigó la actividad antibacteriana del aceite esencial, este se encuentra dentro de los extractos totales como el que fue investigado en este estudio, otra similitud radica en que ellos evaluaron el efecto sobre *S. aureus* que es una bacteria coco

grampositivo similar al *S. mutans* utilizado en la presente investigación. Se observa que la MIC determinada por Gao, et al<sup>23</sup> para *S. aureus* fue de 8 µg/mL y en el presente estudio se estableció una MIC de 10 µg/mL para *S. mutans*. Con estos resultados se corrobora que las propiedades antibacterianas de *Cymbopogon* se conservan en otras especies del género pues mientras Gao, et al<sup>23</sup> estudió la especie *C. flexuosus* en esta investigación se evaluó a *C. citratus*. Por su parte, Subramaniam, et al<sup>24</sup> evaluaron la actividad antibacteriana de *C. citratus* contra bacterias clínicamente importantes. Ellos reportaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de *C. citratus* mediante la formación de zonas de inhibición que fluctuaron entre 10 mm y 20 mm en *P. mirabilis*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae*. Lo cual se relaciona con la presente investigación pues se obtuvo un halo de inhibición muy similar (20 mm) con la concentración de 50 µg/mL. Del mismo modo, Leja, et al<sup>25</sup> compararon la efectividad de aceites comerciales de distintas plantas incluida *Cymbopogon citratus* con aceites obtenidos en laboratorio. Reportaron que el aceite esencial extraído de *C. citratus* formó halos de inhibición de 18,1 a ± 1,9 mm sobre *P. orientalis*. La CIM fueron calculadas en 70,6 a ± 0,33 mg/mL y 98 ± 0,5 mg/mL para el aceite comercial y el aceite extraído respectivamente. Los resultados de leja se relacionan solo respecto al diámetro del halo de inhibición obtenido, en el caso de nuestra investigación, a 30 µg/mL (18,45 ± 0.384 mm). Sin embargo difiere respecto a la CIM que es mucho mayor a la reportada en la presente investigación.

Al respecto, Boeira, et al<sup>26</sup> investigaron la caracterización fitoquímica y la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Cymbopogon citratus* para su aplicación como antioxidante natural en embutidos frescos. Comunicaron que las zonas de inhibición formadas fueron para *E. coli* 9,30 ± 0,14 mm; para *S. enteritidis* 10,02 ± 0,04 mm y para *S. aureus* 10,60 ± 0,27 mm. Concluyeron que el extracto *C. citratus* puede mantener la calidad de la salchicha de pollo refrigerada hasta por 42 días de almacenamiento. De igual manera, Basera, et al<sup>27</sup> estudiaron el potencial de nanopartículas de plata desarrolladas a partir del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* contra bacterias patógenas. Sus resultados mostraron que las nanopartículas sintetizadas a partir

de la concentración de 25 µg/mL del extracto metanólico de *C. citratus* formó zonas de inhibición de  $1,41 \pm 0,12$  mm sobre *B. cereus*; de  $1,92 \pm 0,07$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $2,51 \pm 0,44$  mm sobre *E. coli* y de  $2,91 \pm 0,12$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 50 µg/mL formó zonas de inhibición de  $6,93 \pm 0,08$  mm sobre *B. cereus*; de  $7,52 \pm 0,42$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $8,12 \pm 0,12$  mm sobre *E. coli* y de  $9,12 \pm 0,14$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 100 µg/mL formó zonas de inhibición de  $12,23 \pm 0,4$  mm sobre *B. cereus*; de  $13,24 \pm 0,12$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $18,96 \pm 0,46$  mm sobre *E. coli* y de  $19,23 \pm 0,24$  mm sobre *P. aeruginosa*. La concentración de 150 µg/mL formó zonas de inhibición de  $20,12 \pm 0,42$  mm sobre *B. cereus*; de  $20,12 \pm 0,42$  mm sobre *B. licheniformis*; de  $31,87 \pm 0,24$  mm sobre *E. coli* y de  $35,23 \pm 0,46$  mm sobre *P. aeruginosa*. La CMI y la CMB para todas las bacterias evaluadas fue 25 µg/mL y 50 µg/mL respectivamente. En ambos casos, sus resultados difieren de los obtenidos en la presente investigación, tanto en los diámetros de halos de inhibición que fueron menores y con una concentración más elevada, como con la determinación de la CMI y la CMB.

Por su parte, Ebani, et al<sup>28</sup> investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de aceites esenciales de diferentes plantas incluidas *Cymbopogon citratus* contra *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* aisladas de aves de corral. La actividad antibacteriana fue determinada por el método de difusión en disco y la más alta se obtuvo con el aceite esencial de *C. zeylanicum* con MIC que van desde 1,26 mg/mL a 0,63 mg/mL. En el caso del aceite esencial de *C. citratus* formó zonas de inhibición de  $7,0 \pm 0,0$  mm tanto sobre *S. enteritidis* como *S. typhimurium*. Con una MIC de 17,9 mg/mL para ambas bacterias. Estos resultados difieren con los obtenidos en la presente investigación, probablemente se deba a que se trabajó sobre bacterias morfológica y fisiológicamente distintas. Similarmente diferencias existen con los resultados reportados por Iram, et al<sup>29</sup> quienes evaluaron el potencial biológico de extractos de metanol y n-hexano de partes aéreas de siete especies de la familia Poaceae. Observaron un potencial antimicrobiano máximo en el extracto metanólico y hexanólico de *Cymbopogon citratus*. Los organismos más susceptibles e inhibidos por la mayoría de los extractos fueron *Staphylococcus aureus* y *Bacillus spizizenii* seguidos de *Listeria monocytogenes*. *C. citratus* formó zonas de

inhibición de  $7.0 \pm 0.5$  mm sobre *S. aureus* con una MIC a  $50 \mu\text{g/mL}$ ; de  $9.0 \pm 2.0$  mm sobre *L. monocytogenes* con una CIM a  $50 \mu\text{g/mL}$ . Sobre *B. spizizenii* formó un halo de inhibición de  $8.0 \pm 2.3$  mm con una MIC a  $75 \mu\text{g/mL}$ . Los halos fueron menores a los obtenidos en el presente estudio con la misma concentración, debido quizás a la diferencia de microorganismo y de extractos evaluados.

Sn embargo los resultados obtenidos en este estudio se relacionan parcialmente con los reportados por Erhabor, et al<sup>30</sup> quienes evaluaron las propiedades antibacterianas, fitoquímicas y citogenotxicológicas del extracto acuoso de hoja de *Cymbopogon citratus*. Las zonas inhibición más grandes se generaron con las tres concentraciones sobre *S. saprophyticus* y *K. pneumoniae*, a la concentración de  $12,5 \text{ mg/mL}$  los halos fueron de  $12,67 \pm 0,88$  mm y  $3,00 \pm 0,58$  mm, respectivamente; a  $25 \text{ mg/mL}$  halos de  $17,67 \pm 1,20$  mm y  $7,00 \pm 0,28$  mm y a  $50 \text{ mg/mL}$  halos de  $21,33 \pm 1,20$  mm y  $13,00 \pm 1,15$  mm, respectivamente. La CMI la mayoría de bacterias fue  $1,56 \text{ mg/mL}$  a excepción de *P. mirabilis* que fue  $3.13 \text{ mg/mL}$ . La CMB fue  $3.13 \text{ mg/mL}$  en todas las cepas evaluadas. La relación parcial se da en el diámetro del halo de inhibición, mas no en la concentración. Coincidentemente, Oliveira, et al<sup>31</sup> investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* Contra *Staphylococcus* spp. aislado de bebés recién nacidos en una unidad de cuidados intensivos. Las 107 cepas probadas fueron inhibidas por tratamiento con el aceite esencial de *C. citratus*. Los diámetros medios del halo de inhibición para las cepas de *S. aureus* y *Staphylococcus no aureus* fueron  $31,4$  mm y  $30,47$  mm, respectivamente. Estos halos fueron más grandes que los obtenidos con el antibiótico vancomicina, que fueron de  $21,52$  mm y  $21,1$  mm, respectivamente. Las concentraciones mínimas inhibitorias y bactericidas para el aceite de *C. citratus* fueron  $0,625 \text{ mg/mL}$  en todas las cepas analizadas. La diferencia se observa tanto en los halos de inhibición que fueron muy superiores a los reportados en esta investigación, pero probablemente a que también se utilizaron concentraciones del antimicrobiano más elevadas.

Diferencias también se observan con los resultados reportados por Elansary, et al<sup>32</sup> quienes determinaron la bioactividad y los perfiles fenólicos de las plantas

medicinales tradicionales entre las que se encontraba *Cymbopogon citratus*. Respecto al extracto de *Cymbopogon citratus* establecieron que la CMI para *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *M. flavus* y *S. aureus* fueron  $0,09 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,15 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,20 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,15 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,13 \pm 0,02$  mg/mL y  $0,25 \pm 0,02$  mg/mL respectivamente. La CMB para las mismas bacterias fueron  $0,17 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,33 \pm 0,03$  mg/mL;  $0,41 \pm 0,01$  mg/mL,  $0,41 \pm 0,01$  mg/mL;  $0,27 \pm 0,01$  y  $0,47 \pm 0,01$  mg/mL respectivamente. Todas las CMI reportadas por ellos fueron superiores a la de la presente investigación, probablemente por la diferencia de microorganismos evaluados que son bacterias con alto grado de patogenicidad y virulencia.

Hemos observado que el potencial antibacteriano de los extractos y aceites esenciales de *C. citratus* se ha confirmado en bacterias tanto gram positivas como gram negativas también se conoce de su potencial sobre bacterias que no se ajustan a ninguno de esos grupos y además que tienen resistencia a los antibióticos. Al respecto, Mohamad, et al<sup>33</sup> evaluaron la actividad antituberculosa de *Costus speciosus*, *Cymbopogon citratus* y *Tabernaemontana coronaria* y sus efectos sobre la cinética de crecimiento y la integridad celular de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Reportaron que el extracto de n-hexano de *C. speciosus*, *C. citratus* y *T. coronaria* exhibieron la actividad anti-TB más alta con concentraciones inhibitorias mínimas (CMI) de 100-200 µg/mL y concentración bactericida mínima (MBC) de 200 µg/mL. Las particiones de tallo-rizoma de *C. citratus* que exhibieron actividad anti-TB fueron n-hexano (MIC: 200 µg / mL), cloroformo y acetato de etilo (MIC: 1600 µg / mL).

Por su parte, Javed, et al<sup>34</sup> realizaron la detección y caracterización de fármacos naturales con potencial antibacteriano a partir de plantas medicinales como *Cymbopogon citratus* entre otras. Comunicaron que el extracto etanólico de hojas de *Rosmarinus officinalis* mostró el efecto inhibitor más prometedor con zonas de inhibición de  $18,17 \pm 0,01$  mm frente a *Klebsiella pneumoniae* y de  $15,5 \pm 0,29$  mm frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* ( $p < 0,05$ ). Los valores de MIC se registraron en el rango de 1 a 20 mg/mL. La inhibición del extracto etanólico de *C. citratus* sobre *E. coli* fue de  $14,3 \pm 0,33$  mm; sobre *K. pneumoniae* fue de  $15,17 \pm 0,44$  mm; sobre *P. vulgaris* fue de  $7 \pm 0,58$  mm y

sobre *S. aureus* fue de  $14.33 \pm 0.33$  mm. Al respecto, De Silva, et al<sup>35</sup> examinaron la actividad antimicrobiana del aceite de *Cymbopogon citratus* contra las bacterias patógenas *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*. Reportaron que la sensibilidad se incrementa gradualmente con el aumento de la concentración. *E. tarda* fue la especie más susceptible con la zona de inhibición más alta (44 mm). La inhibición más alta registrada para *A. hydrophila* fue de 32 mm. En el caso de *A. caviae*, la inhibición más alta observada fue de 18 mm. En ese sentido, Kačániová, et al<sup>36</sup> determinaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de 21 aceites esenciales contra especies de *Pseudomonas* spp. Todos los AE evaluados mostraron actividad antimicrobiana, sin embargo, *Cinnamomum zeylanicum* fue el más eficaz contra *Pseudomonas* spp. El aceite esencial de *Cymbopogon nardus* formó zonas de inhibición de  $4,66 \pm 0,58$  mm sobre *P. agglomerans*; de  $5,00 \pm 1,00$  mm sobre *P. antarctica*; de  $3,33 \pm 0,58$  mm sobre *P. brassicacearum*; de  $4,67 \pm 0,58$  mm sobre *P. frederiksbergensis* y de  $4,33 \pm 0,57$  mm sobre *P. koreensis*. La CMI del aceite esencial de *C. nardus* para las diferentes especies de *Pseudomonas* varió entre  $12,5 \mu\text{L/mL}$  y  $100 \mu\text{L/mL}$ . Por su parte, Uzair, et al<sup>37</sup> investigaron la eficacia de aceites esenciales dentro de los que se encontraba el de *Cymbopogon citratus* para inhibir el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Reportaron que todos los aceites esenciales inhibieron el crecimiento de *S. aureus* en diferentes grados, al exhibir zonas de inhibición de moderadas a elevadas. A la concentración de  $25 \mu\text{L/mL}$  de aceites esenciales, se formaron zonas de inhibición de  $9 \pm 0.085$  mm y  $8 \pm 0.051$  mm, y a concentraciones elevadas hubo una disminución total en el crecimiento de MRSA con una zona de inhibición muy clara. Todos estos últimos estudios confirman el potencial antibacteriano de *Cymbopogon citratus*, sin embargo los resultados no son concluyentes debido a que existe demasiada variabilidad asociada al tipo de producto evaluado de la planta, la concentración del antimicrobiano y el tipo de microorganismo.

## VI. CONCLUSIONES

1. El efecto antibacteriano de las 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) fueron superiores al del control positivo Gluconato de clorhexidina 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, así mismo, el efecto de las concentraciones de 40 µg/mL y 50 µg/mL y las concentraciones 80 µg/mL y 90 µg/mL fue considerado estadísticamente iguales entre sí.
2. La concentración de 10 µg/mL fue establecida como la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
3. La concentración de 10 µg/mL fue establecida como la concentración mínima bactericida (CMI) del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar concentraciones menores a 10  $\mu\text{g/mL}$  el extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) para establecer si el potencial antibacteriano se conserva.
2. Evaluar el grado de citotoxicidad de la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  sobre líneas celulares humanas.
3. Evaluar el grado de genotoxicidad de la concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  sobre líneas celulares humanas.

## REFERENCIAS

1. Bernabe E, Marcenes W, Hernandez CR, Bailey J, Abreu LG, Alipour V, et al. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 99(4):362-373. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034520908533>.
2. Dye BA. The Global Burden of Oral Disease: Research and Public Health Significance. *J Dent Res* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 96(4):361-363. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034517693567>.
3. Wong A, Subar PE, Young DA. Dental Caries: An Update on Dental Trends and Therapy. *Adv Pediatr* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 64(1):307-330. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2017.03.011>.
4. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 85(3):202-206. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2381-6>.
5. Mardini S, Gohel A. Imaging of Odontogenic Infections. *Radiol Clin North Am* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 56(1):31-44. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rcl.2017.08.003>.
6. Horst JA, Tanzer JM, Milgrom PM. Fluorides and Other Preventive Strategies for Tooth Decay. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 62(2):207-234. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.11.003>.
7. Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 27:1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000487826>.
8. Chen X, Daliri E, Chelliah R, Oh D. Isolation and Identification of Potentially Pathogenic Microorganisms Associated with Dental Caries in Human Teeth Biofilms. *Microorganisms* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 8(10):1596: 1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101596>.
9. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, Abranches J, Brady LJ. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 7(1):1-26. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>.

10. Frese C, Wohlrab T, Sheng L, Kieser M, Krisam J, Frese F, et al. Clinical management and prevention of dental caries in athletes: A four-year randomized controlled clinical trial. *Sci Rep* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 8(1):16991. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34777-x>.
11. Featherstone JDB, Chaffee BW. The Evidence for Caries Management by Risk Assessment (CAMBRA®). *Adv Dent Res* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 29(1):9-14. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034517736500>.
12. James P, Worthington HV, Parnell C, Harding M, Lamont T, Cheung A, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev*. [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 3(3):CD008676. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008676.pub2>.
13. Fiorillo L. Chlorhexidine Gel Use in the Oral District: A Systematic Review. *Gels* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 5(2):31. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/gels5020031>.
14. Opstrup MS, Jemec GB, Garvey LH. Chlorhexidine Allergy: On the Rise and Often Overlooked. *Curr Allergy Asthma Rep* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 19(5):23. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11882-019-0858-2>.
15. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine - is it time to establish an 'antiseptic stewardship' initiative? *J Hosp Infect* [Internet]. 2016 [Citado 25 Jun 2021]; 94(3):213-227. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.08.018>.
16. Sidhu P, Shankargouda S, Rath A, Hesarghatta Ramamurthy P, Fernandes B, Kumar Singh A. Therapeutic benefits of liquorice in dentistry. *J Ayurveda Integr Med* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 11(1):82-88. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.12.004>.
17. Shah R, Gayathri GV, Mehta DS. Application of herbal products in management of periodontal diseases: A mini review. *Int J Oral Health Sci* [Internet]. 2015 [Citado 25 Jun 2021]; 5:38-44. Disponible en: <https://www.ijohsjournal.org/text.asp?2015/5/1/38/171166>.
18. Cruz C, Diaz M, Oh MS. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharm Biol* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 55(1):1992-1998. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1347188>.

19. Sidhu P, Shankargouda S, Rath A, Hesarghatta P, Fernandes B, Kumar A. Therapeutic benefits of liquorice in dentistry. *J Ayurveda Integr Med* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 11(1):82-88. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.12.004>.
20. Sahal G, Woerdenbag HJ, Hinrichs WL, Visser A, Tepper PG, Quax WJ, et al. Antifungal and biofilm inhibitory effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) essential oil on biofilm forming by *Candida tropicalis* isolates; an in vitro study. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 246:112188. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112188>.
21. Basera P, Lavania M, Agnihotri A, Lal B. Analytical Investigation of *Cymbopogon citratus* and Exploiting the Potential of Developed Silver Nanoparticle Against the Dominating Species of Pathogenic Bacteria. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 10:282. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00282>.
22. Itankar PR, Tauqeer M, Dalal JS. Toxicological and pharmacological profiling of organically and non-organically cultivated *Cymbopogon citratus*. *J Ayurveda Integr Med* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 10(4):233-240. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.04.002>.
23. Gao S, Liu G, Li J, Chen J, Li L, Li Z, et al. Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. *Front. Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 10:603858. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.603858>.
24. Subramaniam G, Yew XY, Sivasamugham LA. Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* against clinically important bacteria. *S Afr J Chem Eng* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 34:26-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.05.010>.
25. Leja K, Majcher M, Juzwa W, Czaczyk K, Komosa M. Comparative Evaluation of *Piper nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* and *Juniperus communis* L. Essential Oils of Different Origin as Functional Antimicrobials in Foods. *Foods* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 9(2):141. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods9020141>.

26. Boeira CP, Piovesan N, Flores DC, Soquetta MB, Lucas BN, Heck RT, et al. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* extract for application as natural antioxidant in fresh sausage. *Food Chem* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 319:126553. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126553>.
27. Basera P, Lavania M, Agnihotri A, Lal B. Analytical Investigation of *Cymbopogon citratus* and Exploiting the Potential of Developed Silver Nanoparticle Against the Dominating Species of Pathogenic Bacteria. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 10:282. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00282>.
28. Ebani VV, Nardoni S, Bertelloni F, Tosi G, Massi P, Pistelli L, et al. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Salmonella enterica* Serotypes Enteritidis and Typhimurium Strains Isolated from Poultry. *Molecules* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 24(5):900. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules24050900>.
29. Iram F, Tariq M, Sobia K. Microbiostatic, antioxidative and cytotoxic potentiation of some grasses of Bahawalpur, Pakistan. *J Tradit Chin Med* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 39(4):482-491. Disponible en: <http://www.journaltcm.com/modules/Journal/contents/stories/194/5.pdf>
30. Erhabor JO, Erhabor RC, Ldu M. In vitro antibacterial and cytogenotoxicological properties of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) leaf. *Afr Health Sci* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 19(2):2056-2067. Disponible en: <https://doi.org/10.4314/ahs.v19i2.29>.
31. Oliveira JB, Teixeira MA, Paiva LF, Oliveira RF, Mendonça AR, Brito MJ. In Vitro and In Vivo Antimicrobial Activity of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Against *Staphylococcus* spp. Isolated from Newborn Babies in an Intensive Care Unit. *Microb Drug Resist* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 25(10):1490-1496. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0047>.
32. Elansary HO, Szopa A, Kubica P, Ekiert H, Ali HM, Elshikh MS, et al. Bioactivities of Traditional Medicinal Plants in Alexandria. *Evid Based Complement Alternat Med* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 2018:1463579. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2018/1463579>.

33. Mohamad S, Ismail NN, Parumasivam T, Ibrahim P, Osman H, A Wahab H. Antituberculosis activity, phytochemical identification of *Costus speciosus* (J. Koenig) Sm., *Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees) Stapf., and *Tabernaemontana coronaria* (L.) Willd. and their effects on the growth kinetics and cellular integrity of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 18(1):5. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2077-5>.
34. Javed H, Tabassum S, Erum S, Murtaza I, Muhammad A, Amin F, et al. Screening and characterization of selected drugs having antibacterial potential. *Pak J Pharm Sci* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 31(3):933-939. Disponible en: <http://www.pjps.pk/wp-content/uploads/pdfs/31/3/Paper-28.pdf>.
35. De Silva BC, Jung WG, Hossain S, Wimalasena SH, Pathirana HN, Heo GJ. Antimicrobial property of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against pathogenic bacteria isolated from pet turtles. *Lab Anim Res* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 33(2):84-91. Disponible en: <https://doi.org/10.5625/lar.2017.33.2.84>.
36. Kačániová M, Terentjeva M, Vukovic N, Puchalski C, Roychoudhury S, Kunová S, et al. The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. *Saudi Pharm J* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 25(8):1108-1116. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.07.005>.
37. Uzair B, Niaz N, Bano A, Khan BA, Zafar N, Iqbal M, et al. Essential oils showing in vitro anti MRSA and synergistic activity with penicillin group of antibiotics. *Pak J Pharm Sci* [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 30(5):1997-2002. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29105634/>.
38. Peck CC. Putting the Mouth into Health: The Importance of Oral Health for General Health. In: Sasaki K, Suzuki O, Takahashi N. (eds) *Interface Oral Health Science*. Singapore. Springer; 2017. p. 81-86. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-10-1560-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-10-1560-1_7).
39. Pereira EJ, Correia L, De Oliveira YA, Bof F. Life expectancy with negative physical oral health impact on quality of life in older adults. *Cad Saúde Pública* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 36 (6): e00119119. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00119119>.

40. Hernández-Vásquez A, Bendezu-Quispe G, Azañedo D, Santero M. Use of oral health care services in Peru: trends of socio-economic inequalities before and after the implementation of Universal Health Assurance. *BMC Oral Health* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 19(39): 1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0731-7>.
41. Marsh PD. ¿In Sickness and in Health-What Does the Oral Microbiome Mean to Us? An Ecological Perspective. *Adv Dent Res* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 29(1):60-65. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034517735295>.
42. Zhan L. Rebalancing the Caries Microbiome Dysbiosis: Targeted Treatment and Sugar Alcohols. *Adv Dent Res* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 29(1):110-116. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034517736498>.
43. Tungare S, Paranjpe AG. Diet and Nutrition To Prevent Dental Problems. [Updated 2020 Aug 11]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [Citado 25 Jun 2021]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534248/>
44. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, Bozec L, Mudera V. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine*. [Internet]. 2016 [Citado 25 Jun 2021]; 11:4743-4763. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/IJN.S107624>.
45. Xuedong Z. *Dental Caries*. 1era. Ed. Berlín: Springer, Berlín, Heidelberg; 2016. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-662-47450-1>.
46. Astasov-Frauenhoffer M, Kulik EM. Cariogenic Biofilms and Caries from Birth to Old Age. *Monogr Oral Sci* [Internet]. 2021 [Citado 25 Jun 2021]; 29:53-64. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000510200>.
47. Fakhruddin KS, Ngo HC, Samaranayake LP. Cariogenic microbiome and microbiota of the early primary dentition: A contemporary overview. *Oral Dis* [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 25(4):982-995. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/odi.12932>.
48. Hu D, Gong J, He B, Chen Z, Li M. Surface properties and *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguinis* adhesion of fluorotic enamel. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2021 [Citado 25 Jun 2021]; 121:104970. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104970>.

49. Bottner A, He RY, Sarbu A, Nainar SM, Dufour D, Gong SG, et al. Streptococcus mutans isolated from children with severe-early childhood caries form higher levels of persisters. Arch Oral Biol [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 110:104601. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104601>.
50. Bojanich M A, Orlietti M D. Virulence Factors of Streptococcus mutans Related to Dental Caries. En: Kirmusaoğlu S, editor. Staphylococcus y Streptococcus. IntechOpen [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; DOI: 10.5772 / intechopen.85807. Disponible en: <https://doi.org/10.5772 / intechopen.85807>.
51. Gamboa F, Plazas L, García DA, Aristizabal F, Sarralde AL, Lamby CP, Abba M. Presence and count of S. mutans in children with dental caries: before, during and after a process of oral health education. Acta Odontol Latinoam [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 31(3):156-163. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/aol/v31n3/v31n3a06.pdf>.
52. Cui T, Luo W, Xu L, Yang B, Zhao W, Cang H. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen Streptococcus mutans. Curr Issues Mol Biol [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 32:601-644. Disponible en: <https://doi.org/10.21775/cimb.032.601>.
53. Chen X, Daliri E, Kim N, Kim J-R, Yoo D, Oh D-H. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. Pathogens [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 9(7): 569. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>.
54. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils- Present Status and Future Perspectives. Medicines (Basel) [Internet]. 2017 [Citado 25 Jun 2021]; 4(3):58. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>.
55. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. Virulence [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 9(1):522-554. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372>.
56. Bouarab L, Degraeve P, Ferhout H, Bouajila J, Oulahal N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. J Sci Food Agric [Internet]. 2019 [Citado 25 Jun 2021]; 99(4):1457-1474. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>.

57. Ullah MA, Rasheed M, Hyder SI. Medicinal Plant Lemon Grass (*Cymbopogon Citratus*) Growth under Salinity and Sodicity. *Korean J Food & Nutr* [Internet]. 2020 [Citado 25 Jun 2021]; 6(1):9-15. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13106/kjfhc.2020.vol6.no1.9>.
58. Pino JA, Fon-Fay FM, Pérez JC, Falco AS, Rodríguez JL, Hernández I, et al. Chemical composition and biological activities of essential oil from lemongrass (*Cymopogon citratus* [D.C.] Stapf.) leaves grown in Amazonian Ecuador. *Revista CENIC Ciencias Químicas* [Internet]. 2018 [Citado 25 Jun 2021]; 49(1):1-8. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1816/181661081008/html/>.
59. Kidd CV. Basic Research Description versus Definition. *Science* [Internet]. 1959 [citado 28 Jun 2021]; 129 (3346): 368-371. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/1758209>.
60. Tanner K. Chapter 7 - Experimental research designs. *Research Methods for Students, Academics and Professionals 2da Ed. Topics in Australasian Library and Information Studies*. [Internet]. 2002 [citado 28 Jun 2021]; 125-146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-1-876938-42-0.50015-0>.
61. Burnett-Boothroyd SC, McCarthy BJ. 13 - Antimicrobial treatments of textiles for hygiene and infection control applications: an industrial perspective. En: McCarthy BJ. *Textiles for Hygiene and Infection Control*. United Kingdom: Woodhead Publishing; 2011. p. 196-209. Disponible en: <https://doi.org/10.1533/9780857093707.3.196>.
62. Steel RG, Torrie JH. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2da. Ed. Bogotá: Editorial Mcgraw-Hill; 1988. 622 p.
63. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
64. Sacsquispe R, Velásquez J. *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión (Serie de Normas Técnicas; 30)*. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. 68 p. Disponible en: [https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD\\_PUBLICA/NOR\\_TEC/30.pdf](https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf)

65. Klancnik A, Piskernik S, Jersek B, Mozina SS. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2010 [citado 20 Jun 2021]; 81(2):121-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.004>.
66. Humphries RM, Kircher S, Ferrell A, Krause KM, Malherbe R, Hsiung A, et al. The Continued Value of Disk Diffusion for Assessing Antimicrobial Susceptibility in Clinical Laboratories: Report from the Clinical and Laboratory Standards Institute Methods Development and Standardization Working Group. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 [citado 28 Jun 2021]; 56(8): e00437-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00437-18>.
67. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2020 [citado 28 Jun 2021]; 12(1):1-10. Disponible en: [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19).
68. Ministerio de Salud. Manual de Procedimientos Bioseguridad en Laboratorios de Ensayo, Biomédicos y Clínicos. Perú: Instituto Nacional de Salud [Internet]. 2005 [citado 20 Jun 2021]; 109 p. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
69. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Ginebra [Internet]. 2005 [citado 20 Jun 2021]; 223 p. Disponible en: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Escala
Extracto hidroetanólico de <i>Cymbopogon Citratus</i> (hierba luisa)	Es el producto total de la maceración hidroetanólica del material vegetal seco de <i>C. Citratus</i> que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal. <sup>26</sup>	Cantidad en µg del extracto seco total de <i>C. Citratus</i> (hierba luisa) diluida en un solvente inerte de DMSO 1%.	Concentración µg /mL	10 µg/mL 20 µg/mL 30 µg/mL 40 µg/mL 50 µg/mL 60 µg/mL 70 µg/mL 80 µg/mL 90 µg/mL 100 µg/mL	De Razón
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Es la capacidad de una sustancia de inhibir el crecimiento de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> . <sup>61</sup>	Formación o ausencia de halo de inhibición y de UFC de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 al ser expuesta a 10 concentraciones del extracto hidroetanólico de <i>C. Citratus</i> (hierba luisa).	Sin efecto  Efecto Bacteriostático  Efecto bactericida	Halos de Inhibición 0 mm = Sin efecto  < 12 mm = Efecto Bacteriostático  ≥ 14 mm = Efecto bactericida	De Razón

## ANEXO 2

### CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se desarrolló la fórmula para la determinación del número de unidades de ensayo (repeticiones) en estudios experimentales:

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$

Dónde:

n: Número mínimo de repeticiones a realizarse en la investigación.

Z $\alpha$ : Valor correspondiente al nivel de confianza asignado.

Z $\beta$ : Valor correspondiente al valor estadístico.

W: Eficiencia mínima observable.

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,8)^2 \cdot (0,842) + 1,4 (1,96)^2}{(0,8)^2}$$
$$n = \frac{0,8 - (0,64) \cdot (0,842) + 1,4 (3,842)}{0,64}$$
$$n = 9$$

Reemplazando los valores en la fórmula se obtiene que el número de repeticiones necesarias son 9. Entonces cada grupo experimental estuvo conformado por 10 unidades de ensayo (1 ensayo original + 9 repeticiones). Debido a que fueron 12 grupos (10 concentraciones y dos controles) el total de unidades de ensayo fue 120.

## CONSTANCIA DE EJECUCIÓN MICROBIÓLOGO



**SCIENCE EXPERIMENT**  
Research Laboratory

### CONSTANCIA

La que suscribe, **Rubi Jackeline Espinola Aguirre** identificada con **DNI N° 43303261**, Bióloga Microbióloga, especialista en Análisis Clínico y biológicos con CBP N° 8258; hace constar que ha colaborado como microbióloga especialista en la ejecución de la investigación titulada: **"Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175"**, de las Srtas. **Cardenas Pachas Aslhey Brisset**, identificada con **DNI N° 74809192** y **Farfán Villafuerte Paola Estela**, identificada con **DNI N° 73125202** bachilleres en Estomatología de la Universidad Alas Peruanas y estudiantes del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo. La ejecución de la investigación fue realizada entre el 10 de junio y el 10 de julio del 2021 en el Laboratorio de investigación *Science Experiment E.I.R.L.*, de la Ciudad de Trujillo.

Se expide la presente a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente.

Trujillo, 20 de julio de 2021.

  
-----  
*Rubi J. Espinola Aguirre*  
Biólogo Microbiólogo  
C.B.P 8258



## FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



**SCIENCE EXPERIMENT**  
Research Laboratory

## RESULTADOS DE EJECUCIÓN DE TESIS

Título: **Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Autoras: **Br. Cardenas Pachas Aslhey Brisset / Br. Farfán Villafuerte Paola Estela**

Microbiólogo Especialista: **Rubi Jackeline Espinola Aguirre**

## MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

Ensayos	HALOS DE INHIBICIÓN EN mm / Concentraciones en µg/mL											
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	C-*	C+**
1	16.3	17.1	18.5	19.8	20.1	21.4	22.6	23.8	24.2	25.5	0.0	14.5
2	16.0	16.9	18.9	19.5	19.9	21.9	22.0	24.5	24.5	26.0	0.0	15.2
3	16.5	17.5	18.0	19.4	20.1	21.8	22.5	23.5	23.4	26.0	0.0	14.0
4	15.9	17.0	18.8	20.2	20.4	21.0	22.9	23.5	24.5	25.8	0.0	14.2
5	17.0	17.4	19.0	19.5	20.3	21.5	23.0	23.9	24.6	25.1	0.0	14.6
6	16.8	16.8	18.0	19.5	19.8	21.9	23.0	23.5	24.0	25.0	0.0	14.0
7	15.5	17.5	18.5	20.5	20.3	21.5	22.8	24.5	24.4	25.4	0.0	15.1
8	16.4	17.3	18.6	20.3	19.8	21.0	22.5	23.2	24.1	25.5	0.0	14.2
9	17.0	17.5	18.0	19.2	20.5	21.0	22.4	23.6	24.5	25.2	0.0	14.5
10	16.3	16.5	18.2	19.5	20.1	21.4	22.5	23.5	24.0	25.2	0.0	14.5

\* Dimetilsulfóxido al 1 % (DMSO).

\*\*Gluconato de clorhexidina 0,12 %.

## MÉTODO DE MICRODILUCIÓN

Bacteria	CRECIMIENTO BACTERIANO / CONCENTRACIÓN µg/mL												
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	C-*	C+**	
<i>S. mutans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	CMI												
	CMB												

(+) = Presencia de crecimiento Bacteriano.

(-) = Ausencia de Crecimiento Bacteriano.

Trujillo, 20 de julio de 2021.

  
Rubi J. Espinola Aguirre  
Biólogo Microbiólogo  
C.B.P 8258



## ANEXO 5

### CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE PLANTA



**HERBARIUM PIURENSE**  
Universidad Nacional de Piura

#### Constancia N° 045-2021

El que suscribe, Dr. J. Manuel Charcape Ravelo, docente del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias y Director del Herbarium Piurense, deja

#### CONSTANCIA

Que la Srta. Cardenas Pachas Aslhey Brisset, identificada con DNI N° 74809192, egresada de la carrera de estomatología y estudiante del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo, quien trajo una muestra botánica para ser determinada en esta institución, para la realización de su Tesis titulada: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La muestra examinada resultó ser: ***Cymbopogon Citratus* (DC.) Stapf. POACEAE "hierba luisa"**.

**División: Magnoliophyta**

**Clase: Liliopsida**

**Orden: Cyperales**

**Familia: Poaceae**

**Género: *Cymbopogon***

**Especie: *Cymbopogon Citratus* (DC.) Stapf. POACEAE "hierba luisa"**

Se le expide esta constancia a pedido de la interesada para los fines que estime conveniente.

Piura, 20 de julio del 2021



c.c. Herbarium Piurense.

<https://www.facebook.com/Herbarium.piurense>

## ANEXO 6

### GALERÍA FOTOGRÁFICA PROCEDIMIENTO

#### MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS



1	Incubadora microbiológica	7	Agua destilada y Etanol absoluto
2	Molino artesanal	8	Mitis Salivarius Agar
3	Espectrofotómetro VIS	9	Cepa estándar de <i>S. mutans</i>
4	Autoclave	10	Material vegetal de <i>C. Citratus</i>
5	Balanza analítica y vernier mecánico	11	Micropipeta rango variable
6	Agitador magnético temperado	12	Placas Petri e hisopos estériles

## OBTENCIÓN DE EXTRACTO



1	Selección de material vegetal.	7	Insumos para extracto alcohólico.
2	Picado de material vegetal.	8	Mezcla hidroetanólica.
3	Secado de material vegetal en estufa.	9	Maceración en agitación temperada.
4	Material vegetal seco.	10	Filtración del extracto total.
5	Material vegetal seco en molino y molienda.	11	Secado de extracto en estufa.
6	Pesado de material vegetal molido.	12	Extracto seco.

## PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



1	Mitis Salivarius Agar.	6	Esterilización en autoclave.
2	Pesado de medio de cultivo.	7	Medio de cultivo estéril.
3	Insumos para preparación de medio de cultivo.	8	Preparación para servir medio de cultivo en placas estériles.
4	Incorporación del medio de cultivo al matraz.	9	Servida de medio de cultivo en condiciones de esterilidad.
5	Hidratación de medio de cultivo.	10	Placas servidas con Agar Mitis Salivarius.

## REACTIVACIÓN DE CEPA BACTERIANA



1	Cepa de <i>S. mutans</i> ATCC 25175.	5	Reactivación en caldo cerebro-Corazón.
2	Insumos para reactivación de cepa.	6	Colocación en estufa.
3	Apertura de empaque con cepa.	7	Incubación a 36.5 °C.
4	Ruptura de vial para aplicación de caldo.	8	Cepa reactivada.

## EVALUACIÓN DE EFECTO ANTIBACTERIANO



1	Cepa reactivada en Mitis Salivarius Agar.	7	Colocación de discos de sensibilidad.
2	Preparación de inóculo bacteriano.	8	Placas con discos de sensibilidad.
3	Inóculo bacteriano.	9	10 concentraciones de extracto a evaluar.
4	Estandarización del inóculo.	10	Inoculación en microplacas.
5	Rotulación de placas antes de inoculación.	11	Incubación en estufa microbiológica.
6	Inoculación de placa con hisopo.	12	Medición de halos de inhibición y resultados.

## ANEXO 7

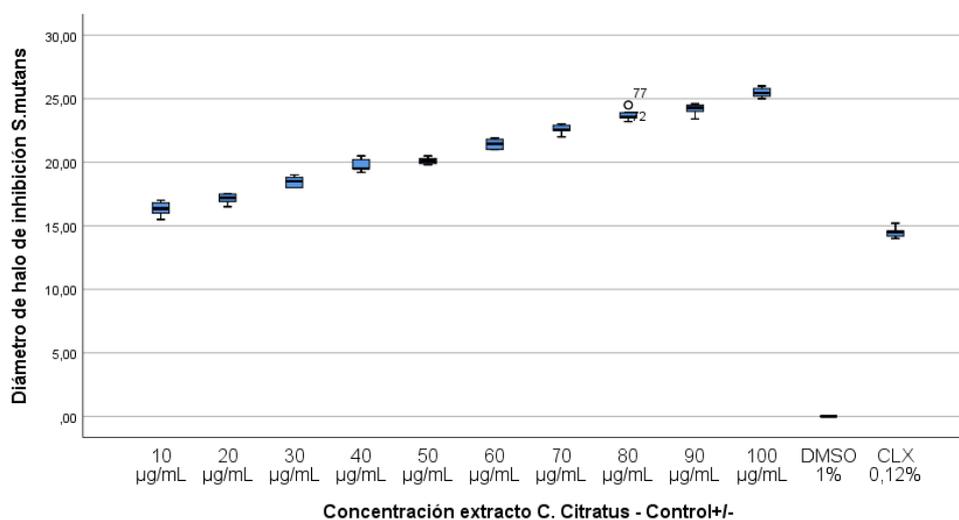
### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Resumen de procesamiento de casos						
Concentración extracto C. Citratus - Control+/-	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
10 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
20 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
30 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
40 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
50 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
60 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
70 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
80 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
90 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
100 µg/mL	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
DMSO 1%	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%
CLX 0,12%	10	100,0%	0	0,0%	10	100,0%

Pruebas de normalidad						
Concentración extracto C. Citratus - Control+/-	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
10 µg/mL	0,143	10	0,200*	0,954	10	0,716
20 µg/mL	0,167	10	0,200*	0,903	10	0,235
30 µg/mL	0,180	10	0,200*	0,897	10	0,205
40 µg/mL	0,307	10	0,008	0,866	10	0,089
50 µg/mL	0,156	10	0,200*	0,930	10	0,447
60 µg/mL	0,191	10	0,200*	0,874	10	0,113
70 µg/mL	0,150	10	0,200*	0,920	10	0,356
80 µg/mL	0,234	10	0,128	0,837	10	0,040
90 µg/mL	0,189	10	0,200*	0,865	10	0,088
100 µg/mL	0,172	10	0,200*	0,915	10	0,313
DMSO 1%	0,000	10	0,000	0,000	10	0,000
CLX 0,12%	0,186	10	0,200*	0,896	10	0,196

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.  
a. Corrección de significación de Lilliefors

### Diámetro de halo de inhibición *S. mutans*



## Unidireccional

Descriptivos								
Diámetro de halo de inhibición <i>S. mutans</i>								
Concentraciones	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
10 µg/mL	10	16,3700	,48546	,15351	16,0227	16,7173	15,50	17,00
20 µg/mL	10	17,1500	,34721	,10980	16,9016	17,3984	16,50	17,50
30 µg/mL	10	18,4500	,38370	,12134	18,1755	18,7245	18,00	19,00
40 µg/mL	10	19,7400	,44020	,13920	19,4251	20,0549	19,20	20,50
50 µg/mL	10	20,1300	,24518	,07753	19,9546	20,3054	19,80	20,50
60 µg/mL	10	21,4400	,35653	,11274	21,1850	21,6950	21,00	21,90
70 µg/mL	10	22,6200	,31198	,09866	22,3968	22,8432	22,00	23,00
80 µg/mL	10	23,7500	,43780	,13844	23,4368	24,0632	23,20	24,50
90 µg/mL	10	24,2200	,36454	,11528	23,9592	24,4808	23,40	24,60
100 µg/mL	10	25,4700	,36225	,11455	25,2109	25,7291	25,00	26,00
DMSO 1%	10	0,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
CLX 0,12%	10	14,4800	,41312	,13064	14,1845	14,7755	14,00	15,20
Total	120	18,6517	6,51190	,59445	17,4746	19,8287	,00	26,00

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro de halo de inhibición <i>S. mutans</i>	Se basa en la media	2,402	11	108	,010
	Se basa en la mediana	1,536	11	108	,129
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,536	11	71,767	,138
	Se basa en la media recortada	2,381	11	108	,011

ANOVA					
Diámetro de halo de inhibición <i>S. mutans</i>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5031,706	11	457,428	3413,169	,000
Dentro de grupos	14,474	108	,134		
Total	5046,180	119			

## Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Diámetro de halo de inhibición <i>S. mutans</i> .						
HSD Tukey						
(I) Concentración extracto C. Citratus - Control+/-	(J) Concentración extracto C. Citratus - Control+/-	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
10 µg/mL	20 µg/mL	-,78000*	,16372	,000	-1,3270	-,2330
	30 µg/mL	-2,08000*	,16372	,000	-2,6270	-1,5330
	40 µg/mL	-3,37000*	,16372	,000	-3,9170	-2,8230
	50 µg/mL	-3,76000*	,16372	,000	-4,3070	-3,2130
	60 µg/mL	-5,07000*	,16372	,000	-5,6170	-4,5230
	70 µg/mL	-6,25000*	,16372	,000	-6,7970	-5,7030
	80 µg/mL	-7,38000*	,16372	,000	-7,9270	-6,8330
	90 µg/mL	-7,85000*	,16372	,000	-8,3970	-7,3030
	100 µg/mL	-9,10000*	,16372	,000	-9,6470	-8,5530
	DMSO 1%	16,37000*	,16372	,000	15,8230	16,9170
CLX 0,12%	1,89000*	,16372	,000	1,3430	2,4370	

20 µg/mL	10 µg/mL	,78000 <sup>+</sup>	,16372	,000	,2330	1,3270
	30 µg/mL	-1,30000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-1,8470	-,7530
	40 µg/mL	-2,59000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,1370	-2,0430
	50 µg/mL	-2,98000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,5270	-2,4330
	60 µg/mL	-4,29000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,8370	-3,7430
	70 µg/mL	-5,47000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-6,0170	-4,9230
	80 µg/mL	-6,60000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-7,1470	-6,0530
	90 µg/mL	-7,07000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-7,6170	-6,5230
	100 µg/mL	-8,32000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-8,8670	-7,7730
	DMSO 1%	17,15000 <sup>+</sup>	,16372	,000	16,6030	17,6970
	CLX 0,12%	2,67000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,1230	3,2170
30 µg/mL	10 µg/mL	2,08000 <sup>+</sup>	,16372	,000	1,5330	2,6270
	20 µg/mL	1,30000 <sup>+</sup>	,16372	,000	,7530	1,8470
	40 µg/mL	-1,29000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-1,8370	-,7430
	50 µg/mL	-1,68000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-2,2270	-1,1330
	60 µg/mL	-2,99000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,5370	-2,4430
	70 µg/mL	-4,17000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,7170	-3,6230
	80 µg/mL	-5,30000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-5,8470	-4,7530
	90 µg/mL	-5,77000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-6,3170	-5,2230
	100 µg/mL	-7,02000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-7,5670	-6,4730
	DMSO 1%	18,45000 <sup>+</sup>	,16372	,000	17,9030	18,9970
	CLX 0,12%	3,97000 <sup>+</sup>	,16372	,000	3,4230	4,5170
40 µg/mL	10 µg/mL	3,37000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,8230	3,9170
	20 µg/mL	2,59000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,0430	3,1370
	30 µg/mL	1,29000 <sup>+</sup>	,16372	,000	,7430	1,8370
	50 µg/mL	-,39000	,16372	,427	-,9370	,1570
	60 µg/mL	-1,70000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-2,2470	-1,1530
	70 µg/mL	-2,88000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,4270	-2,3330
	80 µg/mL	-4,01000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,5570	-3,4630
	90 µg/mL	-4,48000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-5,0270	-3,9330
	100 µg/mL	-5,73000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-6,2770	-5,1830
	DMSO 1%	19,74000 <sup>+</sup>	,16372	,000	19,1930	20,2870
	CLX 0,12%	5,26000 <sup>+</sup>	,16372	,000	4,7130	5,8070
50 µg/mL	10 µg/mL	3,76000 <sup>+</sup>	,16372	,000	3,2130	4,3070
	20 µg/mL	2,98000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,4330	3,5270
	30 µg/mL	1,68000 <sup>+</sup>	,16372	,000	1,1330	2,2270
	40 µg/mL	,39000	,16372	,427	-,1570	,9370
	60 µg/mL	-1,31000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-1,8570	-,7630
	70 µg/mL	-2,49000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,0370	-1,9430
	80 µg/mL	-3,62000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,1670	-3,0730
	90 µg/mL	-4,09000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,6370	-3,5430
	100 µg/mL	-5,34000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-5,8870	-4,7930
	DMSO 1%	20,13000 <sup>+</sup>	,16372	,000	19,5830	20,6770
	CLX 0,12%	5,65000 <sup>+</sup>	,16372	,000	5,1030	6,1970
60 µg/mL	10 µg/mL	5,07000 <sup>+</sup>	,16372	,000	4,5230	5,6170
	20 µg/mL	4,29000 <sup>+</sup>	,16372	,000	3,7430	4,8370
	30 µg/mL	2,99000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,4430	3,5370
	40 µg/mL	1,70000 <sup>+</sup>	,16372	,000	1,1530	2,2470
	50 µg/mL	1,31000 <sup>+</sup>	,16372	,000	,7630	1,8570
	70 µg/mL	-1,18000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-1,7270	-,6330
	80 µg/mL	-2,31000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-2,8570	-1,7630
	90 µg/mL	-2,78000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-3,3270	-2,2330
	100 µg/mL	-4,03000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-4,5770	-3,4830
	DMSO 1%	21,44000 <sup>+</sup>	,16372	,000	20,8930	21,9870
	CLX 0,12%	6,96000 <sup>+</sup>	,16372	,000	6,4130	7,5070
70 µg/mL	10 µg/mL	6,25000 <sup>+</sup>	,16372	,000	5,7030	6,7970
	20 µg/mL	5,47000 <sup>+</sup>	,16372	,000	4,9230	6,0170
	30 µg/mL	4,17000 <sup>+</sup>	,16372	,000	3,6230	4,7170
	40 µg/mL	2,88000 <sup>+</sup>	,16372	,000	2,3330	3,4270
	50 µg/mL	2,49000 <sup>+</sup>	,16372	,000	1,9430	3,0370
	60 µg/mL	1,18000 <sup>+</sup>	,16372	,000	,6330	1,7270
	80 µg/mL	-1,13000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-1,6770	-,5830
	90 µg/mL	-1,60000 <sup>+</sup>	,16372	,000	-2,1470	-1,0530

	100 µg/mL	-2,85000*	,16372	,000	-3,3970	-2,3030
	DMSO 1%	22,62000*	,16372	,000	22,0730	23,1670
	CLX 0,12%	8,14000*	,16372	,000	7,5930	8,6870
80 µg/mL	10 µg/mL	7,38000*	,16372	,000	6,8330	7,9270
	20 µg/mL	6,60000*	,16372	,000	6,0530	7,1470
	30 µg/mL	5,30000*	,16372	,000	4,7530	5,8470
	40 µg/mL	4,01000*	,16372	,000	3,4630	4,5570
	50 µg/mL	3,62000*	,16372	,000	3,0730	4,1670
	60 µg/mL	2,31000*	,16372	,000	1,7630	2,8570
	70 µg/mL	1,13000*	,16372	,000	,5830	1,6770
	90 µg/mL	-,47000	,16372	,167	-1,0170	,0770
	100 µg/mL	-1,72000*	,16372	,000	-2,2670	-1,1730
	DMSO 1%	23,75000*	,16372	,000	23,2030	24,2970
	CLX 0,12%	9,27000*	,16372	,000	8,7230	9,8170
	90 µg/mL	10 µg/mL	7,85000*	,16372	,000	7,3030
20 µg/mL		7,07000*	,16372	,000	6,5230	7,6170
30 µg/mL		5,77000*	,16372	,000	5,2230	6,3170
40 µg/mL		4,48000*	,16372	,000	3,9330	5,0270
50 µg/mL		4,09000*	,16372	,000	3,5430	4,6370
60 µg/mL		2,78000*	,16372	,000	2,2330	3,3270
70 µg/mL		1,60000*	,16372	,000	1,0530	2,1470
80 µg/mL		,47000	,16372	,167	-,0770	1,0170
100 µg/mL		-1,25000*	,16372	,000	-1,7970	-,7030
DMSO 1%		24,22000*	,16372	,000	23,6730	24,7670
CLX 0,12%		9,74000*	,16372	,000	9,1930	10,2870
100 µg/mL		10 µg/mL	9,10000*	,16372	,000	8,5530
	20 µg/mL	8,32000*	,16372	,000	7,7730	8,8670
	30 µg/mL	7,02000*	,16372	,000	6,4730	7,5670
	40 µg/mL	5,73000*	,16372	,000	5,1830	6,2770
	50 µg/mL	5,34000*	,16372	,000	4,7930	5,8870
	60 µg/mL	4,03000*	,16372	,000	3,4830	4,5770
	70 µg/mL	2,85000*	,16372	,000	2,3030	3,3970
	80 µg/mL	1,72000*	,16372	,000	1,1730	2,2670
	90 µg/mL	1,25000*	,16372	,000	,7030	1,7970
	DMSO 1%	25,47000*	,16372	,000	24,9230	26,0170
	CLX 0,12%	10,99000*	,16372	,000	10,4430	11,5370
	DMSO 1%	10 µg/mL	-16,37000*	,16372	,000	-16,9170
20 µg/mL		-17,15000*	,16372	,000	-17,6970	-16,6030
30 µg/mL		-18,45000*	,16372	,000	-18,9970	-17,9030
40 µg/mL		-19,74000*	,16372	,000	-20,2870	-19,1930
50 µg/mL		-20,13000*	,16372	,000	-20,6770	-19,5830
60 µg/mL		-21,44000*	,16372	,000	-21,9870	-20,8930
70 µg/mL		-22,62000*	,16372	,000	-23,1670	-22,0730
80 µg/mL		-23,75000*	,16372	,000	-24,2970	-23,2030
90 µg/mL		-24,22000*	,16372	,000	-24,7670	-23,6730
100 µg/mL		-25,47000*	,16372	,000	-26,0170	-24,9230
CLX 0,12%		-14,48000*	,16372	,000	-15,0270	-13,9330
CLX 0,12%		10 µg/mL	-1,89000*	,16372	,000	-2,4370
	20 µg/mL	-2,67000*	,16372	,000	-3,2170	-2,1230
	30 µg/mL	-3,97000*	,16372	,000	-4,5170	-3,4230
	40 µg/mL	-5,26000*	,16372	,000	-5,8070	-4,7130
	50 µg/mL	-5,65000*	,16372	,000	-6,1970	-5,1030
	60 µg/mL	-6,96000*	,16372	,000	-7,5070	-6,4130
	70 µg/mL	-8,14000*	,16372	,000	-8,6870	-7,5930
	80 µg/mL	-9,27000*	,16372	,000	-9,8170	-8,7230
	90 µg/mL	-9,74000*	,16372	,000	-10,2870	-9,1930
	100 µg/mL	-10,99000*	,16372	,000	-11,5370	-10,4430
	DMSO 1%	14,48000*	,16372	,000	13,9330	15,0270

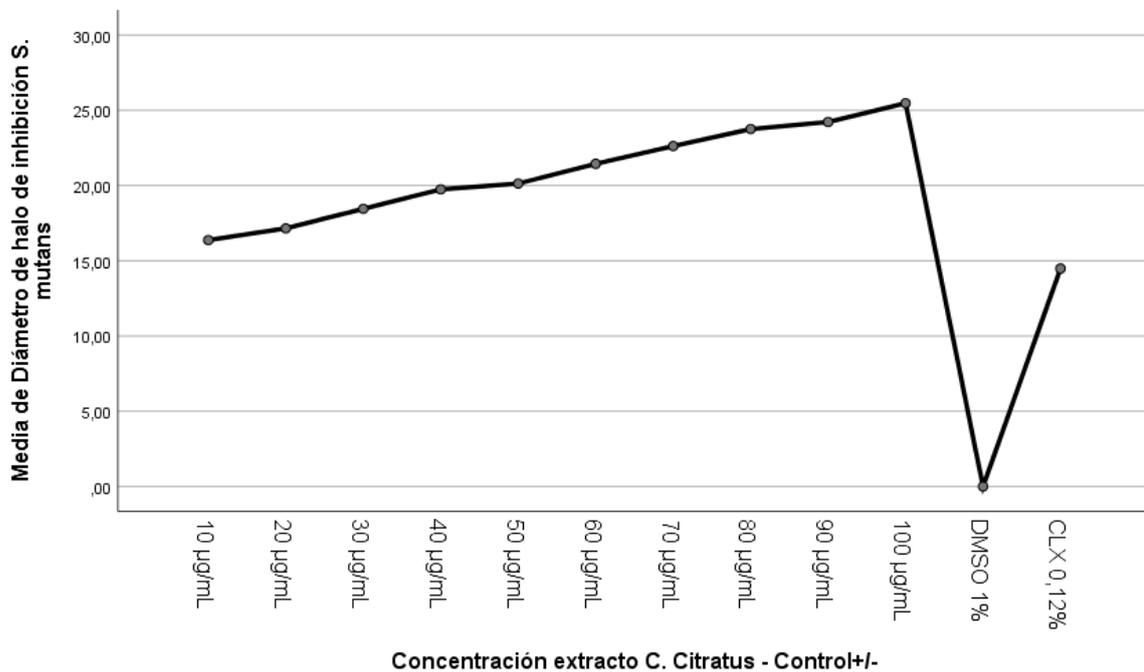
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

## Subconjuntos homogéneos

Diámetro de halo de inhibición <i>S. mutans</i>											
Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DMSO 1%	10	0,00									
CLX 0,12%	10		14,48								
10 µg/mL	10			16,37							
20 µg/mL	10				17,15						
30 µg/mL	10					18,45					
40 µg/mL	10						19,74				
50 µg/mL	10						20,13				
60 µg/mL	10							21,44			
70 µg/mL	10								22,62		
80 µg/mL	10									23,75	
90 µg/mL	10									24,22	
100 µg/mL	10										25,47
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,427	1,000	1,000	,167	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. HSD Tukey<sup>a</sup>  
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

## Gráficos de medias





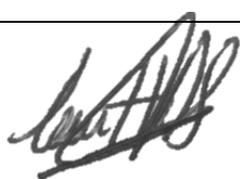
## Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, **Carmen Teresa Ibáñez Sevilla**, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad César Vallejo Sede Piura, asesora de la Tesis titulada: “**Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175**”, de los autores: Cardenas Pachas, Aslhey Brisset y Farfán Villafuerte, Paola Estela ; constato que la investigación tiene un índice de similitud de **19%** verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Piura, 26 de setiembre 2021.

Apellidos y Nombres del Asesor: <b>Ibáñez Sevilla Carmen Teresa</b>	
DNI: 18212665	 Firma
ORCID: 0000-0002-5551-1428	