



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Cirujano Dentista

AUTORA:

Alzamora Santos, Elva Sinthia (ORCID: 0000-0001-7530-4517)

ASESORA:

Mg. Donayre Escriba Julieta Emperatriz (ORCID: 0000-0001-6876-7804)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

Dedicatoria

La presente tesis se la dedico al forjador de mi camino, a mi padre celestial, ya que, con su infinito amor y bendiciones, ilumina cada segundo de mi vida

A mi madre quien ha sido mi mano derecha en todo este tiempo, te agradezco por tu desinteresada ayuda, ya que eres el principal cimiento para la realización de mi vida profesional, sentaste en mí la base de responsabilidad y deseos de superación. Mis más sinceras gracias, amada madre

Agradecimiento

A Dios por la vida y por su infinito amor que nos da la fortaleza necesaria para caminar erguidos y con el deseo de superación cada vez más alto.

A mi madre que me apoyó en todo momento e hizo su mayor esfuerzo posible para poder salir adelante. Gracias madre

Muchas gracias al Dr. Mblgo. Miguel Angel Ruiz Barrueto por brindarme todos sus conocimientos para poder desarrollar mi investigación.

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	vi
Resumen	vii
Abstract	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA.....	11
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	11
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis.....	12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	13
3.5. Procedimientos	13
3.6. Método de análisis de datos	16
3.7. Aspectos éticos.....	16
IV. RESULTADOS	17
V. DISCUSIÓN.....	20
VI. CONCLUSIONES	25
VII. RECOMENDACIONES.....	26
REFERENCIAS.....	27
ANEXOS	37
ANEXO 1	37
ANEXO 2	38
ANEXO 3	39

ANEXO 4	40
ANEXO 5	41
ANEXO 6	42
ANEXO 7	47

Índice de tablas

Tabla 1.....	18
Tabla 2.....	19
Tabla 3.....	20

Resumen

El objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Fue una investigación básica con diseño experimental verdadero. El efecto antibacteriano fue determinado mediante el método de difusión en disco. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) por el método de microdilución. El extracto se obtuvo por maceración en mezcla hidroalcohólica con agitación y se prepararon 10 concentraciones en $\mu\text{g/mL}$. La sustancia control + fue clorhexidina 0,12% y el control negativo fue DMSO 1%. Se reportó que todas las concentraciones del extracto evaluadas mostraron efecto antibacteriano sobre *S. mutans*, sin embargo, solo las concentraciones de 70 $\mu\text{g/mL}$ ($17,00 \pm 0,501$ mm); 80 $\mu\text{g/mL}$ ($19,89 \pm 0,638$ mm); 90 $\mu\text{g/mL}$ ($22,09 \pm 0,431$) y 100 $\mu\text{g/mL}$ ($24,37 \pm 0,568$ mm) reportaron halos de inhibición promedio superiores al del control + ($15,42 \pm 0,370$ mm). La CMI se estableció en 60 $\mu\text{g/mL}$ y la CMB en 70 $\mu\text{g/mL}$. Se concluye que extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 siendo su CMI 60 $\mu\text{g/mL}$ y su CMB 70 $\mu\text{g/mL}$.

Palabras clave: Antibacterianos, *Schinus molle*, *Streptococcus mutans*, Extractos vegetales.

Abstract

The objective was to evaluate the antibacterial effect in vitro of different concentrations of the hydroalcoholic extract of *Schinus molle* L. (molle) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. It was a basic investigation with true experimental design. The antibacterial effect was determined by the disk diffusion method. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (CMB) by the microdilution method. The extract was obtained by maceration in a hydroalcoholic mixture with stirring and 10 concentrations in $\mu\text{g} / \text{mL}$ were prepared. The control substance + was 0.12% chlorhexidine and the negative control was 1% DMSO. It was reported that all the concentrations of the extract evaluated showed an antibacterial effect on *S. mutans*, however, only the concentrations of 70 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($17.00 \pm 0.501 \text{ mm}$); 80 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($19.89 \pm 0.638 \text{ mm}$); 90 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (22.09 ± 0.431) and 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ($24.37 \pm 0.568\text{mm}$) reported higher average inhibition halos than the control + ($15.42 \pm 0.370\text{mm}$). The MIC was established at 60 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and the CMB at 70 $\mu\text{g} / \text{mL}$. It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Schinus molle* L. has an antibacterial effect in vitro on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 with its MIC 60 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and its CMB 70 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

Keywords: Antibacterials, *Schinus molle*, *Streptococcus mutans*, Plant extracts.

I. INTRODUCCIÓN

Las patologías orales demandan un gran gasto a los sistemas de salud de diversos países y afectan la calidad de vida de los individuos que la padecen perennemente. Se ha estimado que estas enfermedades agobian a casi 3500 millones de personas siendo la caries en dientes permanentes no tratada el problema de salud más frecuente a nivel mundial.¹

La caries dental es un padecimiento crónico, dinámico, de origen multifactorial, causada por la acidez producida por la degradación de carbohidratos por los microorganismos orales que da como resultado la desmineralización dentaria. Esta enfermedad puede producirse a cualquier edad, pudiendo dañar la corona del diente y, más adelante, las superficies radiculares expuestas constituyéndose en uno de los principales factores de edentulismo.^{2,3}

Aunque los paradigmas respecto a la causalidad de la caries dental han cambiado y ahora se le considera una enfermedad polimicrobiana; diversas investigaciones han demostrado el importante papel de *Streptococcus mutans* como agente etiológico en el inicio y progreso de esta enfermedad.⁴⁻⁶ Se ha aceptado ampliamente que el potencial cariogénico de *S. mutans* reside en su acidogenicidad, su aciduricidad y la capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa que ayudan en su colonización permanente y el de otras especies cariogénicas a las superficies duras del diente.⁷⁻⁹

Para minimizar el riesgo de infecciones bucales los odontólogos recomiendan prácticas destinadas a mejorar la higiene bucal y el uso de sustancias profilácticas que contienen una variedad de ingredientes químicos.¹⁰ Uno de estos productos encontramos los enjuagues bucales que contienen clorhexidina y presentan potentes propiedades desinfectantes y antisépticas para suprimir la formación de placa por microorganismos orales.¹¹⁻¹³ A pesar de este efecto beneficioso, su aplicación prolongada a altas concentraciones incrementa el riesgo potencial a manifestar efectos secundarios perjudiciales para la salud bucal y otros sistemas del cuerpo.^{16,17}

En ese sentido, se necesitan enfoques novedosos, eficaces, seguros y accesibles que permitan el control de los microorganismos importantes involucrados en el

desarrollo de las enfermedades orales más prevalentes. Respecto a ello, se vienen realizando una gran cantidad de estudios para identificar plantas tradicionales que presentan un amplio espectro de usos contra diversas enfermedades.¹⁸ Actualmente, varias plantas medicinales han confirmado experimentalmente su capacidad antimicrobiana y antibiofilm contra *S. mutans* y otros microorganismos cariogénicos.¹⁹⁻²²

Las plantas medicinales son consideradas como una alternativa de control contra los agentes causales de enfermedades infecciosas pues contienen compuestos bioactivos tipo alcaloides, taninos y flavonoides que se caracterizan por su actividad antimicrobiana.^{19, 22} Entre estas plantas encontramos a *Schinus molle* L. Es originaria de América del Sur y su hábitat se ha extendido hasta México. Este árbol se usa ampliamente en la medicina tradicional para tratar una variedad de enfermedades. Sus aceites esenciales y extractos son ricos en diversos metabolitos con actividad farmacológica. Se ha demostrado que tanto los extractos como sus aceites esenciales de hojas y frutos frescos tienen actividad antibacteriana y antifúngica significativa.²³⁻²⁵

Vista la realidad problemática nos planteamos el siguiente cuestionamiento, ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

La justificación teórica del presente estudio se fundamenta en que aún no se ha precisado el efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados de investigaciones precedentes no son uniformes. Por tanto, es necesario clarificar este vacío en el conocimiento. Su justificación práctica se centra en que los resultados obtenidos permitirán contar con información importante que podría constituir a esta planta en una alternativa natural para el control de microorganismos cariogénico. Su justificación social radica en que mediante este estudio se dará valor agregado a las plantas medicinales que crecen en el territorio nacional y que debido a su fácil acceso y naturaleza silvestre podrían ser utilizadas por la población mediante el aprovechamiento de sus potencialidades farmacológicas. Su justificación por conveniencia se centra en que la finalidad de realizar esta investigación radica

principalmente en la presentación y sustentación de una tesis para obtener el título profesional de Cirujano Dentista.

Por ello, para dar solución al problema enunciado nos planteamos el siguiente objetivo general; Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) y de un control positivo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de difusión en disco. También se plantean los siguientes objetivos específicos; Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de microdilución. Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de microdilución.

Se plantea como hipótesis; que el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroetanólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es dependiente de la concentración y es de tipo bactericida.

II. MARCO TEÓRICO

Turchetti, et al.²⁵ en el 2020 en Italia. Investigaron la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y fracciones de cromatografía de *Schinus molle* L. Los extractos se evaluaron contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y *Bacillus subtilis*. El efecto antibacteriano se determinó por el test de difusión en disco. Los extractos evaluados fueron extracto de éter de petróleo, extracto éter etílico, extracto acetónico y extracto acuoso. Reportaron que el extracto de éter de petróleo formó halos de inhibición de 10.3 ± 1.5 mm contra *S. aureus* y de 14.3 ± 1.2 mm contra *B. subtilis* a la concentración de 400 $\mu\text{g/mL}$. El extracto de éter etílico a la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ formó halos de inhibición de 10.3 ± 1.2 mm contra *S. aureus* y de 8.3 ± 0.6 mm contra *E. faecalis*. Contra *B. subtilis* formó un halo de inhibición de 17.3 ± 1.2 mm, pero a 400 $\mu\text{g/mL}$. No se reportó actividad antimicrobiana con los extractos acetónico y acuoso. Concluyeron que los compuestos extraídos de las hojas de *S. molle* L. presentan propiedades antimicrobianas y esta planta podría ser fuente de moléculas bioactivas con potencialidad farmacéutica.

Lamboro, et al.²⁶ en el 2020 en Etiopía. Evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de hoja, corteza de tallo y corteza de raíz de *Schinus molle* (Anacardiaceae) contra dos bacterias y dos hongos. Fue un estudio experimental. El efecto antimicrobiano se determinó por el método de difusión en agar. Reportaron que los extractos etanólicos de tallo y raíz de *S. molle* exhibieron una zona de inhibición relativamente más alta ($11,30 \pm 0,06$ mm) contra *Xanthomonas campestris*. También se observó una mayor zona de inhibición ($10,00 \pm 0,00$ mm) por los extractos etanólicos de la raíz de *S. molle* frente a *Fusarium verticillioides* seguidos por los extractos de cloroformo de la raíz ($8,00 \pm 0,20$ mm) frente a *Aspergillus niger*. El análisis fitoquímico de extractos de hojas, corteza de tallo y corteza de raíz de *S. molle* reveló la presencia de flavonoides, alcaloides, saponinas, esteroides, terpenoides, fenoles, quininas, carbohidratos y proteínas. Concluyeron que los extractos y aceites esenciales de diferentes partes de *S. molle* tienen un potencial prometedor en la inhibición de microbios patógenos.

Loyola, et al.²⁷ en el 2020 Lima- Perú. Compararon *in vitro* la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Erythroxylum coca Lam* y *Schinus molle L.* al 50% y 75% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Fue un estudio experimental comparativo. El extracto se obtuvo por filtración al vacío. Se prepararon concentraciones de 50% y 75% y el control positivo fue clorhexidina al 0,12%. El método de difusión en disco fue empleado para establecer la actividad antibacteriana. La mayor actividad antimicrobiana se reportó a la concentración de 75% con halos de 11.2 ± 0.7 mm (coca) y de 11.6 ± 0.5 mm (molle). La clorhexidina formó un halo de 14.1 ± 0.7 mm. Concluyeron que ambas concentraciones evaluadas presentan actividad antibacteriana frente a *S. mutans* ATCC 25175 pero ambas concentraciones no son tan efectivas como la clorhexidina.

Al-Andal, et al.²⁸ en el 2019 en Arabia Saudita. Evaluaron las variaciones en las propiedades químicas y antimicrobianas de las frutas de *Schinus molle* cultivadas en Abha. Fue una investigación experimental. La propiedad antimicrobiana se determinó con el método de difusión en pozos de agar. Los resultados revelaron que diferentes extractos de solventes de las frutas demostraron efectos antimicrobianos en todas las cepas microbianas probadas. Las actividades máximas fueron exhibidas por el extracto de acetona, el extracto etanólico ($30,00 \pm 1,15$ mm) contra *Staphylococcus aureus* y el extracto de acetona caliente ($22,00 \pm 3,21$ mm) contra *Micrococcus luteus*. Los niveles de CMI del extracto de acetona oscilan entre 0,502 y 0,289 g/mL contra *S. aureus*, y los extractos de frutas con metanol caliente contra *Candida albicans* oscilan entre 0,335 y 0,259 g/mL. Concluyeron que los extractos de la fruta de *S. molle* pueden usarse como fuente de compuestos naturales para la fabricación de antibióticos.

Do Prado, et al.²⁹ en el 2019 en Brasil. Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* frente a bacterias y hongos de importancia clínica. Fue una investigación experimental. El efecto antimicrobiano se verificó mediante el método de microdilución en caldo. Se reportó actividad antifúngica significativa pero no antibacteriana. La CMI se estableció mayor a 5000 $\mu\text{g/mL}$ contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* y *S. aureus* meticilino resistente y de 2500 $\mu\text{g/mL}$

(CMI) y 5000 µg/mL (CMB) para *Enterococcus faecalis*. Concluyeron que el estudio mostró un resultado prometedor y novedoso de los compuestos volátiles de *S. molle* contra hongos de importancia clínica.

Tahtamouni R.³⁰ en el 2018 en Jordania. Evaluó el potencial antibacteriano de los extractos etanólicos y metanólicos de diferentes partes del árbol *Schinus molle* L. frente a cuatro cepas bacterianas. Fue un estudio experimental *in vitro*. El efecto antibacteriano fue determinado por el método de difusión en disco y la concentración mínima inhibitoria (CMI) con el método de microdilución. Reportó que el extracto etanólico de las hojas fue el más efectivo contra *Bacillus subtilis* (22.0 ± 0.06 mm y una CIM a 1.563 mg/mL) y *Enterobacter aerogenes* (15.0 ± 0.17 mm y una CIM a 3.125 mg/mL). El crecimiento de *E. aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae* fueron inhibidos principalmente por el extracto metanólico de las hojas, con zonas de inhibición de 18.0 ± 0.086 mm y 17.0 ± 0.12 mm respectivamente. La CMI se obtuvo a 1,563 mg/mL. El crecimiento de *Micrococcus luteus* se inhibió totalmente a una concentración de 6,25 mg/mL (CMI). Concluyó que *Schinus molle* L. tiene actividad antibacteriana dependiente de la parte de la planta y tipo de extracto contra las cepas ensayadas.

Salem, et al.³¹ en Egipto en el 2018. Evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial, extracto acetónico y extracto n-hexano de *Schinus terebinthifolius* contra algunas bacterias patógenas. Fue una investigación experimental. La actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión en disco sobre *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcina lutea* y *Staphylococcus aureus*. La Concentración mínima inhibitoria (CIM) se obtuvo con el método de microdilución. Se evaluaron las concentraciones de 125, 250, 500, 1000 y 2000 µg/mL del extracto. El control negativo fue dimetil sulfóxido (DMSO) al 10% y el control positivo fue el antibiótico tetraciclina. La mayor inhibición del extracto acetónico fue de 18.3 ± 0.3 mm contra *S. aureus* y 13.3 ± 0.3 mm sobre *S. lutea*, ambos a la concentración de 2000 µg/mL. La CIM de ese extracto y para ambos microorganismos se determinó en 8 µg/mL y 128µg/mL respectivamente. La mayor inhibición con el extracto de n-hexano fue de 10.6 ± 0.6 mm contra *S. lutea* a la concentración de 2000 µg/mL que también fue la CMI.

Concluyeron que el aceite esencial y los extractos de *S. terebinthifolius* tienen potentes actividades antioxidantes y antibacterianas.

Eryiğit, et al.³² en el 2017 en Turquía. Investigaron los componentes químicos, las actividades antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales de frutas de *Schinus molle*. Fue una investigación experimental. El aceite esencial de los frutos de *Schinus molle* se obtuvo por hidrodestilación. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en disco de agar. Se reportaron halos de inhibición de 12 mm para *Bacillus subtilis*, de 8 mm para *Candida albicans*, de 8 mm para *Escherichia coli*, de 14 mm para *Enterococcus faecalis*, de 10 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, de 10 mm para *Staphylococcus aureus*, de 12 mm para *Saccharomyces cerevisiae* y de 8 mm para *Salmonella typhimurium*. Concluyeron que el aceite esencial de frutas de *S. molle* tiene efectos biológicos antimicrobianos y antioxidantes, que dependen de los componentes principales del aceite y podrían usarse como base para el desarrollo de nuevos compuestos.

Salem, et al.³³ en el 2016 en Egipto. Evaluaron la composición química, actividades antioxidantes y antibacterianas de extractos de *Schinus molle* L. de Egipto. Fue una investigación experimental. Se analizaron aceites esenciales, extractos metanólicos, diclorometanólicos y acuosos. La actividad antibacteriana se evaluó por el método de difusión en disco y la concentración mínima inhibitoria (CMI) por el método de microdilución. El extracto metanólico reportó efecto antibacteriano contra *S. aureus* con una inhibición promedio de $15 \pm 1,33$ mm y una MIC a $32 \mu\text{g/mL}$ y para *S. lutea* inhibición de $12 \pm 0,16$ mm y una CMI a $1000 \mu\text{g/mL}$. El extracto de diclorometano una inhibición de $8 \pm 0,33$ mm contra *S. aureus* y de $7 \pm 0,00$ mm para *S. lutea*. En ambos la CMI fue de $1000 \mu\text{g/mL}$. El extracto acuoso formó halos de inhibición de $13 \pm 0,66$ mm para *S. aureus*, de $15 \pm 2,12$ mm para *S. lutea* y de $14 \pm 0,33$ mm para *M. luteus*, con una CMI a $8 \mu\text{g/mL}$, $4 \mu\text{g/mL}$ y $125 \mu\text{g/mL}$ respectivamente. Concluyeron que los aceites esenciales y los extractos de *S. molle* L. tienen buena actividad antibacteriana y podrían utilizarse como una fuente potencial para las industrias farmacéutica o alimentaria.

Abd-Allah, et al.³⁴ en el 2015 en Egipto. Evaluaron la actividad antimicrobiana de dos extractos crudos metanólicos y la quercetina de las partes aéreas de *Schinus molle*. Fue un estudio experimental *in vitro*. La actividad antimicrobiana se evaluó

por el método de difusión en pozos de agar frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. El extracto metanólico a la concentración de 10 µg/mL formó halos de inhibición de 10 mm tanto para *B. subtilis* como para *S. aureus* y *E. coli*. Contra *C. albicans* formó un halo de inhibición de 12 mm. Por su parte, la quercetina aislada del extracto también a la concentración de 10 µg/mL formó halos de inhibición de 20 mm contra *B. subtilis*, *S. aureus* y *E. coli*, pero no tuvo efecto contra *C. albicans*. Concluyeron que este estudio mostró las propiedades antimicrobianas de las partes aéreas de *Schinus molle* L y su contenido de quercetina (polifenoles) que podrían proporcionar una materia prima natural interesante para la producción de productos beneficiosos para la salud.

Nogueira, et al.³⁵ en el 2014, en Brasil. Evaluaron la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de la *Schinus terebinthifolius* Raddi. Fue una investigación experimental. Se realizaron pruebas de susceptibilidad bacteriana y se obtuvo la concentración mínima inhibitoria (CMI). La actividad antibacteriana se evaluó contra cepas ATCC de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Solo se reportó efectividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* con zonas de inhibición de 8.0 mm de diámetro y una CIM de 35.3 mg/mL, mientras que las otras cepas probadas mostraron ser resistentes en todas las concentraciones de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Concluyeron que el extracto hidroalcohólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi presenta potencial antibacteriano *in vitro* contra las principales bacterias de interés clínico.

La boca y los dientes son una parte fundamental del cuerpo. Su importancia radica en las funciones humanas esenciales en las que participa. En ese sentido, la definición de salud bucal tiene naturaleza multidimensional, e incluye dominios físicos, psicológicos y sociales que son parte integral de la salud y el bienestar en general.³⁶ En las últimas décadas, la evidencia clínica ha demostrado una asociación entre algunas patologías orales y las enfermedades sistémicas. Según la epidemiología actual, las enfermedades orales se concentran en poblaciones de bajo nivel socioeconómico. La salud oral no es financiada en su totalidad por el sistema de salud público en los países en vías de desarrollo, lo cual la convierte

en un privilegio más que en un derecho. En ese contexto, muchas personas en el mundo deben tomar decisiones financieras difíciles para acceder a la atención de su salud oral.³⁷

Teniendo en cuenta que las limitaciones económicas afectarían negativamente la calidad de la salud bucal, y de la misma forma, una mala salud oral puede deteriorar la salud general, se deduce que las condiciones socioeconómicas de la población influyen a corto plazo en la prevalencia de las principales patologías bucales, que, a largo plazo, además de convertirse en enfermedades crónicas irreversibles, también provocan un deterioro en la salud general de los individuos.³⁸⁻⁴⁰ Esta situación es relevante, considerando que gran parte de la población peruana de bajos recursos no accede o accede limitadamente a los servicios de salud oral en el sistema de salud público que no son integrales lo que los obliga a recurrir a los servicios odontológicos privados.⁴¹⁻⁴³

La caries dental es una enfermedad multifactorial que ocasiona la destrucción localizada de los tejidos duros dentales por acción de ácidos producto de la fermentación bacteriana de carbohidratos. Esta patología es un proceso dinámico, con periodos alternos de desmineralización y remineralización de la estructura dental. Se conoce que, cuanto más bajo sea el valor de pH, el diente se desmineralizará en mayor proporción. El progreso de una caries, conduce a la cavitación del diente y en esa situación el paciente presenta dolor y mucha incomodidad. Si la lesión se propaga hacia la pulpa dental, podría producirse una infección y, en la fase final, sepsis y pérdida dentaria. La cavitación es el criterio común para la detección de caries en la mayoría de los estudios epidemiológicos a nivel mundial.^{36,44}

Streptococcus mutans ha sido atribuida como el principal microorganismo responsable del inicio y progreso de la caries dental. Esto, debido a su fuerte presencia en las biopelículas formadas en la superficie dentaria.⁴⁵ Diversas investigaciones le atribuyen la virulencia de *S. mutans* a su capacidad para producir ácido, tolerar un ambiente ácido, la actividad protón ATPasa y convertir la sacarosa de la dieta en una amplia gama de polisacáridos extracelulares (EPS) solubles e insolubles a través de exoenzimas tipo glucosiltransferasas.⁴⁶ Los EPS son los componentes principales de las biopelículas cariogénicas. Promueven la

colonización de la superficie del diente por *S. mutans* y la adhesión y agregación de otros microorganismos en la placa dental mientras forman la matriz de la biopelícula. Esta matriz rica en EPS actúa como barrera limitando la difusión y favoreciendo los microambientes ácidos en la interfase biofilm-diente, que son críticos para la desmineralización del esmalte dental.⁴⁵⁻⁵¹

Las terapias utilizadas actualmente contra la caries, como el flúor y la clorhexidina, se caracterizan por tener efectos secundarios y propiciar el desarrollo de resistencia a los fármacos en los microorganismos expuestos. Por lo tanto, se necesita con urgencia el desarrollo de inhibidores alternativos contra el crecimiento de *S. mutans*.⁵² Las plantas medicinales representan recursos valiosos para identificar compuestos bioactivos contra varias patologías incluida la caries dental. Se vienen investigando los extractos crudos y los aceites esenciales de estas plantas para identificar agentes antimicrobianos alternativos contra *S. mutans*.^{53,54} Los principios bioactivos de las plantas medicinales incluyen principalmente compuestos polifenólicos, especialmente flavonoides cuya actividad modifica la permeabilidad de la membrana celular y ocasiona su muerte. También pueden inducir cambios en la expresión de genes implicados en la formación de biopelículas incapacitándolos para esa función. Otros pueden inhibir la actividad enzimática implicada en las vías de producción de ácido.^{55,56}

Los flavonoides son moléculas con un esqueleto de 15 carbonos, dos anillos de fenilo y un anillo heterocíclico. 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*. Los flavonoides morina y la formononetina inhiben la actividad de Sortase A (SrtA) que es una transpeptidasa asociada a la membrana, responsable del anclaje de las proteínas expuestas a la superficie de la pared celular de *S. mutans* disminuyendo su capacidad para colonizar la mucosa oral y los dientes, lo que reduce la formación de caries.

Recientemente, se encontraron dos nuevos flavonoides, 7-hidroxi-6-metoxiflavanona y formononetina, como potentes inhibidores de la actividad de SrtA de *S. mutans*.⁵³⁻⁵⁶

Otros polifenoles vegetales con actividad inhibidora contra la supervivencia de *S. mutans* son el ácido tánico, el ácido gálico y galato de metilo. El ácido tánico inhibe la formación de biopelículas de *S. mutans* y la función de las enzimas glucosiltransferasa y fructosiltransferasa. Estas dos enzimas están involucradas en la síntesis de glucanos y fructanos, los componentes importantes de los polímeros extracelulares. El galato de metilo es el éster metílico del ácido gálico. Tiene efectos antibacterianos y antibiofilm sobre *S. mutans* e inhibe su acidogenicidad. El carvacrol y el timol son monoterpenos fenoles naturales. Actúan en la permeabilización y despolarización de la membrana citoplasmática ocasionando deformación y lisis celular.⁵³⁻⁵⁶

Schinus molle L., es una especie de la familia Anacardiaceae. Es originaria de Perú, pero ha sido introducida y naturalizada también en Brasil, Uruguay, Argentina y actualmente está distribuida por todo el mundo. Es una planta dioica con hojas lanceoladas, ramas colgantes con flores de color blanco amarillento dispuestas en racimos y frutos rojo coral del tamaño de granos de pimienta de allí el nombre común de "Pimienta rosa".²³ Las hojas, la corteza y la raíz se utilizan en la medicina popular para el reumatismo, dolor dental, trastornos menstruales, problemas pulmonares, infección urinaria, hipertensión, úlceras, tumores, ansiedad, depresión e inflamación, y como antibacteriano, antiviral, antiséptico, antifúngico, antioxidante, antiespasmódico, analgésico y estimulante. El tamizaje fitoquímico del aceite esencial reportó la presencia de pineno, mirceno, limoneno, cadineno, cimeno, sabineno y felandreno con propiedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas y antiinflamatorias.^{23,29}

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Investigación de tipo básica porque su fin es el avance del conocimiento. Los resultados obtenidos no pueden ser aplicados para solucionar problemas prácticos en la realidad.⁵⁷

El diseño de investigación es experimental puro. Este tipo de investigación se fundamenta en la manipulación por parte del investigador de una o más variables independientes, las cuales son sometidas a una o más variables dependientes de tal manera que se pueda establecer su efecto sobre estas.⁵⁸

3.2. Variables y operacionalización

Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle). Es una variable de tipo cuantitativa. Se define conceptualmente como el producto total obtenido a partir de la exposición del material vegetal seco de *S. molle* L. a una mezcla hidroalcohólica y que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal.⁵⁹

Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Es una variable cuantitativa. Se define conceptualmente como la capacidad de un antimicrobiano de inhibir de forma temporal (Efecto bacteriostático) o de forma permanente (Efecto bactericida) el desarrollo de *S. mutans* ATCC 25175 en condiciones de laboratorio.⁶⁰

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

La población estuvo constituida por la planta *S. molle* L. (molle) y la cepa de *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 hidroalcohólico de *S. molle* L., y la concentración del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175.

Respecto al muestreo, para el caso de investigaciones experimentales se realizó el cálculo de las unidades de ensayo mediante la resolución de la fórmula para la determinación de duplicados y repeticiones (Anexo 3).

En esta investigación, las unidades de Análisis fueron sinónimo de unidades de ensayo. Según la fórmula se establecieron 10 unidades de ensayo para cada grupo experimental, al ser 12 grupos experimentales correspondientes a las 10 concentraciones del extracto vegetal y 1 grupo control positivo (Gluconato de clorhexidina 0,12%) y un grupo control negativo (DMSO 1%) el total de unidades de ensayo fueron 120. Grupo 1 (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 3).

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica general utilizada fue la experimentación. Para garantizar la fiabilidad de los resultados se utilizaron métodos estandarizados por el *Clinical and Laboratory standard institute* (CLSI). La estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175 se realizó con el método espectrofotométrico. La siembra del inóculo bacteriano se realizó mediante el método de dispersión en superficie con hisopo estéril. Las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. se obtuvieron mediante pesado del extracto seco en balanza analítica. El efecto antibacteriano in vitro se realizó por el método de difusión en disco. La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se realizó por el método de microdilución. Las zonas de inhibición se midieron con un vernier mecánico de la marca Starrett®. El procesamiento microbiológico fue llevado a cabo por un experto microbiólogo (Anexo 4).

3.5. Procedimientos

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

La cepa de *S. mutans* ATCC 25175 certificada fue adquirida mediante importación de la empresa de GenLab del Perú S.A.C en estado liofilizado.

Medios de cultivo y condiciones de cultivo

La cepa de *S. mutans* ATCC 25175 fue reactivada en caldo nutritivo (Merck®) y proliferada en Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®). El cultivo se dio en atmosfera aeróbica a 36,5 °C durante 24 horas. La cepa reactivada se mantuvo viable en Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) y el mismo medio de cultivo fue utilizado para la evaluación del efecto antibacteriano.

Preparación y estandarización del inóculo bacteriano

El inóculo de *S. mutans* ATCC 25175 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 en un espectrofotómetro de luz visible marca Kytel® modelo KV-1200. La concentración estándar fue de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL con una absorbancia de 0,09 a una longitud de onda de 625 nm (equivalente al estándar 0,5 del nefelómetro de MacFarland).⁶¹

Obtención y certificación del material vegetal

El material vegetal *S. molle* L. fue recolectado del valle santa catalina (Latitud: -8.11667 Longitud: -78.9167) durante el mes de mayo del 2021. Un espécimen de hojas y flores fue remitido al *Herbarium Piurense* para su identificación taxonómica (Anexo 5).

Obtención del extracto hidroalcohólico total y preparación de las concentraciones

El material vegetal colectado fue transportado en bolsas de papel desde el lugar de su recolección hasta al laboratorio de Investigación *Science Experiment* E.I.R.L. en la ciudad de Trujillo. En el laboratorio se realizó el deshojado y selección de hojas en buenas condiciones (sin signos de daño microbiano o por artrópodos, color verde homogéneo). Una vez seleccionadas las hojas, fueron lavadas con agua corriente tres veces para eliminar las impurezas propias del ambiente donde fueron colectadas. Posteriormente fueron secadas en estufa a 40 °C durante 48 horas. El material vegetal seco

fue molido en molino artesanal marca corona y luego fue pesado en balanza analítica y depositado en un matraz Erlenmeyer para la obtención del extracto. Al matraz con el material vegetal seco se le agregó una mezcla hidroalcohólica al 80% (etanol+ agua), se mezcló uniformemente y se colocó en maceración con agitación durante 72 horas en agitador magnético marca FOUR E'S Scientific modelo MI0102003. Una vez obtenido el extracto total se decantó el sobrenadante en matraz estéril y se filtró con papel de filtro Whatman N° 1 y N° 2. El filtrado final fue vaporizado en estufa microbiológica a 38 °C durante 48 horas obteniéndose finalmente el extracto seco crudo a partir del cual se prepararon 10 concentraciones de; 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. El solvente utilizado fue dimetilsulfóxido al 1 % (DMSO Sigma) considerado también control negativo. Su preparación se realizó al momento de la experimentación en condiciones de esterilidad.⁶²

Evaluación del efecto antibacteriano

Método Difusión en Disco

La experimentación fue realizada por una microbióloga especialista (Anexo 6). A partir del inóculo estandarizado previamente y con ayuda de un hisopo estéril se realizó la siembra por el método de dispersión en la superficie de las placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®). Realizada la siembra, se colocaron los discos de sensibilidad embebidos previamente con cada una de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. También se colocaron los discos con el control negativo y positivo. Las placas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se colocaron en estufa microbiológica marca Kyntel, modelo HHA-12 a 36,5°C ± 1°C durante 24 h para el proceso de incubación.⁶²⁻⁶⁴

Método de Microdilución

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método de microdilución. Para ello, una microplaca estéril de 96 pocillos con tapa se rotuló con cada una de las concentraciones del extracto y los controles. A cada pocillo se incorporó 50 µL de las concentraciones de los extractos a doble concentración

y 50 μ L del inóculo de *S. mutans* con ayuda de una micropipeta de rango variable. Las microplacas se incubaron a $36,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 18-20 horas. El volumen final en cada pocillo fue de 100 μ L. Después de la incubación, y con ayuda de una micropipeta se tomó 50 μ L de solución de cada uno de los pocillos donde no se observa crecimiento microbiano y se colocó en la superficie de placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) y se incubaron en las mismas consideraciones microbiológicas para corroborar la CMI y CMB.⁶⁴

Lectura de resultados.

En el caso del método de Difusión en disco se analizaron todas las placas de petri sembradas en busca de zonas de inhibición alrededor de los discos de sensibilidad con cada una de las concentraciones del extracto y los controles evaluados. Las zonas de inhibición fueron medidas con un vernier mecánico marca Starrett® y reportadas de halos de inhibición en mm según tratamiento \pm desviación estándar y registrados en la ficha de recolección de datos. En el caso del método de microdilución, la CMI fue la concentración más baja en la que no se observó viabilidad después de 24 horas de incubación. Se corroboró la ausencia de crecimiento mediante la resiembra en placas con Mitis Salivarius Agar (Liofilmchem®) a partir de los pocillos donde no se observó crecimiento. Este paso sirvió también para la determinación de la CMB.^{64,65}

3.6. Método de análisis de datos

Los resultados obtenidos se recopilaron en una ficha de recolección de datos y tabulados en el programa Excel 2019. El análisis estadístico se realizó en el software SPSS v.26. Como paso inicial se estableció la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. También se aplicó ANOVA unidireccional para la comparación de medias de los resultados y la significancia estadística se determinó mediante el análisis post hoc de Tukey con un nivel de confianza del 95%.⁶⁶

3.7. Aspectos éticos

Los aspectos éticos se centraron en la manipulación responsable y segura de los microorganismos. Para ello, se cumplió la normativa establecida en el

Manual de Bioseguridad y de Gestión de residuos comunes y biocontaminados del laboratorio donde se ejecutó la investigación y las dadas por el Ministerio de Salud (MINSA)⁶⁷ y la Organización Mundial de la Salud (OMS) en sus respectivos manuales de bioseguridad.⁶⁸

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) y de los controles sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de difusión en disco.

Bacteria	Concentración extracto / controles	Zona de inhibición (mm)				p**
		Media	D.E*	Mínimo	Máximo	
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	10 µg/mL	7,12	0,487	6,60	7,90	0,000
	20 µg/mL	7,70	0,258	7,40	8,20	
	30 µg/mL	8,21	0,423	7,70	9,10	
	40 µg/mL	9,89	0,321	9,50	10,50	
	50 µg/mL	12,38	0,424	11,80	13,00	
	60 µg/mL	15,14	0,506	14,50	15,90	
	70 µg/mL	17,00	0,501	16,10	17,80	
	80 µg/mL	19,89	0,638	18,90	20,90	
	90 µg/mL	22,09	0,431	21,50	22,70	
	100 µg/mL	24,37	0,568	23,50	25,10	
1%***	0,00	0,000	0,00	0,00		
0,12%****	15,42	0,370	15,00	16,00		

Fuente: Base de datos

*Desviación estándar

**ANOVA (Intervalo de confianza del 95% para la media).

*** DMSO

**** Gluconato de Clorhexidina

En la tabla 1 se muestran los promedios de halos de inhibición del efecto antibacteriano *in vitro* de diez concentraciones del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. y dos controles sobre *S. mutans* ATCC 25175 mediante el método de difusión en disco. Se observa que todas las concentraciones inhibieron a la bacteria, sin embargo, fue la concentración 60 µg/mL la que igualó el efecto antibacteriano producido por el control + (halo de 15,42 ± 0,370 mm) con una inhibición promedio de 15,14 ± 0,506 mm. Las concentraciones de 70 µg/mL, 80 µg/mL, 90 µg/mL y 100 µg/mL superaron al control+ con halos de de 17,00 ± 0,501mm; 19,89 ± 0,638 mm; 22,09 ± 0,431 mm; 24,37 ± 0,568 mm respectivamente. Existe diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos evaluados (p <0,05).

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de microdilución.

Fuente: Base de datos

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

CMI

(+) = Presencia de crecimiento Bacteriano.

(-) = Ausencia de Crecimiento Bacteriano.

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

En la tabla 2 se muestra la inhibición del crecimiento de *S. mutans* ATCC 25175 al exponerse a 10 concentraciones del extracto alcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle). Se reporta crecimiento bacteriano en mayor y menor medida en las concentraciones de 10 µg/mL; 20 µg/mL; 30 µg/mL; 40 µg/mL; 50 µg/mL y en control negativo. Sin embargo, ya no se observa crecimiento aparente en la concentración de 60 µg/mL, constituyéndose esta en la concentración mínima inhibitoria (CMI) de este extracto sobre *S. mutans*.

Tabla 3. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante el método de microdilución.

Fuente: Base de datos

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

CMB

(+) = Presencia de crecimiento Bacteriano.

(-) = Ausencia de Crecimiento Bacteriano.

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

En la tabla 3 se muestra la inhibición del crecimiento de *S. mutans* ATCC 25175 al exponerse a 10 concentraciones del extracto alcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle). Al no observarse crecimiento aparente en los pocillos de la microplaca con la concentración de 60 $\mu\text{g/mL}$, constituyéndose esta en la concentración mínima inhibitoria (CMI). Sin embargo, cuando se realizó la corroboración en placa de las concentraciones en las cuales no se observó crecimiento se reporta que la inhibición absoluta y permanente se da en la concentración de 70 $\mu\text{g/mL}$ convirtiéndose esta en la concentración mínima bactericida (CMB).

V. DISCUSIÓN

En los últimos años el uso de las plantas medicinales para controlar a microorganismos de interés clínico y/o estomatológico se ha ido incrementando considerablemente. En ese contexto, existen algunos antecedentes

investigativos que reconocen y comunican el potencial antimicrobiano de los extractos y aceites esenciales de *Schinus molle* L. La presente investigación buscó evaluar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de esta planta medicinal, como toda investigación experimental se consideraron el control positivo que fue clorhexidina 0,12% y el control negativo DMSO 1%. El efecto antibacteriano fue evaluado mediante el método de difusión en disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida por el método de microdilución. El efecto antibacteriano se expresó cómo diámetro de halo de inhibición y se reportó en mm. Los halos de inhibición de las concentraciones fueron; 10 µg/mL ($7,12 \pm 0,487$ mm); 20 µg/mL ($7,70 \pm 0,258$ mm); 30 µg/mL ($8,21 \pm 0,423$ mm); 40 µg/mL ($9,89 \pm 0,321$ mm); 50 µg/mL ($12,38 \pm 0,424$ mm); 60 µg/mL ($15,14 \pm 0,506$ mm); 70 µg/mL ($17,00 \pm 0,501$ mm); 80 µg/mL ($19,89 \pm 0,638$ mm); 90 µg/mL ($22,09 \pm 0,431$ mm) y 100 µg/mL ($24,37 \pm 0,568$ mm). La clorhexidina 0,12% utilizada como control positivo formó un halo de $15,42 \pm 0,370$ mm y el control negativo no formó halo de inhibición. Estos resultados difieren de lo reportado por Turchetti, et al.²⁵ quienes investigaron la actividad antimicrobiana de extractos de hojas y fracciones de cromatografía de *Schinus molle* L. contra diversos microorganismos, reportando que el extracto de éter de petróleo formó halos de inhibición de 10.3 ± 1.5 mm contra *S. aureus* a la concentración de 400 µg/mL. El extracto de éter etílico a la concentración de 200 µg/mL formó halos de inhibición de 10.3 ± 1.2 mm contra *S. aureus* y de 8.3 ± 0.6 mm contra *E. faecalis*. Como puede observarse la actividad antibacteriana reportada por Turchetti, et al.²⁵ aún con concentraciones superiores fue menor a la reportada en esta investigación. Esta diferencia radicaría en que existen diversos factores ambientales, nutricionales y geográficos que influyen en la cantidad de principios bioactivos de una planta. También influye la calidad del material vegetal y las condiciones de obtención de los extractos. Pero las posibilidades que fundamentan un efecto distinto aun utilizando una misma planta no solo se concentran solo en ella, sino también en el microorganismo evaluado. Turchetti, et al.²⁵ evaluó su efecto contra *S. aureus*, mientras que en esta investigación se evaluó contra *S. mutans*, ambas bacterias comparten características microbiológicas semejantes respecto a estructura y morfología sin embargo

difieren grandemente en su virulencia pues mientras *S. mutans* se comporta como un patógeno oportunista *S. aureus* si es considerado un verdadero patógeno y esta condición pudo haber contribuido en que se reporte un efecto antibacteriano menor.

En ese sentido, Lamboro, et al.²⁶ evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos de hoja, corteza de tallo y corteza de raíz de *Schinus molle* contra dos bacterias y dos hongos. Reportaron que los extractos etanólicos de tallo y raíz de *S. molle* exhibieron una zona de inhibición relativamente más alta con halos de inhibición de $11,30 \pm 0,06$ mm contra *Xanthomonas campestris*. Estos resultados tienen similitud con los de esta investigación en relación a la concentración de 50 µg/mL ($12,38 \pm 0,424$ mm). Si bien es cierto *X. campestris* es un fitopatógeno y difiere mucho de las bacterias de interés clínico, estos resultados nos permiten entender el gran potencial de espectro antimicrobiano que tienen los metabolitos secundarios de *S. molle*. Es así que Lamboro, et al.²⁶ al realizar el análisis fitoquímico de sus extractos reporta la presencia de biomoléculas tipo flavonoides, alcaloides, saponinas, esteroides, terpenoides, fenoles, entre otras. Entonces considerando que en ambos estudios se trabajaron con extractos hidroetanólicos y teniendo en cuenta el aporte de Lamboro, et al.²⁶ con la caracterización fitoquímica, se puede precisar que los extractos de *S. molle* presentan un potencial prometedor no solo contra microorganismos de interés clínico sino también contra fitopatógenos toda vez que estos productos son ricos en los principales compuestos antimicrobianos producidos por las plantas medicinales.

Similares resultados que los de Lamboro, et al.²⁶ fueron reportados por Loyola, et al.²⁷ quienes compararon *in vitro* la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Erythroxylum coca* y *Schinus molle* L. al 50% y 75% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Ellos reportaron que la mayor actividad antimicrobiana con el extracto de molle se obtuvo a la concentración de 75% con halos de inhibición promedio de 11.6 ± 0.5 mm. La diferencia relevante entre el estudio de Loyola, et al.²⁷ y el realizado por nosotros radica en la obtención y concentración del extracto. Aun así, reportaron efecto antibacteriano. Ambos reportes difieren de lo comunicado por Al-Andal, et al.²⁸ quienes evaluaron las

variaciones en las propiedades químicas y antimicrobianas de las frutas de *Schinus molle* cultivadas en Abha. Ellos revelaron que el extracto de acetona, el extracto etanólico mostraron los mejores efectos antimicrobianos con halos de inhibición de $30,00 \pm 1,15$ mm contra *Staphylococcus aureus* y el extracto de acetona caliente $22,00 \pm 3,21$ mm contra *Micrococcus luteus*. Resaltando el potencial antibiótico de los extractos de esta planta. Como puede observarse, a diferencia del estudio de Turchetti, et al.²⁵ quienes también evaluaron el efecto del extracto de *S. molle* contra *S. aureus* y reportaron halos de inhibición pequeños; los resultados de Al-Andal, et al.²⁸ muestran efectos inhibitorios más potentes expresados en halos de inhibición más grandes, lo que se relaciona aun más con lo que se ha reportado en esta investigación a partir de la concentración de 80 µg/mL. Estos contrastes tienen fundamento teórico y deben explicarse de esa manera para poder comprender la diversidad de efectos observados con la misma planta y frente a similares microorganismos. Se fundamentan en la naturaleza de la planta medicinal evaluada, las características de cultivo, pues una planta que ha sido expuesta a condiciones de estrés ambiental o plagas tiene la capacidad de sintetizar más compuestos de defensa y son estos los que se constituyen en los metabolitos secundarios con gran potencial antimicrobiano. Otro punto clave es el método en estos principios activos son extraídos del material vegetal. No existe ningún método que permita la extracción del 100% de estos compuestos en ese sentido la elección del método de extracción es importante al momento de establecer el potencial farmacológico de una planta. Y como elemento final y también relevante, tenemos al microorganismo. La naturaleza del microorganismo, morfología, resistencia natural y sus condiciones de cultivo todo ello influirá en mayor o menor medida en su inhibición al momento de ser expuestas a compuestos antimicrobianos de origen natural.

Teniendo en cuenta que el extracto total de una planta como el utilizado en la presente investigación concentra tanto compuestos acuosos como oleosos, al respecto Do Prado, et al.²⁹ y Eryigit, et al.³² evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* frente a bacterias y hongos de importancia clínica. Reportaron halos de inhibición de 14 mm para *Enterococcus faecalis* y de 10 mm para *Staphylococcus aureus*. Determinaron que

la CMI fue de 2500 µg/mL y la CMB fue 5000 µg/mL (CMB) contra *Enterococcus faecalis*. Este resultado es coherente, pero difiere de los obtenidos en nuestra investigación. Son coherentes, porque Do Prado, et al.²⁹ solo evaluaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial, es decir solo de los compuestos oleosos por ello quizás se requieren concentraciones más elevadas a diferencia de los extractos que concentran la gran mayoría de principios activos con capacidad antimicrobiana.

En ese sentido, Tahtamouni R.³⁰ evaluó el potencial antibacteriano de los extractos etanólicos y metanólicos de *Schinus molle* L. frente a cuatro cepas bacterianas, reportando que el extracto etanólico de las hojas fue el más efectivo contra *Bacillus subtilis* con halos de inhibición de 22.0 ± 0.06 mm y *Enterobacter aerogenes* con halos de inhibición de 15.0 ± 0.17 mm. El crecimiento de *E. aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae* fueron inhibidos principalmente por el extracto metanólico de las hojas, con zonas de inhibición de 18.0 ± 0.086 mm y 17.0 ± 0.12 mm respectivamente. Si bien los resultados de Tahtamouni R.³⁰ fueron sobre diferentes bacterias, lo relevante de este estudio fue la utilización de un tipo de extracto semejante al utilizado en la presente investigación. Y se puede ver que la inhibición ocasionada por el extracto etanólico se reporta en halos de inhibición de 15 a 22 mm, semejante a los halos formados en la presente investigación a las concentraciones de 60 µg/mL ($15,14 \pm 0,506$ mm) y 90 µg/mL ($22,09 \pm 0,431$ mm).

En las investigaciones precedentes se ha visto el potencial antibacteriano de los distintos tipos de extractos de la especie vegetal *Schinus molle* L, planta utilizada en esta investigación también. Sin embargo, este potencial antimicrobiano es compartido por otras especies vegetales del género *Schinus* como lo reporta Salem, et al.^{31,33} y Nogueira, et al.³⁵ quienes investigaron la actividad antibacteriana del aceite esencial, extracto acetónico y extracto n-hexano de *Schinus terebinthifolius* contra *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sarcina lutea* y *Staphylococcus aureus*. Reportaron que la mayor inhibición del extracto acetónico fue de 18.3 ± 0.3 mm contra *S. aureus* y 13.3 ± 0.3 mm sobre *S. lutea*. La CIM de ese extracto y para ambos microorganismos se determinó en 8 µg/mL y 128 µg/mL respectivamente. Similares resultados fueron reportados por Abd-Allah, et al.³⁴ quienes evaluaron

la actividad antimicrobiana de dos extractos crudos metanólicos y la quercetina de las partes aéreas de *Schinus molle* contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. El extracto metanólico a la concentración de 10 µg/mL formó halos de inhibición de 10 mm tanto para *B. subtilis* como para *S. aureus* y *E. coli*. Contra *C. albicans* formó un halo de inhibición de 12 mm. Por su parte, la quercetina aislada del extracto también a la concentración de 10 µg/mL formó halos de inhibición de 20 mm contra *B. subtilis*, *S. aureus* y *E. coli*. Estos resultados confirman una vez más que los extractos totales de las diferentes especies del género *Schinus* presentan potencial antimicrobiano, sobre bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y hongos, gracias a la concentración de metabolitos secundarios como flavonoides (apigenina, miricetina, quercetina, kaempferol, galato de epigallocatequina, morina, formononetina; 7-hidroxi-6-metoxiflavanona y formononetina), polifenoles (ácido tánico, el ácido gálico y galato de metilo), monoterpenos (carvacrol y el timol) y aceites esenciales como pineno, mirceno, limoneno, cadineno, cimeno, sabineno y felandreno cuya actividad antimicrobiana ya ha sido corroborada.

VI. CONCLUSIONES

1. Se determinó que las diez concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle) presentan efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sin embargo solo las

concentraciones de 70 µg/mL, 80 µg/mL, 90 µg/mL y 100 µg/mL superaron al control positivo Gluconato de clorhexidina 0,12%.

2. Se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue de 60 µg/mL.
3. Se determinó que la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fue de 70 µg/mL.

VII. RECOMENDACIONES

1. Debido a que las 10 concentraciones del extracto de *Schinus molle* L. (molle) evaluadas tuvieron efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se sugiere determinar dicho efecto sobre otros microorganismos de

interés estomatológico para que de esta manera se pueda validar su potencial uso como antimicrobiano.

2. En esta investigación se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre *S. mutans* ATCC 25175 fue de 60 µg/mL pero las concentraciones se evaluaron cada 10 µg/mL, en ese sentido se sugiere evaluar concentraciones unitarias para establecer una CMI más exacta.
3. En esta investigación se determinó que la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Schinus molle* L. (molle) sobre *S. mutans* ATCC 25175 fue de 70 µg/mL pero las concentraciones se evaluaron cada 10 µg/mL, en ese sentido se sugiere evaluar concentraciones unitarias para establecer una CMB más exacta.

REFERENCIAS

1. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*

- [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 392(10159):1789-1858. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7).
2. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 85(3):202-206. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2381-6>.
 3. Philip N, Suneja B, Walsh L. Beyond *Streptococcus mutans*: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *Br Dent J* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 224(4):219-225. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.81>.
 4. Rainey K, Michalek SM, Wen ZT, Wu H. Glycosyltransferase-Mediated Biofilm Matrix Dynamics and Virulence of *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 85(5):e02247-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AEM.02247-18>.
 5. Lozano CP, Díaz-Garrido N, Kreth J, Giacaman RA. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* Expression of Competition-Related Genes, Under Sucrose. *Caries Res* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 53(2):194-203. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000490950>.
 6. Bedoya-Correa CM, Rincón Rodríguez RJ, Parada-Sanchez MT. Genomic and phenotypic diversity of *Streptococcus mutans*. *J Oral Biosci* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 61(1):22-31. Disponible e: <https://doi.org/10.1016/j.job.2018.11.001>.
 7. 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 02 May 2021]; 121:104970. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104970>.
 8. Remberto Marcelo Argandoña Valdez, Cristiane Duque, Karina Sampaio Caiaffa, Vanessa Rodrigues dos Santos, Maria Luiza de Aguiar Loesch, Colombo NH. Genotypic diversity and phenotypic traits of *Streptococcus mutans* isolates and their relation to severity of early childhood caries. *BMC Oral Health* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 17(115): 1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12903-017-0406-1>.

9. 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 02 May 2021]; 8(10):1596: 1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101596>.
10. Soldani FA, Lamont T, Jones K, Young L, Walsh T, Lala R, Clarkson JE. One-to-one oral hygiene advice provided in a dental setting for oral health. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 10(10):CD007447. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007447.pub2>.
11. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 103:103497. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103497>.
12. Jones SB, West NX, Nesmiyanov PP, Krylov SE, Klechkovskaya VV, Arkharova NA, et al. The antibacterial efficacy of a foam mouthwash and its ability to remove biofilms. *BDJ Open* [Internet]. 2018 [Citado 02 May 2021]; 4:17038. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41405-018-0005-5>.
13. Tartaglia GM, Tadakamadla SK, Connelly ST, Sforza C, Martín C. Adverse events associated with home use of mouthrinses: a systematic review. *Ther Adv Drug Saf* [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 10:2042098619854881. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/2042098619854881>.
14. Mao X, Auer DL, Buchalla W, Hiller KA, Maisch T, Hellwig E, Al-Ahmad A, Cieplik F. Cetylpyridinium Chloride: Mechanism of Action, Antimicrobial Efficacy in Biofilms, and Potential Risks of Resistance. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 64(8):e00576-20. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.00576-20>.
15. Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 20(8):447-469. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1399306>.
16. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic

- Biofilms. Pathogens [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 9(7):569. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>.
17. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. Pathogens [Internet]. 2020 [Citado 02 May 2021]; 9(7):569. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>.
 18. Rajini Kanth M, Ravi Prakash A, Sreenath G, Simha Reddy V, Huldah S. Efficacy of specific plant products on microorganisms causing dental caries. J Clin Diagnostic Res [Internet]. 2016 [Citado 02 May 2021]; 10(12): Disponible en: ZM01 - ZM03. Disponible en: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19772.9025>.
 19. Jain I, Jain P, Bisht D, Sharma A, Srivastava B, Gupta N. Use of Traditional Indian Plants in the Inhibition of Caries-Causing Bacteria - Streptococcus mutans. Braz Dent J [Internet]. 2015 [Citado 02 May 2021]; 26(2): 110-115. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300102>.
 20. Banavar Ravi S, Nirupad S, Chippagiri P, Pandurangappa R. Antibacterial Effects of Natural Herbal Extracts on Streptococcus mutans: Can They Be Potential Additives in Dentifrices? Int J Dent [Internet]. 2017 [Citado 02 May 2021]; 2017:4921614. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2017/4921614>.
 21. Lee YC, Cho SG, Kim SW, Kim JN. Anticariogenic Potential of Korean Native Plant Extracts against Streptococcus mutans. Planta Med [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 85(16):1242-1252. Disponible en: <https://doi.org/10.1055/a-1013-1364>.
 22. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. Antimicrob Resist Infect Control [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; 8(118):1-128. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>
 23. Garzoli S, Laghezza V, Ovidi E, Turchetti G, Zago D, Tiezzi A. Chemical Investigation of a Biologically Active Schinus molle L. Leaf Extract. J Anal Methods Chem [Internet]. 2019 [Citado 02 May 2021]; ID: 8391263: 1-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2019/8391263>

24. Silva-Júnior EF, Aquino PG, Santos-Júnior PF, Nascimento IJ, Gomes EA, Silva AL, Verissimo RC, et al. Phytochemical compounds and pharmacological properties from *Schinus molle* Linnaeus and *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *J Chem Pharm Res* [Internet]. 2015 [Citado 02 May 2021]; 7(12):389-393. Disponible en: <https://www.jocpr.com/articles/phytochemical-compounds-and-pharmacological-properties-from-schinus-molle-linnaeus-and-schinus-terebinthifolius-raddiana.pdf>
25. Turchetti G, Garzoli S, LaghezzaMasci V, Sabia C, Iseppi R, Giacomello P, et al. Antimicrobial Testing of *Schinus molle* (L.) Leaf Extracts and Fractions Followed by GC-MS Investigation of Biological Active Fractions. *Molecules* [Internet]. 2020 [Citado 18 abr 2021]; 25(8):1977. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25081977>.
26. Lamboro T, Mengistu M, Hordofa TG. Phytochemical Screening, Characterization of Essential Oil and Antimicrobial Activity of *Schinus molle* (Anacardiaceae) Collected from Eastern Hararghe, Ethiopia. *Braz J Nat Sci* [Internet]. 2020 [citado 19 abr 2021]; 3(2):305-315. Disponible en: <https://www.bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/93>.
27. Loyola D, Mendoza R, Chiong L, Rueda M, Alvítez-Temoche D, Gallo W, Mayta-Tovalino F. Ethanol extract of *Schinus molle* L. (molle) and *Erythroxylum coca* Lam (coca): Antibacterial properties at different concentrations against *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *J Int Soc Prevent Communit Dent* [Internet]. 2020 [citado 19 abr 2021]; 10(5): 579-584. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_237_20.
28. Al-Andal A, Moustafa M, Alrumman S. Variations in Chemicals and Antimicrobial Properties of *Schinus molle* Fruits Grown in Abha Area, Saudi Arabia. *Arab J Sci Eng* [Internet]. 2019 [citado 19 abr 2021]; 44: 87-101. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13369-018-3660-x>.
29. do Prado AC, Garces HG, Bagagli E, Rall VLM, Furlanetto A, Fernandes A, et al. *Schinus molle* essential oil as a potential source of bioactive compounds: antifungal and antibacterial properties. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2019 [citado 19 abr 2021]; 126(2): 516-522. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.14157>.

30. Tahtamouni RW. Investigating the Antibacterial Potential of Ethanolic and Methanolic Extracts of the *Schinus molle* L Tree. *Jordan J Biol Sci* [Internet]. 2018 [citado 19 abr 2021]; 11(5): 527-531. Disponible en: <http://jjbs.hu.edu.jo/files/vol11n5/Paper%20Number%208.pdf>
31. Salem MZM, El-Hefny M, Ali HM, Elansary HO, Nasser RA, El-Settawy AAA, et al. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. *Microb Pathog* [Internet]. 2018 [citado 19 abr 2021]; 120:119-127. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.040>.
32. Eryiğit T, Yildirim B, Ekici K, Cirka M. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Schinus molle* L. Essential Oil from Turkey. *J Essent Oil Bear PI* [Internet]. 2017 [Citado 18 abr 2021]; 20(2): ss.570-577. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/0972060x.2017.1304286>.
33. Salem MZM, Zayed MZ, Ali HM, Abd El-Kareem MS. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Schinus molle* wood branch growing in Egypt. *J Wood Sci* [Internet]. 2016 [Citado 18 abr 2021]; 62: 548–561. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10086-016-1583-2>.
34. Abd-Allah W, Awad H, AbdelMohsen M. HPLC Analysis of Quercetin and Antimicrobial Activity of Comparative Methanol Extracts of *Shinus molle* L. *Int.JCurr Microbiol App.Sci* [Internet]. 2015 [Citado 18 abr 2021]; 4(11): 550-558. Disponible en: <https://www.ijcmas.com/vol-4-11/Valid%20E.%20Abd-Allah,%20et%20al.pdf>
35. Nogueira E, Medeiros C, Oliveira J, Evangelista A, Magalhães M, Filho G, et al. In Vitro Antibacterial Activity of the Hidroalcoholic Extract of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Barks. *Advances in Microbiology* [Internet]. 2014 [citado 19 abr 2021]; 4(12): 761-765. Disponible en: <https://doi.org/10.4236/aim.2014.412083>.
36. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, Listl S, Celeste RK, Guarnizo-Herreño CC, Kearns C, Benzion H, Allison P, Watt RG. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet* [Internet]. 2019

- [citado 20 Jun 2021]; 394(10194):249-260. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31146-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31146-8).
37. Fiorillo L. Oral Health: The First Step to Well-Being. *Medicina (Kaunas)* [Internet]. 2019 [citado 19 abr 2021]; 55(10):676. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/medicina55100676>.
 38. 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 19 abr 2021]; 36 (6): e00119119. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00119119>.
 39. Chaffee BW, Rodrigues PH, Kramer PF, Vítolo MR, Feldens CA. Oral health-related quality-of-life scores differ by socioeconomic status and caries experience. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 2017 [citado 19 abr 2021]; 45(3):216-224. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/cdoe.12279>.
 40. Pegon-Machat E, Jourdan D, Tubert-Jeannin S. Inégalités en santé orale: déterminants de l'accès à la prévention et aux soins en France. *Sante Publique* [Internet]. 2018 [citado 20 Jun 2021]; 30(2):243-251. Disponible en: <https://doi.org/10.3917/spub.182.0243>.
 41. 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 20 Jun 2021]; 19(39): 1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0731-7>.
 42. Azañedo D, Vargas-Fernández R, Rojas-Roque C. Factors associated with the use of oral health services in older peruvian adults: secondary analysis of population survey, 2018. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019 [citado 20 Jun 2021]; 36(4): 553-561. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/4724/3487>.
 43. Azañedo D, Hernández-Vásquez A, Casas-Bendezú M, Gutiérrez C, Agudelo-Suárez AA, Cortés S. Factors determining access to oral health services among children aged less than 12 years in Peru. *F1000Res* [Internet]. 2017 [citado 20

Jun 2021]; 6:1680. Disponible en:
<https://doi.org/10.12688/f1000research.12474.1>.

44. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, et al. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine* [Internet]. 2016 [citado 20 Jun 2021]; 11:4743-4763. Disponible en: <https://doi.org/10.2147/IJN.S107624>.
45. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019 [citado 20 Jun 2021]; 7(1): 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>.
46. 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 20 Jun 2021]; DOI: 10.5772 / intechopen.85807. Disponible en: <https://doi.org/10.5772 / intechopen.85807>.
47. Koo H, Bowen WH. *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*: a potential synergistic alliance to cause virulent tooth decay in children. *Future Microbiol* [Internet]. 2014 [citado 20 Jun 2021]; 9(12):1295-7. Disponible en: <https://doi.org/10.2217/fmb.14.92>.
48. Zayed SM, Aboulwafa MM, Hashem AM, Saleh SE. Biofilm formation by *Streptococcus mutans* and its inhibition by green tea extracts. *AMB Expr* [Internet]. 2021 [citado 20 Jun 2021]; 11(73): 1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01232-6>.
49. Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends Microbiol* [Internet]. 2018 [citado 20 Jun 2021]; 26(3):229-242. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>.
50. Salehi B, Kregiel D, Mahady G, Sharifi-Rad J, Martins N, Rodrigues CF. Management of *Streptococcus mutans*-*Candida* spp. Oral Biofilms' Infections: Paving the Way for Effective Clinical Interventions. *J Clin Med* [Internet]. 2020 [citado 20 Jun 2021]; 9(2):517. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jcm9020517>.

51. Philip N, Suneja B, Walsh L. Beyond Streptococcus mutans: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *Br Dent J* [Internet]. 2018 [citado 20 Jun 2021]; 224(4):219-225. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.81>.
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 20 Jun 2021]; 32:601-644. Disponible en: <https://doi.org/10.21775/cimb.032.601>.
53. Vargas-Segura AI, Silva-Belmares SY, Segura-Ceniceros EP, Ascacio-Valdés JA, Méndez-González L, Ilyina A. Screening and characterization of medicinal plants extracts with bactericidal activity against Streptococcus mutans. *Nat Prod Res* [Internet]. 2020 [citado 20 Jun 2021]; 34(18):2672-2676. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1550757>.
54. Hickl J, Argyropoulou A, Sakavitsi ME, Halabalaki M, Al-Ahmad A, Hellwig E, et al. Mediterranean herb extracts inhibit microbial growth of representative oral microorganisms and biofilm formation of Streptococcus mutans. *PLoS One* [Internet]. 2018 [citado 20 Jun 2021]; 13(12): e0207574. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207574>.
55. Mandava K, Batchu UR, Kakulavaram S, Repally S, Chennuri I, Bedarakota S, Sunkara N. Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against S.mutans glucosyltransferase. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2019 2018 [citado 20 Jun 2021]; 19(1):197. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2608-3>.
56. Lee YC, Cho SG, Kim SW, Kim JN. Anticariogenic Potential of Korean Native Plant Extracts against Streptococcus mutans. *Planta Med* [Internet]. 2019 [citado 20 Jun 2021]; 85(16):1242-1252. Disponible en: <https://doi.org/10.1055/a-1013-1364>.
57. Kidd CV. Basic Research Description versus Definition. *Science* [Internet]. 1959 [citado 20 Jun 2021]; 129 (3346): 368-371. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/1758209>.

58. 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 20 Jun 2021]; 125-146. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-1-876938-42-0.50015-0>.
59. Alara OR, Abdurahman NH, Olalere OA. Ethanol extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. *J King Saud Univ Sci* [Internet]. 2020 [citado 20 Jun 2021]; 32(1): 7-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.08.001>
60. Paredes F, Roca JJ. Acción de los antibióticos. *Perspectiva de la medicación antimicrobiana. OFFARM* [Internet]. 2004 [citado 20 Jun 2021]; 23(3): 116-124. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
61. 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 20 Jun 2021]; 56(8): e00437-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00437-18>.
62. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2020 [citado 20 Jun 2021]; 12(1):1-10. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
63. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
64. Klančnik A, Piskernik S, Jeršek 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>.
65. 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 20 Jun 2021]; 56(8): e00437-18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/JCM.00437-18>.

66. Steel RG, Torrie FJ. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2da Ed. (1ra en español) Edit. McGraw-Hill. México. 1988. 622p.
67. 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>
68. 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

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Escala
	Es el producto total obtenido a partir de la exposición del material vegetal	Cantidad en µg del extracto seco total		10 µg/mL 20 µg/mL 30 µg/mL 40 µg/mL	

Extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L. (molle).	seco de <i>S. molle</i> L. a una mezcla hidroalcohólica y que contiene los fitoquímicos de la matriz vegetal. ⁵⁹	de <i>S. molle</i> L. (molle) diluida en un solvente inerte de DMSO 1%.	Concentración 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 un antimicrobiano de inhibir de forma temporal (Efecto bacteriostático) o de forma permanente (Efecto bactericida) el desarrollo de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 en condiciones de laboratorio. ⁶⁰	Formación o ausencia de halo de inhibición de <i>S. mutans</i> ATCC 25175 al ser expuesta a 10 concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>S. molle</i> L. (molle) por el método de difusión en disco. Ausencia de crecimiento por el método de Microdilución.	Sin efecto Efecto Bacteriostático Efecto bactericida	Halos de Inhibición 0 mm = Sin efecto < 14 mm = Efecto Bacteriostático CMI ≥ 16 mm = Efecto bactericida CMB	De Razón

ANEXO 2

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

En la presente investigación se aplicó 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 réplicas que deben hacerse en el estudio.

Z α : Valor correspondiente al nivel de confianza asignado.

Z β : Valor correspondiente al valor estadístico.

W: Eficiencia mínima esperada o diferencia 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 replicaciones 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.

ANEXO 3

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

ANEXO 4

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



SCIENCE EXPERIMENT
Research Laboratory

RESULTADOS DE EJECUCIÓN DE TESIS

Título: **Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Autora: Sinthia Alzamora Santos

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	7.0	8.2	8.1	9.7	12.2	14.6	16.9	19.5	21.5	23.5	0.0	16.0
2	7.7	7.5	8.0	9.5	13.0	15.9	17.5	20.1	22.7	24.1	0.0	15.4
3	6.6	8.1	8.0	9.0	12.0	15.4	16.1	19.0	22.5	25.0	0.0	15.2

ANEXO 5

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE PLANTA



HERBARIUM PIURENSE
Universidad Nacional de Piura

Constancia N° 020-2021

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. Sinthia Alzamora Santos, identificada con DNI N° 45830419, egresada de la carrera de estomatología y estudiante del Taller de Titulación para Universidades No Licenciadas de la Universidad César Vallejo, quien trae una muestra botánica para ser

ANEXO 6

GALERÍA FOTOGRÁFICA PROCEDIMIENTO

MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS





9

10

11

12

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>Schinus molle</i>
5	Balanza analítica y vernier mecánico	11	Hisopos estériles
6	Agitador magnético temperado	12	Placas Petri estériles

OBTENCIÓN DE EXTRACTO



4

5

6

7

8

9

10

11

12

1	Recolección y lavado material vegetal.	7	Pesado de material vegetal molido.
2	Hojas lavadas y seleccionadas.	8	Insumos para extracto alcohólico.
3	Secado de material vegetal en estufa.	9	Mezcla hidroalcohólica.
4	Material vegetal seco.	10	Maceración en agitación.
5	Material vegetal seco en molino.	11	Filtración del extracto total.
6	Molienda de material vegetal.	12	Obtención de extracto seco en estufa.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

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



2

3

1

4

5

6

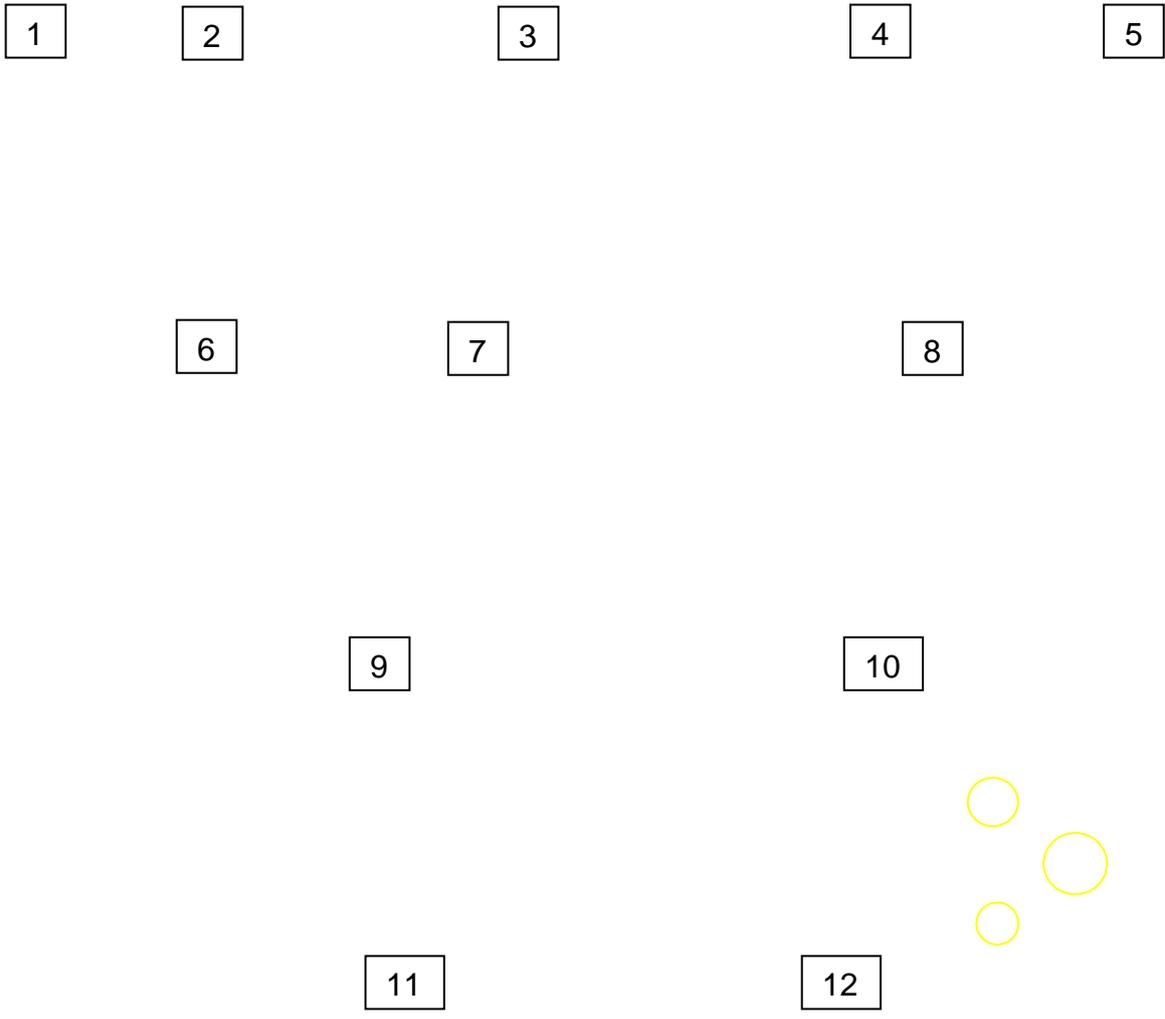
7

8

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 sachet con cepa certificada.	7	Incubación en aerobiosis a 36.5 °C.
4	Ruptura de vial para aplicación de caldo.	8	Cepa reactivada.

EVALUACIÓN DE EFECTO ANTIBACTERIANO





1	Cepa reactivada en caldo.	7	Concentraciones de extracto.
2	Cepa reactivada en Mitis Salivarius agar.	8	Colocación de discos con extracto.
3	Esterilización de asa para toma de UFC.	9	Evaluación de CMI y CMB por microdilución.
4	Preparación de Inóculo bacteriano.	10	Placa inoculada y con discos.
5	Estandarización del inóculo en espectrofotómetro.	11	Incubación en estufa microbiológica.
6	Inoculación de placa con hisopo.	12	Medición de halos de inhibición.

ANEXO 7

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Concentración extracto / Control

Resumen de procesamiento de casos / Diámetro de halo de inhibición						
Concentración extracto / 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%

Descriptivos / Diámetro de halo de inhibición				
Concentración extracto / Control		Estadístico	Error estándar	
10 µg/mL	Media	7,1200	,15406	
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	6,7715	
		Límite superior	7,4685	
	Media recortada al 5%	7,1056		
	Mediana	7,0000		
	Varianza	,237		
	Desviación estándar	,48717		
	Mínimo	6,60		
	Máximo	7,90		
	Rango	1,30		
	Rango intercuartil	1,03		
	Asimetría	,569	,687	
	Curtosis	-1,298	1,334	
	20 µg/mL	Media	7,7000	,08165
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	7,5153	
		Límite superior	7,8847	
Media recortada al 5%		7,6889		
Mediana		7,6500		
Varianza		,067		
Desviación estándar		,25820		
Mínimo		7,40		
Máximo		8,20		
Rango		,80		
Rango intercuartil		,30		
Asimetría		1,162	,687	
Curtosis		,552	1,334	
30 µg/mL		Media	8,2100	,13371
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,9075	
		Límite superior	8,5125	
	Media recortada al 5%	8,1889		
Mediana	8,0500			

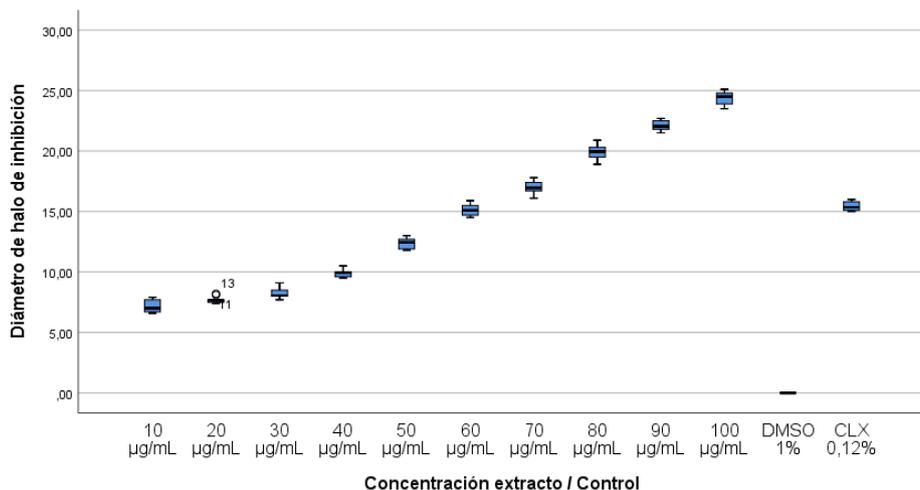
	Varianza		,179	
	Desviación estándar		,42282	
	Mínimo		7,70	
	Máximo		9,10	
	Rango		1,40	
	Rango intercuartil		,58	
	Asimetría		1,027	,687
	Curtosis		,848	1,334
40 µg/mL	Media		9,8900	,10160
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	9,6602	
		Límite superior	10,1198	
	Media recortada al 5%		9,8778	
	Mediana		9,9500	
	Varianza		,103	
	Desviación estándar		,32128	
	Mínimo		9,50	
	Máximo		10,50	
	Rango		1,00	
	Rango intercuartil		,48	
	Asimetría		,464	,687
	Curtosis		-,186	1,334
50 µg/mL	Media		12,3800	,13400
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	12,0769	
		Límite superior	12,6831	
	Media recortada al 5%		12,3778	
	Mediana		12,4500	
	Varianza		,180	
	Desviación estándar		,42374	
	Mínimo		11,80	
	Máximo		13,00	
	Rango		1,20	
	Rango intercuartil		,85	
	Asimetría		-,013	,687
	Curtosis		-1,278	1,334
60 µg/mL	Media		15,1400	,16000
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	14,7781	
		Límite superior	15,5019	
	Media recortada al 5%		15,1333	
	Mediana		15,1000	
	Varianza		,256	
	Desviación estándar		,50596	
	Mínimo		14,50	
	Máximo		15,90	
	Rango		1,40	
	Rango intercuartil		,90	
	Asimetría		,254	,687
	Curtosis		-1,501	1,334
70 µg/mL	Media		17,0000	,15846
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	16,6415	
		Límite superior	17,3585	

	Media recortada al 5%		17,0056	
	Mediana		16,9500	
	Varianza		,251	
	Desviación estándar		,50111	
	Mínimo		16,10	
	Máximo		17,80	
	Rango		1,70	
	Rango intercuartil		,77	
	Asimetría		-,192	,687
	Curtosis		-,095	1,334
80 µg/mL	Media		19,8900	,20191
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,4333	
		Límite superior	20,3467	
	Media recortada al 5%		19,8889	
	Mediana		19,9500	
	Varianza		,408	
	Desviación estándar		,63849	
	Mínimo		18,90	
	Máximo		20,90	
	Rango		2,00	
	Rango intercuartil		,98	
	Asimetría		-,201	,687
	Curtosis		-,621	1,334
90 µg/mL	Media		22,0900	,13618
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	21,7819	
		Límite superior	22,3981	
	Media recortada al 5%		22,0889	
	Mediana		22,0500	
	Varianza		,185	
	Desviación estándar		,43063	
	Mínimo		21,50	
	Máximo		22,70	
	Rango		1,20	
	Rango intercuartil		,77	
	Asimetría		-,092	,687
	Curtosis		-1,443	1,334
100 µg/mL	Media		24,3700	,17954
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	23,9639	
		Límite superior	24,7761	
	Media recortada al 5%		24,3778	
	Mediana		24,5000	
	Varianza		,322	
	Desviación estándar		,56774	
	Mínimo		23,50	
	Máximo		25,10	
	Rango		1,60	
	Rango intercuartil		1,03	
	Asimetría		-,364	,687
	Curtosis		-1,258	1,334
DMSO 1%	Media		,0000	,00000

	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,0000	
		Límite superior	,0000	
	Media recortada al 5%		,0000	
	Mediana		,0000	
	Varianza		,000	
	Desviación estándar		,00000	
	Mínimo		,00	
	Máximo		,00	
	Rango		,00	
	Rango intercuartil		,00	
	Asimetría		.	.
Curtosis		.	.	
CLX 0,12%	Media		15,4200	,11719
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	15,1549	
		Límite superior	15,6851	
	Media recortada al 5%		15,4111	
	Mediana		15,3500	
	Varianza		,137	
	Desviación estándar		,37059	
	Mínimo		15,00	
	Máximo		16,00	
	Rango		1,00	
	Rango intercuartil		,75	
	Asimetría		,458	,687
	Curtosis		-1,303	1,334

Pruebas de normalidad							
	Concentración extracto / Control	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diámetro de halo de inhibición	10 µg/mL	,197	10	,200*	,880	10	,131
	20 µg/mL	,300	10	,011	,853	10	,064
	30 µg/mL	,203	10	,200*	,917	10	,329
	40 µg/mL	,166	10	,200*	,932	10	,469
	50 µg/mL	,171	10	,200*	,936	10	,508
	60 µg/mL	,182	10	,200*	,924	10	,392
	70 µg/mL	,121	10	,200*	,989	10	,996
	80 µg/mL	,129	10	,200*	,969	10	,884
	90 µg/mL	,170	10	,200*	,923	10	,379
	100 µg/mL	,191	10	,200*	,933	10	,477
	DMSO 1%	.	10	.	.	10	.
CLX 0,12%	,147	10	,200*	,910	10	,283	

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



Unidireccional

Descriptivos								
Diámetro de halo de inhibición								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
10 µg/mL	10	7,1200	,48717	,15406	6,7715	7,4685	6,60	7,90
20 µg/mL	10	7,7000	,25820	,08165	7,5153	7,8847	7,40	8,20
30 µg/mL	10	8,2100	,42282	,13371	7,9075	8,5125	7,70	9,10
40 µg/mL	10	9,8900	,32128	,10160	9,6602	10,1198	9,50	10,50
50 µg/mL	10	12,3800	,42374	,13400	12,0769	12,6831	11,80	13,00
60 µg/mL	10	15,1400	,50596	,16000	14,7781	15,5019	14,50	15,90
70 µg/mL	10	17,0000	,50111	,15846	16,6415	17,3585	16,10	17,80
80 µg/mL	10	19,8900	,63849	,20191	19,4333	20,3467	18,90	20,90
90 µg/mL	10	22,0900	,43063	,13618	21,7819	22,3981	21,50	22,70
100 µg/mL	10	24,3700	,56774	,17954	23,9639	24,7761	23,50	25,10
DMSO 1%	10	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
CLX 0,12%	10	15,4200	,37059	,11719	15,1549	15,6851	15,00	16,00
Total	120	13,2675	6,80899	,62157	12,0367	14,4983	,00	25,10

Prueba de homogeneidad de varianzas				
Diámetro de halo de inhibición	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	3,806	11	108	,000
Se basa en la mediana	2,883	11	108	,002
Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,883	11	80,926	,003
Se basa en la media recortada	3,744	11	108	,000

ANOVA					
Diámetro de halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5496,194	11	499,654	2578,367	,000
Dentro de grupos	20,929	108	,194		
Total	5517,123	119			

Pruebas post hoc

HSD Tukey	Comparaciones múltiples				
Variable dependiente: Diámetro de halo de inhibición					
(J) Concentración extracto / Control	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
20 µg/mL	-,58000	,19687	,140	-1,2377	,0777
30 µg/mL	-1,09000*	,19687	,000	-1,7477	-,4323
40 µg/mL	-2,77000*	,19687	,000	-3,4277	-2,1123
50 µg/mL	-5,26000*	,19687	,000	-5,9177	-4,6023
60 µg/mL	-8,02000*	,19687	,000	-8,6777	-7,3623

70 µg/mL	-9,88000*	,19687	,000	-10,5377	-9,2223
80 µg/mL	-12,77000*	,19687	,000	-13,4277	-12,1123
90 µg/mL	-14,97000*	,19687	,000	-15,6277	-14,3123
100 µg/mL	-17,25000*	,19687	,000	-17,9077	-16,5923
DMSO 1%	7,12000*	,19687	,000	6,4623	7,7777
CLX 0,12%	-8,30000*	,19687	,000	-8,9577	-7,6423
10 µg/mL	,58000	,19687	,140	-,0777	1,2377
30 µg/mL	-,51000	,19687	,298	-1,1677	,1477
40 µg/mL	-2,19000*	,19687	,000	-2,8477	-1,5323
50 µg/mL	-4,68000*	,19687	,000	-5,3377	-4,0223
60 µg/mL	-7,44000*	,19687	,000	-8,0977	-6,7823
70 µg/mL	-9,30000*	,19687	,000	-9,9577	-8,6423
80 µg/mL	-12,19000*	,19687	,000	-12,8477	-11,5323
90 µg/mL	-14,39000*	,19687	,000	-15,0477	-13,7323
100 µg/mL	-16,67000*	,19687	,000	-17,3277	-16,0123
DMSO 1%	7,70000*	,19687	,000	7,0423	8,3577
CLX 0,12%	-7,72000*	,19687	,000	-8,3777	-7,0623
10 µg/mL	1,09000*	,19687	,000	,4323	1,7477
20 µg/mL	,51000	,19687	,298	-,1477	1,1677
40 µg/mL	-1,68000*	,19687	,000	-2,3377	-1,0223
50 µg/mL	-4,17000*	,19687	,000	-4,8277	-3,5123
60 µg/mL	-6,93000*	,19687	,000	-7,5877	-6,2723
70 µg/mL	-8,79000*	,19687	,000	-9,4477	-8,1323
80 µg/mL	-11,68000*	,19687	,000	-12,3377	-11,0223
90 µg/mL	-13,88000*	,19687	,000	-14,5377	-13,2223
100 µg/mL	-16,16000*	,19687	,000	-16,8177	-15,5023
DMSO 1%	8,21000*	,19687	,000	7,5523	8,8677
CLX 0,12%	-7,21000*	,19687	,000	-7,8677	-6,5523
10 µg/mL	2,77000*	,19687	,000	2,1123	3,4277
20 µg/mL	2,19000*	,19687	,000	1,5323	2,8477
30 µg/mL	1,68000*	,19687	,000	1,0223	2,3377
50 µg/mL	-2,49000*	,19687	,000	-3,1477	-1,8323
60 µg/mL	-5,25000*	,19687	,000	-5,9077	-4,5923
70 µg/mL	-7,11000*	,19687	,000	-7,7677	-6,4523
80 µg/mL	-10,00000*	,19687	,000	-10,6577	-9,3423
90 µg/mL	-12,20000*	,19687	,000	-12,8577	-11,5423
100 µg/mL	-14,48000*	,19687	,000	-15,1377	-13,8223
DMSO 1%	9,89000*	,19687	,000	9,2323	10,5477
CLX 0,12%	-5,53000*	,19687	,000	-6,1877	-4,8723
10 µg/mL	5,26000*	,19687	,000	4,6023	5,9177
20 µg/mL	4,68000*	,19687	,000	4,0223	5,3377
30 µg/mL	4,17000*	,19687	,000	3,5123	4,8277
40 µg/mL	2,49000*	,19687	,000	1,8323	3,1477
60 µg/mL	-2,76000*	,19687	,000	-3,4177	-2,1023
70 µg/mL	-4,62000*	,19687	,000	-5,2777	-3,9623
80 µg/mL	-7,51000*	,19687	,000	-8,1677	-6,8523
90 µg/mL	-9,71000*	,19687	,000	-10,3677	-9,0523
100 µg/mL	-11,99000*	,19687	,000	-12,6477	-11,3323
DMSO 1%	12,38000*	,19687	,000	11,7223	13,0377
CLX 0,12%	-3,04000*	,19687	,000	-3,6977	-2,3823
10 µg/mL	8,02000*	,19687	,000	7,3623	8,6777
20 µg/mL	7,44000*	,19687	,000	6,7823	8,0977
30 µg/mL	6,93000*	,19687	,000	6,2723	7,5877
40 µg/mL	5,25000*	,19687	,000	4,5923	5,9077
50 µg/mL	2,76000*	,19687	,000	2,1023	3,4177
70 µg/mL	-1,86000*	,19687	,000	-2,5177	-1,2023
80 µg/mL	-4,75000*	,19687	,000	-5,4077	-4,0923
90 µg/mL	-6,95000*	,19687	,000	-7,6077	-6,2923
100 µg/mL	-9,23000*	,19687	,000	-9,8877	-8,5723
DMSO 1%	15,14000*	,19687	,000	14,4823	15,7977
CLX 0,12%	-,28000	,19687	,957	-,9377	,3777
10 µg/mL	9,88000*	,19687	,000	9,2223	10,5377
20 µg/mL	9,30000*	,19687	,000	8,6423	9,9577

30 µg/mL	8,79000*	,19687	,000	8,1323	9,4477
40 µg/mL	7,11000*	,19687	,000	6,4523	7,7677
50 µg/mL	4,62000*	,19687	,000	3,9623	5,2777
60 µg/mL	1,86000*	,19687	,000	1,2023	2,5177
80 µg/mL	-2,89000*	,19687	,000	-3,5477	-2,2323
90 µg/mL	-5,09000*	,19687	,000	-5,7477	-4,4323
100 µg/mL	-7,37000*	,19687	,000	-8,0277	-6,7123
DMSO 1%	17,00000*	,19687	,000	16,3423	17,6577
CLX 0,12%	1,58000*	,19687	,000	,9223	2,2377
10 µg/mL	12,77000*	,19687	,000	12,1123	13,4277
20 µg/mL	12,19000*	,19687	,000	11,5323	12,8477
30 µg/mL	11,68000*	,19687	,000	11,0223	12,3377
40 µg/mL	10,00000*	,19687	,000	9,3423	10,6577
50 µg/mL	7,51000*	,19687	,000	6,8523	8,1677
60 µg/mL	4,75000*	,19687	,000	4,0923	5,4077
70 µg/mL	2,89000*	,19687	,000	2,2323	3,5477
90 µg/mL	-2,20000*	,19687	,000	-2,8577	-1,5423
100 µg/mL	-4,48000*	,19687	,000	-5,1377	-3,8223
DMSO 1%	19,89000*	,19687	,000	19,2323	20,5477
CLX 0,12%	4,47000*	,19687	,000	3,8123	5,1277
10 µg/mL	14,97000*	,19687	,000	14,3123	15,6277
20 µg/mL	14,39000*	,19687	,000	13,7323	15,0477
30 µg/mL	13,88000*	,19687	,000	13,2223	14,5377
40 µg/mL	12,20000*	,19687	,000	11,5423	12,8577
50 µg/mL	9,71000*	,19687	,000	9,0523	10,3677
60 µg/mL	6,95000*	,19687	,000	6,2923	7,6077
70 µg/mL	5,09000*	,19687	,000	4,4323	5,7477
80 µg/mL	2,20000*	,19687	,000	1,5423	2,8577
100 µg/mL	-2,28000*	,19687	,000	-2,9377	-1,6223
DMSO 1%	22,09000*	,19687	,000	21,4323	22,7477
CLX 0,12%	6,67000*	,19687	,000	6,0123	7,3277
10 µg/mL	17,25000*	,19687	,000	16,5923	17,9077
20 µg/mL	16,67000*	,19687	,000	16,0123	17,3277
30 µg/mL	16,16000*	,19687	,000	15,5023	16,8177
40 µg/mL	14,48000*	,19687	,000	13,8223	15,1377
50 µg/mL	11,99000*	,19687	,000	11,3323	12,6477
60 µg/mL	9,23000*	,19687	,000	8,5723	9,8877
70 µg/mL	7,37000*	,19687	,000	6,7123	8,0277
80 µg/mL	4,48000*	,19687	,000	3,8223	5,1377
90 µg/mL	2,28000*	,19687	,000	1,6223	2,9377
DMSO 1%	24,37000*	,19687	,000	23,7123	25,0277
CLX 0,12%	8,95000*	,19687	,000	8,2923	9,6077
10 µg/mL	-7,12000*	,19687	,000	-7,7777	-6,4623
20 µg/mL	-7,70000*	,19687	,000	-8,3577	-7,0423
30 µg/mL	-8,21000*	,19687	,000	-8,8677	-7,5523
40 µg/mL	-9,89000*	,19687	,000	-10,5477	-9,2323
50 µg/mL	-12,38000*	,19687	,000	-13,0377	-11,7223
60 µg/mL	-15,14000*	,19687	,000	-15,7977	-14,4823
70 µg/mL	-17,00000*	,19687	,000	-17,6577	-16,3423
80 µg/mL	-19,89000*	,19687	,000	-20,5477	-19,2323
90 µg/mL	-22,09000*	,19687	,000	-22,7477	-21,4323
100 µg/mL	-24,37000*	,19687	,000	-25,0277	-23,7123
CLX 0,12%	-15,42000*	,19687	,000	-16,0777	-14,7623
10 µg/mL	8,30000*	,19687	,000	7,6423	8,9577
20 µg/mL	7,72000*	,19687	,000	7,0623	8,3777
30 µg/mL	7,21000*	,19687	,000	6,5523	7,8677
40 µg/mL	5,53000*	,19687	,000	4,8723	6,1877
50 µg/mL	3,04000*	,19687	,000	2,3823	3,6977
60 µg/mL	,28000	,19687	,957	-,3777	,9377
70 µg/mL	-1,58000*	,19687	,000	-2,2377	-,9223
80 µg/mL	-4,47000*	,19687	,000	-5,1277	-3,8123
90 µg/mL	-6,67000*	,19687	,000	-7,3277	-6,0123
100 µg/mL	-8,95000*	,19687	,000	-9,6077	-8,2923

DMSO 1%	15,42000*	,19687	,000	14,7623	16,0777
---------	-----------	--------	------	---------	---------

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

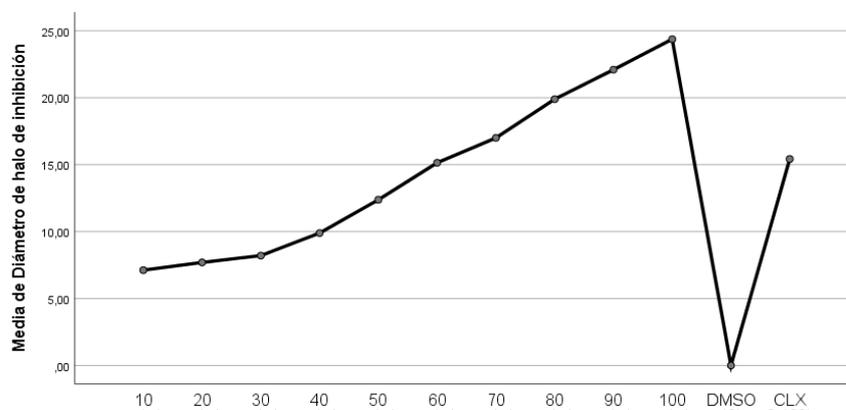
Subconjuntos homogéneos

		Diámetro de halo de inhibición											
Concentración extracto / Control		N	Subconjunto para alfa = 0.05										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
HSD Tukey ^a	DMSO 1%	10	0,00										
	10 µg/mL	10		7,12									
	20 µg/mL	10		7,70	7,70								
	30 µg/mL	10			8,21								
	40 µg/mL	10				9,89							
	50 µg/mL	10					12,38						
	60 µg/mL	10						15,14					
	CLX 0,12%	10							15,42				
	70 µg/mL	10								17,00			
	80 µg/mL	10									19,89		
	90 µg/mL	10										22,09	
	100 µg/mL	10											24,37
	Sig.		1,00	,140	,298	1,00	1,00	0,96	1,00	1,00	1,00	1,00	
Duncan ^a	DMSO 1%	10	0,00										
	10 µg/mL	10		7,12									
	20 µg/mL	10			7,70								
	30 µg/mL	10				8,21							
	40 µg/mL	10					9,89						
	50 µg/mL	10						12,38					
	60 µg/mL	10							15,14				
	CLX 0,12%	10								15,42			
	70 µg/mL	10									17,00		
	80 µg/mL	10										19,89	
	90 µg/mL	10											22,09
	100 µg/mL	10											
	Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,000	1,000	,158	1,00	1,00	1,00	1,00

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.

Gráficos de medias





Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, **Julieta Emperatriz Donayre Escriba**, 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 hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (molle) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175**"

de los autores **Alzamora Santos, Elva Sinthia**, constato que la investigación tiene un índice de similitud de **22%** 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, 03 de Octubre del 2021.

Apellidos y Nombres del Asesor: Donayre Escriba, Julieta Emperatriz	
DNI: 22093196	Firma 
ORCID: 0000-0001-6876-7804	