



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**“COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO  
DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Piper aduncum* (MATICO) EN  
MATERIA SECA Y FRESCA FRENTE AL *Streptococcus mutans*,  
PUNO - 2023”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. VILMA VERONICA HUARACCA VILCA**

**Bach. DINORHAM LEXMI ARCE SANTOS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL Piper aduncum (MATICO) EN**

AUTOR

**VILMA VERONICA HUARACCA VILCA DI  
NORHAM LEXMI ARCE SANTOS**

RECuento DE PALABRAS

**11668 Words**

RECuento DE CARACTERES

**61901 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**90 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**13.5MB**

FECHA DE ENTREGA

**Jun 17, 2024 2:06 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Jun 17, 2024 2:07 PM GMT-5**

### ● 16% de similitud general

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

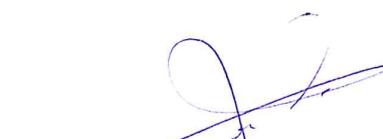
- 15% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 11% Base de datos de trabajos entregados
- 4% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



.....  
Dra. Sheyla J. Cervantes Alagón  
COP 17362



.....  
Dr. Henry Quespe Gut  
COP 21136  
ESPECIALISTA EN ORTODONCIA /  
ORTOPEDIA MAXILAR



## DEDICATORIAS

*A Dios por guiarme y acompañarme cada día, A mis padres Vicente y Basilia quienes son el pilar más importante, gracias al esfuerzo que hicieron para brindarme un mejor futuro, por darme educación y amor para hacer de mí una mejor persona.*

*A mis hermanos Jhon y Nancy por ser los guías que me motivan para cumplir mis metas, por sus consejos y apoyo en todo momento, a mi sobrino Jaden por su compañía e inocencia.*

**Vilma Veronica Huaracca Vilca**



## DEDICATORIA

*A Dios padre creador, por la vida, salud y cuidar cada paso que di.*

*A mis predilectos padres Olga y Andrés muy especialmente, por su paciencia, gran sacrificio y esfuerzo lograron mostrarme el camino a la superación.*

*A mis estimados hermanos Gerson, Renán y Yuber, por su ilimitado apoyo y motivación a no rendirme en los momentos difíciles.*

*A mis admirados abuelos que volaron alto, que me inculcaron los valores de la vida.*

**Dinorham Lexmi Arce Santos**



## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarnos y brindarnos paciencia y motivación y llegar a esta etapa de nuestras vidas y continuar en este proceso.

A la UNA-PUNO, nuestra alma mater, por brindarnos la ocasión de realizarnos profesionalmente.

A la EPO y a los docentes por guiarnos y brindarnos sus conocimientos a lo largo de la carrera.

También expresar nuestro agradecimiento a nuestra asesora Dra. Sheyla L. Cervantes A. por su paciencia y tiempo, por guiarnos en el avance de nuestra investigación.

Así mismo agradecemos a nuestros jurados por sus conocimientos, aportes y recomendaciones orientados a prosperar el trabajo de investigación.

Al Lic. Lorgio Palacios F. por su apoyo, paciencia y tiempo a lo largo de la ejecución de esta tesis.

**Vilma Veronica Huaracca Vilca**

**Dinorham Lexmi Arce Santos**



# ÍNDICE GENERAL

|   | Pág.      |
|---|-----------|
| <b>DEDICATORIAS</b>                                 |           |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>                              |           |
| <b>ÍNDICE GENERAL</b>                               |           |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                             |           |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>                            |           |
| <b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>                             |           |
| <b>ACRÓNIMOS</b>                                    |           |
| <b>RESUMEN .....</b>                                | <b>14</b> |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                | <b>15</b> |
| <b>CAPÍTULO I</b>                                   |           |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                                 |           |
| <b>1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>         | <b>17</b> |
| <b>1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....</b>          | <b>18</b> |
| 1.2.1. Problema general.....                        | 18        |
| 1.2.2. Problemas específicos .....                  | 18        |
| <b>1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....</b> | <b>19</b> |
| 1.3.1. Justificación teórica.....                   | 19        |
| 1.3.2. Justificación pragmática.....                | 19        |
| 1.3.3. Justificación metodológica.....              | 19        |
| <b>1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>     | <b>20</b> |
| 1.4.1. Hipótesis de investigación (H1) .....        | 20        |
| 1.4.2. Hipótesis nula (H0) .....                    | 20        |
| <b>1.5. OBJETIVOS.....</b>                          | <b>21</b> |



|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 1.5.1. Objetivo general .....     | 21 |
| 1.5.2. Objetivos específicos..... | 21 |

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

|  |           |
|--|-----------|
| <b>2.1. ANTECEDENTES .....</b>             | <b>22</b> |
| 2.1.1. Antecedentes internacionales .....  | 22        |
| 2.1.2. Antecedentes nacionales .....       | 23        |
| 2.1.3. Antecedentes locales .....          | 26        |
| <b>2.2. MARCO TEÓRICO .....</b>            | <b>26</b> |
| 2.2.1. Medicina tradicional.....           | 26        |
| 2.2.2. <i>Piper aduncum</i> (Matico) ..... | 27        |
| 2.2.2.1. Clasificación Taxonómica.....     | 28        |
| 2.2.2.2. Uso medicinal del Matico .....    | 28        |
| 2.2.2.3. Compuestos activos.....           | 29        |
| 2.2.3. Flavonoides .....                   | 30        |
| 2.2.4. <i>Streptococcus mutans</i> .....   | 30        |
| 2.2.4.1. Clasificación taxonómica .....    | 31        |
| 2.2.4.2. Factores de patogenicidad .....   | 32        |
| 2.2.5. Actividad antibacteriana.....       | 32        |
| 2.2.6. Clorhexidina .....                  | 33        |

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>3.1. UBICACIÓN GEOGRAFICA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b> | <b>34</b> |
| 3.1.1. Ámbito general.....                                | 34        |
| 3.1.2. Ámbito específico .....                            | 35        |



|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>3.2.</b>  | <b>PERIODO DE DURACIÓN .....</b>  | <b>35</b> |
| <b>3.3.</b>  | <b>TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....</b>   | <b>35</b> |
| <b>3.4.</b>  | <b>POBLACIÓN .....</b>  | <b>36</b> |
| <b>3.5.</b>  | <b>MUESTRA.....</b>   | <b>36</b> |
| <b>3.6.</b>  | <b>CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA .....</b>  | <b>36</b> |
|              | 3.6.1. Criterios de inclusión .....   | 36        |
|              | 3.6.2. Criterios de Exclusión .....   | 37        |
| <b>3.7.</b>  | <b>OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>3.8.</b>  | <b>TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....</b>   | <b>38</b> |
|              | 3.8.1. Técnicas.....  | 38        |
|              | 3.8.2. Procedimientos .....   | 38        |
|              | 3.8.2.1. Obtención del <i>Piper aduncum</i> .....   | 38        |
|              | 3.8.2.2. Selección del <i>Piper aduncum</i> .....   | 38        |
|              | 3.8.2.3. Obtención del extracto de <i>Piper aduncum</i> .....                                       | 39        |
|              | 3.8.2.4. Elaboración de las concentraciones con el extracto de <i>Piper</i><br><i>aduncum</i> ..... | 40        |
|              | 3.8.2.5. Preparación del medio de cultivo para aislamiento de <i>S. mutans</i><br>.....             | 41        |
|              | 3.8.2.6. Preparación del agar Mueller Hinton para la prueba de<br>sensibilidad antibacteriana ..... | 43        |
| <b>3.9.</b>  | <b>RECOLECCION DE DATOS .....</b>   | <b>45</b> |
| <b>3.10.</b> | <b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>   | <b>46</b> |
| <b>3.11.</b> | <b>CONSIDERACIONES ÉTICAS .....</b>   | <b>46</b> |



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| <b>4.1. RESULTADOS.....</b>     | <b>47</b> |
| <b>4.2. DISCUSIÓN .....</b>     | <b>53</b> |
| <b>V. CONCLUSIONES.....</b>     | <b>56</b> |
| <b>VI. RECOMENDACIONES.....</b> | <b>57</b> |
| <b>VII. REFERENCIAS .....</b>   | <b>58</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>              | <b>62</b> |

**Área:** Fitoterapia y microbiología bucal

**Línea:** Medicina y Patología Estomatológica

**Fecha de sustentación:** 19 de junio del 2024



## ÍNDICE DE TABLAS

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>Tabla 1.</b> Operacionalización de las variables.....   | 37          |
| <b>Tabla 2.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del <i>P. aduncum</i> en materia seca al 25, 50 y 100% sobre el <i>S. mutans</i> a las 24 y 48 hrs.....                                    | 47          |
| <b>Tabla 3.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del <i>P. aduncum</i> en materia fresca al 25, 50 y 100% sobre el <i>S. mutans</i> a 24 y 48 hrs. ....                                     | 49          |
| <b>Tabla 4.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos del <i>P. aduncum</i> en materia seca, materia fresca y el control positivo (clorhexidina al 0.12%) frente al <i>S. mutans</i> . .... | 51          |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>Figura 1.</b> Mapa del Perú .....   | 34          |
| <b>Figura 2.</b> Laboratorio de microbiología y parasitología.....   | 35          |
| <b>Figura 3.</b> Esquema de McFarland (imagen propia de investigadoras) .....  | 43          |
| <b>Figura 4.</b> Esquema de Kirby Bauer (imagen propia de investigadoras).....   | 45          |
| <b>Figura 5.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos de inhibición a concentraciones de 100, 50 y 25% de la aplicación del extracto etanólico del <i>P. aduncum</i> en materia seca sobre el <i>S. mutans</i> durante 24 y 48 hrs., mediante la Prueba de contraste Tukey. ....                                | 48          |
| <b>Figura 6.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos de inhibición a concentraciones de 100, 50 y 25% de la aplicación de extracto etanólico del <i>P. aduncum</i> en materia fresca sobre el <i>S. mutans</i> durante 24 y 48 hrs., mediante la Prueba de contraste Tukey.....                                | 50          |
| <b>Figura 7.</b> Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos inhibitorios a concentraciones de 100, 50 y 25% de los extractos etanólicos del <i>P. aduncum</i> de materia seca, materia fresca y control positivo sobre la bacteria <i>S. mutans</i> durante 24 y 48 hrs., mediante la prueba de contraste Duncan..... | 52          |



## ÍNDICE DE ANEXOS

|   | <b>Pág.</b> |
|---|-------------|
| <b>ANEXO 1.</b> Ficha de recolección de datos.....  | 63          |
| <b>ANEXO 2.</b> Solicitud de laboratorio de la FMH .....                                    | 65          |
| <b>ANEXO 3.</b> Constancia de identificación de especie .....                               | 66          |
| <b>ANEXO 4.</b> Constancia de ejecución .....   | 67          |
| <b>ANEXO 5.</b> Certificado de la cepa bacteriana.....                                      | 68          |
| <b>ANEXO 6.</b> Pruebas estadísticas .....  | 69          |
| <b>ANEXO 7.</b> Evidencias fotográficas.....  | 73          |
| <b>ANEXO 8.</b> Declaración jurada de autenticidad de tesis.....                            | 83          |
| <b>ANEXO 9.</b> Autorización para el deposito de tesis en el Repositorio Institucional..... | 85          |



## ACRÓNIMOS

|               |                                  |
|---------------|----------------------------------|
| <b>OMS:</b>   | Organización Mundial de la Salud |
| <b>SM:</b>    | <i>Streptococcus mutans</i>      |
| <b>CHX:</b>   | Clorhexidina                     |
| <b>FMH:</b>   | Facultad de Medicina Humana      |
| <b>DS:</b>    | Desviación Estándar              |
| <b>DMS:</b>   | Dimensión Media Significativa    |
| <b>C.V:</b>   | Coefficiente de Variabilidad     |
| <b>Gl:</b>    | Grado de Libertad                |
| <b>T:</b>     | Prueba t                         |
| <b>et al:</b> | y colaboradores                  |
| <b>P:</b>     | Probabilidad                     |



## RESUMEN

Objetivo: Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Piper aduncum* en materia seca y fresca frente al *S. mutans*, Puno – 2023. Metodología: El nivel de investigación fue explicativo y diseño experimental. Las cepas de *Streptococcus mutans* se procesaron por McFarland (dilución al 0.5 de turbidez). Los extractos se consiguieron por maceración en solución de etanol al 96% de pureza y filtración al vacío. La efectividad antibacteriana se determinó por Kirby Bauer, se cultivó 21 cajas Petri de 6 discos embebidos del extracto etanólico de *P. aduncum* seco y otros de *P. aduncum* fresco al 25, 50 y 100% y la CHX al 0.12% como grupo control (+), siendo un total de 126 discos; y la “Técnica de Observación Directa” para la evaluación de halos inhibitorios. Resultados: Se demostró que el mayor efecto antibacteriano lo registró el extracto etanólico de *P. aduncum* seco al 100% a las 24 hrs. con 16.63 mm de halo en comparación a las 48 hrs. con 16.29 mm. Para el extracto etanólico de *P. aduncum* fresco, la mayor efectividad antibacteriana lo registró al 100% a las 24 hrs. con 13.94 mm en comparación a las 48 hrs. con 13.54 mm, en ambos casos a mayor concentración mayor efecto antibacteriano. Al comparar los extractos etanólicos de *Piper aduncum* seco, fresco y el control positivo, se vio que la CHX mostró mayor efectividad antibacteriana con 16.86 mm. Conclusiones: Se determinó al comparar ambos extractos etanólicos del *Piper aduncum*, donde resultó mayor efecto antibacteriano en el extracto etanólico del *Piper aduncum* en materia seca frente al *Streptococcus mutans*. Por último, estadísticamente no es diferente entre el extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca y la clorhexidina al 0.12%.

**Palabras claves:** Efecto antibacteriano, Extracto etanólico, *Piper aduncum*, *Streptococcus mutans*.



## ABSTRACT

Objective: To compare in vitro the antibacterial effect of the ethanolic extract of *Piper aduncum* in dry and fresh matter against *S. mutans*, Puno - 2023. Methodology: The level of investigation was explanatory and experimental design. *Streptococcus mutans* strains were processed by McFarland (dilution to 0.5 turbidity). Extracts were obtained by maceration in 96% pure ethanol solution and vacuum filtration. The antibacterial effectiveness was determined by Kirby Bauer, 21 Petri dishes of 6 disks were cultured with the ethanolic extract of dry *P. aduncum* and others of fresh *P. aduncum* at 25, 50 and 100% and CHX at 0.12% as control group (+), being a total of 126 disks; and the "Direct Observation Technique" for the evaluation of inhibitory halos. Results: It was demonstrated that the highest antibacterial effect was registered by the ethanolic extract of dry *P. aduncum* at 100% at 24 hrs. with 16.63 mm of halo compared to 48 hrs. with 16.29 mm. For the ethanolic extract of fresh *P. aduncum*, the highest antibacterial effectiveness was recorded at 100% at 24 hrs. with 13.94 mm compared to 48 hrs. with 13.54 mm, in both cases the higher the concentration the higher the antibacterial effect. When comparing the ethanolic extracts of *Piper aduncum* dry, fresh and the positive control, it was seen that the CHX showed greater antibacterial effectiveness with 16.86 mm. Conclusion: It was determined by comparing both ethanolic extracts of *Piper aduncum*, where the ethanolic extract of *Piper aduncum* in dry matter had a greater antibacterial effect against *Streptococcus mutans*. Finally, there was no statistical difference between the ethanolic extract of *P. aduncum* in dry matter and 0.12% chlorhexidine.

**Keywords:** Antibacterial effect, Ethanolic extract, *Piper aduncum*, *Streptococcus mutans*.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

A comienzo de la época, las plantas han sido aprovechadas como medicación para tratar sus dolencias, posteriormente como matriz principal para la realización de fármacos (1). En el Perú, no estuvo al margen de ello, ya que siempre fue utilizado el arbusto y sus propiedades antimicrobianas con capacidad de combatir con agentes perniciosos como *Staphylococcus aureus*, *S. mutans* y *Porphyromonas gingivalis* (2).

En caso del *Piper aduncum*, es reconocido dentro de la medicina tradicional y destacó mucho más durante el COVID-19 debido a que se compartieron publicaciones en redes sociales asegurando que al consumir el *Piper aduncum* podría prevenir y posiblemente eliminar los síntomas. De ahí su importancia, en el 2020 inmersos en el COVID-19, la medicina tradicional que fue definida por la OMS como “el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, así como para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades físicas o mentales” (3).

Sus usos son para el tratamiento de resfríos, bronquitis, herpes, úlceras estomacales y estreñimiento también como cicatrizante, anticancerígeno, antidiarreico, antivenéreo. Dentro de sus propiedades terapéuticas más importantes encontradas para el *P. aduncum* es antibacteriano y antiparasitaria, la composición responsable de sus propiedades son los procedentes de flavonoides, sesquiterpenos, monoterpenos, compuestos heterocíclicos, fenilpropanoides, alcaloides y compuestos de benceno (4).

Por otra parte, el *S. mutans* se considera como principal iniciador de la caries dental a la falta de higiene, asimismo se contrae a través de un contacto salival entre



madre y niño o también al probar la comida con los cubiertos de los niños, que en su mayoría de esta transmisión se da a temprana edad (5).

Es por ello, que se buscó estudios comparando al *Piper aduncum* seco y fresco, lo que nos llevó a la inquietud de crear un soporte científico como alternativa de prevención principalmente contra el *S. mutans*; por medio de la elaboración a futuro de un enjuague bucal de *P. aduncum* en seco o fresco dependiendo del que presente mejor efecto antibacteriano, con accesibilidad tanto para su producción y al alcance de la población más vulnerable a causa de este microorganismo (6). En tal razón, la aspiración de la reciente tesis nos impulsa a realizar la comparación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos del *P. aduncum* de materia seca y materia fresca frente al *S. mutans*, a fin de plantear alternativas en la forma de uso de este arbusto para una mejor salud bucal.

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Según el informe del Ministerio de salud del 2019, el 90,4% de la población peruana tiene caries (2). Por lo que es menester de los profesionales estomatólogos, un enfoque integral del asunto implementando medidas preventivas y de fomento de la salud bucal, haciendo uso de recursos al alcance de las diferentes poblaciones respetando sus creencias tradiciones y folklore. La medicina tradicional es considerada un arbitrio sumamente necesario en el campo de la salud de los países subdesarrollados, pese a que los datos no sean claros para tasar el alcance de su uso global, se estima mundialmente que para el tratamiento de enfermedades, cerca del 80% de la colectividad tiene como principal aliado a la medicina ancestral (7).

En nuestro país se están realizando numerosos estudios sobre diversas plantas medicinales de conocido uso tradicional en busca de sus propiedades y sus principios



activos a fin de optimizar su uso en el control de la caries dentaria. Además, sus propiedades curativas son las antifúngicas y antibacterianas, de esta última, quien suministraría una fuente posible de prevención de caries dentaria (2).

En tal razón, resulta de interés realizar esta indagación, la cual pretende comparar in vitro la efectividad antibacteriana de los extractos etanólicos del *Piper aduncum* de materia seca y materia fresca frente al *Streptococcus mutans*, como inicio de una serie de investigaciones que nos permitan conocer a profundidad esta planta y posteriormente utilizarlo de manera idónea en la salud bucal.

## 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.2.1. Problema general

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Piper aduncum* de materia seca en comparación con el extracto etanólico del *Piper aduncum* fresco frente al *S. mutans*, Puno - 2023?

### 1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del extracto etanólico del *Piper aduncum* de materia seca al 25, 50 y 100% frente al *S. mutans* a las 24 y 48 hrs.?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del extracto etanólico del *Piper aduncum* de materia fresca al 25, 50 y 100% frente al *S. mutans* a las 24 y 48 hrs.?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos del *Piper aduncum* de materia seca, materia fresca en comparación con la clorhexidina frente al *S. mutans*?



## 1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.3.1. Justificación teórica

En la revisión bibliográfica realizada, si bien es cierto existen trabajos que sostienen la actividad antimicrobiana del *Piper aduncum* en estado seco sobre algunos microorganismos como *Porphyromona gingivalis*, *Candida albicans*, *Streptococcus sanguinis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, etc. Pero no encontramos uno que recomiende el uso favorable de éste en estado fresco o ambos, por tanto, el producto de la actual investigación engrosa la bibliografía del *Piper aduncum* para elegir mejor su forma de uso.

### 1.3.2. Justificación pragmática

El *Piper aduncum* en la actualidad es utilizado de manera indiferente, ya sea en estado fresco o seco, hay quienes necesitamos de este vegetal para aliviar alguna dolencia, su acceso está en la naturaleza del campo o también se encuentra a la venta en mercados generalmente en estado fresco, usando lo necesario y el resto es almacenado para posterior uso, el mismo que a un tiempo se deshidrata quedando la duda que si éste tendrá la misma eficiencia terapéutica. El presente trabajo de investigación, busca despejar esta duda, porque la base científica nos recomienda, en aceites o extractos del *Piper aduncum* en estado seco.

### 1.3.3. Justificación metodológica

El *Piper aduncum* para uso terapéutico se viene dando desde tiempos ancestrales, la cual se difunde de manera empírica en generaciones, basado en experiencias de chamanes y curanderos o simplemente en “la recomendación de la abuela”, en la actualidad estos tratamientos vienen cobrando gran relevancia y



sometidos al método científico para poder explicar su modo terapéutico. En el reciente trabajo de investigación se manejó mediante Kirby Bauer, método basado en el halo de inhibición, pueda establecer la mejor eficacia antimicrobiana de este producto y así mismo despejar la duda del uso en su forma fresca o seca, para que, de esa manera pueda ser utilizada tanto en casa o en la clínica odontológica, tener este producto dispensable y de uso inmediato como puede ser el extracto etanólico.

Asimismo, los estudios de la efectividad de estas plantas aportarían en la odontología preventiva al elaborar colutorios como alternativa para la población y más aún para la zona rural o de bajos recursos económicos por su costo accesible.

#### **1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN**

##### **1.4.1. Hipótesis de investigación (H1)**

- Existe diferencia en el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *P. aduncum* de materia seca en comparación in vitro con el extracto etanólico del *Piper aduncum* de materia fresca frente al *S. mutans*.

##### **1.4.2. Hipótesis nula (H0)**

- No existe diferencia en el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Piper aduncum* de materia seca en comparación in vitro con el extracto etanólico del *P. aduncum* de materia fresca frente al *S. mutans*.



## 1.5. OBJETIVOS

### 1.5.1. Objetivo general

- Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico del *P. aduncum* (Matico) de materia seca y fresca frente al *S. mutans*, Puno – 2023.

### 1.5.2. Objetivos específicos

- Comparar in vitro el efecto antibacteriano de extracto etanólico de *P. aduncum* de materia seca frente al *S. mutans*, a concentraciones de 25, 50 y 100% a las 24 y 48 hrs.
- Comparar in vitro el efecto antibacteriano de extracto etanólico de *P. aduncum* de materia fresca frente al *S. mutans*, a concentraciones de 25, 50 y 100% a las 24 y 48 hrs.
- Comparar in vitro los resultados del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de materia seca, materia fresca y control positivo (CHX al 0.12%) frente al *S. mutans*.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

##### 2.1.1. Antecedentes internacionales

**Martínez MP. (2018) Quito - Ecuador.** En su tesis de pregrado se determinó el efecto inhibitorio de extracto etanólico de *P. aduncum* (Matico), en concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a la cepa de *Porphyromona gingivalis*. Con agar Mueller Hinton se dio la muestra en 24 cajas de Petri, inoculadas con *P. gingivalis*, las que se colocaron 5 discos: el primero al 50% embebido en extracto de *P. aduncum*, el segundo al 75%, el tercero al 100% y un control (+) CHX al 0.12% y uno (-) suero fisiológico. El área inhibida se calibró mediante el método no paramétrico de Kruskal Wallis. Dando como resultado, a las 48 hrs. Efectividad inhibitoria de extracto etanólico de *P. aduncum* al 50% en relación a la *P. gingivalis* con 13 mm de halo, cotejando con el extracto de *P. aduncum* al 75% (8 mm) y 100% (9 mm) mostraron halos inhibitorios menores a 10 mm e inclusive semejantes al control (-) sin presentar resultado de inhibición. Se concluyó que al 50% el extracto etanólico de *P. aduncum* fue la mejor valorada para la efectividad inhibitoria de *P. gingivalis* (8).

**Fróes, C. et al. (2016) Brasil.** En su artículo se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de hojas de *P. aduncum* sobre el *S. mutans* y *S. sanguinis*. Para efectuar el procedimiento se obtuvieron el extracto etanólico por decocción, maceración, Soxhlet o turboextracción. Se estableció la CMI de los extractos con la técnica de micro dilución en caldo. Las respuestas mostraron en



el *S. mutans* y *sanguinis* la CMI fue 0.62 y 2.5 mg/ml para el extracto por decocción, 0.16 y 0.31 fue por maceración, 0.31 y 0.62 fue por Soxhlet y 0.31 y 1.25 por turboextracción respectivamente. Para el *S. sanguinis* las concentraciones mínimas inhibitorias fueron superiores a las encontradas para el *S. mutans*. Concluyendo que el *S. mutans* fue más sensible que el *S. sanguinis* a los extractos de *P. aduncum*, lo cual mostraron actividad antibacteriana (9).

### 2.1.2. Antecedentes nacionales

**García, D. et al. (2023) Lima.** En su tesis de pregrado tuvo como objetivo demostrar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *P. aduncum* L. sobre *S. mutans* ATCC 25175. La población estuvo conformada por 4 kg de *P. aduncum*, el extracto se consiguió por maceración y se utilizó el procedimiento de difusión en pozo para determinar el efecto inhibitorio sobre el *S. mutans*. En 15 placas de Petri se realizó un sembrado con agar Mueller Hinton con el inóculo obtenido de *S. mutans* y se efectuaron pocitos de 6 mm de 100 mg/ml, 75 mg/ml y 50 mg/ml. Donde se obtuvieron halos inhibitorios promedio de 15,41 mm al 100 mg/ml, al 75 mg/ml fue de 13,25 mm y de 11,79 mm a la concentración de 50 mg/ml; para el control (-) el halo fue de 6,30 mm (metanol) y para el control (+) fue de 24,62mm (Clorhexidina al 0.12%), donde este último presentó mayor efecto inhibitorio en comparación con los extractos del *P. aduncum*. Se concluyó que se consiguió demostrar la efectividad inhibitoria del extracto metanólico del *P. aduncum* L. sobre *S. mutans* (10)

**Rodríguez, S. et al. (2021) Huancayo.** En su tesis de pregrado se determinó el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *P. aduncum* "Matico" y *Thymus vulgaris* "Tomillo" sobre *Staphylococcus aureus* a las



concentraciones del 50% y 100%. Por el método de maceramiento, se utilizaron 4 kg para la elaboración del extracto de cada planta y para determinar su efectividad antibacteriana se empleó el procedimiento de difusión en pozo, donde los halos inhibitorios promedios de los extractos de Matico con etanol al 50% de concentración fueron de  $20,53 \pm 0,29$  mm y al 100% ( $22,66 \pm 0,24$  mm), mientras que los resultados al 50% y 100% de concentración fueron de  $21,39 \pm 0,35$  mm y  $25,33 \pm 0,27$  mm respectivamente para el extracto etanólico de Tomillo, de igual forma, el halo inhibitorio obtenido fue de  $6,01 \pm 0,28$  mm para el control negativo (etanol) y de  $32,50 \pm 0,33$  mm para el control positivo. Se concluyó que los extractos etanólicos a las concentraciones del 50% y 100% de *P. aduncum* y *Thymus vulgaris* muestran efectividad antibacteriana contra la bacteria *Staphylococcus aureus* (11).

**Bornaz, JG. et al. (2019) Tacna.** En su artículo estudió el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico al 40% de *P. aungustifolium* (Matico) sobre la cepa *Enterococcus faecalis*, en cuyo estudio realizaron una siembra de la cepa ATCC 29212 las cuales se usaron 24 muestras para cada grupo, la incubación fue a 37°C, se tomó medidas a las 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs. y 7 días. Se colocaron sensidiscos embebidos con matico, con un diámetro de 5 mm y 6 mm de profundidad se hizo 3 pozos y para el grupo control se usó al hidróxido de calcio. Como resultado, el halo inhibitorio a las 24 hrs. fue de 9,03 mm, a las 48 hrs un promedio de 9,35 mm, a las 72 hrs fue de 9,77 mm y al finalizar a los 7 días fue de 9,89 mm. De ello pudieron ver que los promedios de medición del halo de *P. aungustifolium* fueron menos al Ca (OH)<sub>2</sub> y con la ayuda de la prueba de T-student se pudo corroborar las diferencias significativas de las muestras a las 24 hrs, 72 hrs. y 7 días, excepto a las 48 hrs. ya que entre ambas sustancias no hubo



diferencia. Concluyendo que al 40% del extracto etanólico de *Piper aungustifolium* indicó mayor efecto antibacteriano sobre el desarrollo y crecimiento de *Enterococcus faecalis* (12).

**Graus RY. (2019) Trujillo.** En su tesis de pregrado se buscó comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *P. aduncum* frente a cepas de *S. mutans*, a concentraciones del 5% y 2.5%. La población estuvo conformada por *S. mutans*, mediante el procedimiento de Kirby Bauer se estimó la actividad contra la bacteria y los halos se midieron en milímetros. Por lo que sus resultados indicaron a las 48 hrs. que, la concentración al 5% fue de 11,68 mm y de 8,6 mm en la concentración de 2,5%, se indicó con la prueba de ANOVA la discrepancia estadística significativa en ambas muestras, es decir fue diferente. Se concluyó que al 5%, el extracto hidroalcohólico de *P. aduncum* tiene un mejor efecto contra la bacteria que el extracto al 2,5% de concentración frente al *S. mutans* (13).

**Mendoza M. (2019) Trujillo.** En su tesis de pregrado evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *P. aduncum* “Matico” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina. Se obtuvieron 4 diluciones al 100, 75, 50 y 25% y el control (-). Los resultados mostraron la zona inhibitoria del aceite esencial de *P. aduncum* de 13,70 mm a una dilución del 75% y la zona de inhibición a una dilución del 100% fue de 16,50 mm, pero es mayor al espacio inhibitorio del fármaco oxacilina de 30,60 mm. La prueba de ANOVA fue altamente significativa, así como la prueba de Tukey donde se determinó que eran iguales y la oxacilina fue el grupo con mayor halo inhibitorio continuado por el aceite esencial de matico al 100%, demostrando el halo inhibitorio aumentaba a mayor concentración. No se observó efecto antibacteriano a concentraciones del



50% y 25%. Concluyendo que posee efectividad antibacteriana el aceite esencial del *P. aduncum* contra el *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no supera el halo inhibitorio de la oxacilina (14).

### **2.1.3. Antecedentes locales**

No se hallaron antecedentes locales.

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. Medicina tradicional**

A comienzo de la época, las plantas han sido aprovechadas como medicación para tratar sus dolencias, posteriormente como matriz principal en la realización de fármacos. Son líderes las culturas orientales, hindúes y anglosajonas, en la “medicina tradicional” (1). De igual forma en nuestro país las culturas preincaicas no estuvieron al margen de la medicina tradicional, muy por el contrario, la medicina fue su mayor fortaleza, llegando a realizar trepanaciones craneanas, donde utilizaban arbustos para todo este proceso, tanto preoperatorio, operatorio y posoperatorio, llegando a conseguir osteointegración con metales preciosos y hasta la neoformación ósea (2).

La medicina tradicional ahora conocida como fitoterapia se define como la ciencia que llega a estudiar exclusivamente el uso de los productos vegetales, la misma que esta tiene como finalidad de ser terapéutica aliviando síntomas o previniendo enfermedades, es decir que la fitoterapia por medio de las plantas medicinales se proporciona el tratamiento (15). Según la OMS, a inicios de los años 90 mundialmente se identificó en la población un 80% usó los arbustos medicinales en alcance elemental. Asimismo, es considerable acentuar que



aproximadamente 7 mil fármacos nacen de discernimientos vegetales (1).

De ahí su importancia, en el 2020 inmersos en el COVID-19, definió la OMS a la medicina ancestral como “el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, así como para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades físicas o mentales”. El *Piper aduncum* es una planta reconocida dentro de la medicina tradicional y destacó mucho más durante del COVID-19 (3).

La característica de las plantas medicinales es proporcionar una variedad de ingredientes activos para el cuerpo humano, estos ingredientes son moléculas orgánicas, que generalmente son más fáciles de absorber (16). Además, con el descubrimiento que se da día a día a través de las diversas especies de plantas se llegan a descubrir efectos positivos de fármacos. Asimismo, la fitoterapia se relaciona estrechamente con la botánica que en la actualidad se basa en conocimientos farmacológicos. Como respuesta a la medicina iatrogénica, está resurgiendo el uso de la fitoterapia, que compone un recurso ancestral adaptado al propio medio cultural en países sub desarrollados, también para los sistemas de salud y las estructuras económicas de los países pobres (17).

### **2.2.2. *Piper aduncum* (Matico)**

Es una planta procedente de Argentina, Chile, Ecuador, Colombia y Perú, pero la especie de *Piper angustifolium* (*Piper aduncum*) se conoce como Matico y se encuentra en las selvas de Perú, principalmente en estado silvestre (3).

Esta planta pertenece a la familia *Piperaceae* considerada nativa del Perú, domesticada en costa, sierra y selva. Es así que, en la medicina ancestral es



conocida como cordoncillo, hierba del soldado o Matico que cuenta con sus muchas propiedades que promueven la salud: antibacteriana, antifúngica, antiviral, citotóxica y parasiticida (4).

Es considerada una planta medicinal, que crece a una elevación de 3 a 5 metros (18), por lo que tiene hojas grandes (19), esta planta contiene compuestos bioactivos, terpenos, flavonoides y alcaloides que tiene propiedades medicinales, los extractos de Matico se utilizan en la medicina herbal, la industria y la perfumería (20).

#### **2.2.2.1. Clasificación Taxonómica**

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Piperales*

Familia: *Piperaceae*

Género: *Piper*

Especie: *Piper Aduncum L* (21).

#### **2.2.2.2. Uso medicinal del Matico**

En la medicina tradicional peruana es usado como decocción en la limpieza de heridas expuestas. Asu vez fue usado como cicatrizante, anticancerígeno, antidiarreico, antivenéreo y tratamientos de resfríos, bronquitis, herpes, úlceras estomacales y estreñimiento (4).

Dentro de sus propiedades terapéuticas más importantes encontradas para el Matico es antibacteriano y antiparasitaria. La



composición responsable de su propiedad antibacteriana son los procedentes de ácido benzoico, fenilpropanoides, y chalconas (4). Pero no sólo eso, también ayuda en la lucha contra enfermedades provocadas por parásitos. Así, la sustancia denominada chalcona, extraída del Matico, podría curar la enfermedad tropical leishmaniasis, infección generadora de úlceras graves en la piel y las mucosas; pero también, puede luchar contra el parásito que ocasiona la esquistosomiasis, un padecimiento de origen tropical producida por lombrices parasitarias de agua dulce y que sin lugar a duda afecta al hígado, y otros órganos (22).

Por otro lado, el Matico puede curar afectaciones gastrointestinales. Por ejemplo, los Shipibo-Konibo, pueblo originario amazónico, utilizan la planta como infusión para tratar inflamaciones, gastritis, vómitos, diarreas, fiebre, infecciones internas, cólicos menstruales y como tónico posparto. Pero también ha sido utilizada para curar enfermedades respiratorias, ya que el Matico ayuda a desinflamar y desinfectar áreas como la boca, el esófago y la garganta. De esa manera, el Matico ha sido utilizado de manera ancestral como antiinflamatorio y descongestionante de los bronquios (23).

### **2.2.2.3. Compuestos activos**

La composición de Matico tales como flavonoides, sesquiterpenos, monoterpenos, compuestos heterocíclicos, fenilpropanoides, alcaloides y compuestos de benceno. Contiene también taninos (5,7%), además de alcaloides y diversos glucósidos, especialmente flavonoides (4). Se ha demostrado que la planta tiene actividad antibacteriana de amplio espectro,



por ello en el tratamiento de enfermedades infecciosas logra ayudar en explicar su historia de uso. En diversos estudios, mostraron actividad antimicrobiana frente a una variedad de bacterias grampositivas y gramnegativas, extraídos de los aceites esenciales de las hojas o frutos (13).

### **2.2.3. Flavonoides**

Se localizan los flavonoides en todos los arbustos verdes naturales, no es tóxico y presentan actividad antioxidante, siendo usado como antiinflamatorio, convirtiéndole en el principio activo contra distintas enfermedades. Las flavonas mostraron efectos antibacterianos en concentraciones altas donde podrían presentar efecto similar a los antibióticos, también usadas en aftas bucales, lesiones de la encía y después de una pieza dentaria extraída (9).

Los extractos de las hojas del *P. aduncum* intervienen en el desarrollo, sacarosa - celular que son dependientes de acidogenicidad y adherencia a la bacteria del *S. mutans*. Por lo que, uno de los muchos desafíos en salud de la boca es inhibir la proliferación de *S. mutans*, sugieren que el Matico en odontología posee un potencial para una mejor explotación (13).

### **2.2.4. Streptococcus mutans**

Los Streptococos son bacterias con forma de cocos que crecen en cadenas o pares, no se mueven, no forman esporas y suelen ser positivas en la tinción de Gram. *Streptococcus mutans* se le denomina por su tendencia a modificar su forma, hallándolos en forma de cocos o alargados como bacilos (24).



Es considerada como el microorganismo principal que esta sobre la caries dental, la misma que contrae a través de un contacto salival entre madre y niño o también al probar la comida con los cubiertos de los niños, que en su mayoría de esta transmisión se da a temprana edad. El *Streptococcus mutans*, está considerado como un coco Gram +, y asimismo es el que produce ácido láctico, por cambiar el pH (de 7 a 4.2) en 24 hrs. También produce glucosa, rafinosa, lactosa, entre otros (5).

#### 2.2.4.1. Clasificación taxonómica

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Lactobacillales*

Familia: *Streptococcaceae*

Género: *Streptococcus*

Especie: *S. mutans* (25).



#### **2.2.4.2. Factores de patogenicidad**

Los *Streptococcus mutans* tienen fuertes capacidades acidogénicas, acidófilas y aciduricos; también es el sintetizador de polisacáridos extracelulares como glicanos y fructanos solubles e insolubles. Su deber es sintetizar polisacáridos extracelulares; tienen capacidades adhesivas, especialmente en proteínas salivales, ya que promueven la adherencia a la estructura dentaria como a los materiales restauradores sin presencia del glicano, y están controladas por las capacidades de agregación y coagregación de las proteínas de deformación y las glicosiltransferasas. También es responsable de la producción de bacteriocinas en diversas bacterias bucales. Debido a la sacarosa presente en los residuos de alimentos, eventualmente sintetizan el glucano insoluble a través de la glicosiltransferasa, lo que contribuye a la formación de biopelícula dental (26).

#### **2.2.5. Actividad antibacteriana**

Los agentes antimicrobianos son compuestos de un principio sintético o natural capaces de la inhibición del crecimiento de microorganismos o eliminarlos. Estos compuestos salvaron muchas vidas al permitir que las personas respondieran mejor a las afecciones infecciosas, las cuales en el siglo XX fueron los causantes principales de muerte en todo el orbe. Sin embargo, posterior de su uso en la práctica clínica se empezó a observar la aparición de microorganismos que eran capaces de resistir sus efectos, naciendo el concepto de resistencia bacteriana (27).



La aparición de resistencia a los antimicrobianos se asocia a varias causas, entre las que podemos mencionar: prescripción médica inadecuada (para prevención, tratamiento de infecciones virales), uso no correcto de antibióticos por los pacientes (tratamiento incompleto o dosis insuficientes), automedicación y aumento de uso de drogas. intercambio de comunidades bacterianas (aumento de viajes intercontinentales) que promueve la propagación de genes de resistencia (28).

#### **2.2.6. Clorhexidina**

La clorhexidina en concentraciones bajas muestra una acción bacteriostática y una acción bactericida en concentraciones altas. Los microorganismos propensos son *Staphylococcus*, *S. mutans*, *S. salivarius* y *S. coli*. Además, la CHX presenta efecto inhibitorio del biofilm bacteriano in vitro a *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *S. mutans* y *S. Sanguinis*. Es un eficaz antimicrobiano, muestra entre 5.5 a 7 de pH. Manifiesta el Ph, actividad sobre diferentes bacterias, un pH activo de 5 a 8 contra bacterias Gram (+) y (-), asimismo, la acción en bacterias aerobias y anaerobias del biofilm bacteriano presenta una efectividad de hasta 97% (13).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN.

##### 3.1.1. *Ámbito general*

Puno tiene como ubicación al sureste del Perú, a la ribera del lago Titicaca, se encuentra entre los 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y entre los 71°06'57" y 68° del meridiano de Greenwich, de longitud oeste 48'46" y una superficie de 71.999,0 km<sup>2</sup>, es la quinta región administrativa más extenso del país. En el norte se localiza el departamento de Madre de Dios, y al sur la región de Tacna y el país de Bolivia. Al oeste se localizan los departamentos de Cusco, Arequipa y Moquegua.

#### Figura 1.

*Mapa del Perú*



**Nota:** <https://www.viajaraperu.com/mapa-de-peru/>

### 3.1.2. **Ámbito específico**

Se efectuó en la FMH, el laboratorio de Microbiología y Parasitología, de la UNA-Puno ubicado entre los 15°49'35" de latitud sur y entre los 70°01'3" de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

#### **Figura 2.**

*Laboratorio de microbiología y parasitología*



### 3.2. **PERIODO DE DURACIÓN**

Se realizó en un espacio de tres meses.

### 3.3. **TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

- **Según el nivel de investigación:** Es explicativo, ya que permite explicar el comportamiento de una variable en función de otra, siendo un estudio causa y efecto (29).
- **Según el diseño de estudio:** Es experimental, porque se manipulará de forma premeditada el manejo de las variables independientes (29).



- **Según la cronología de las observaciones:** Prospectivo debido a que se registrará información según el contexto que se vaya suscitando (29).
- **Según el número de mediciones:** Longitudinal por el tiempo en el que se dará el tratamiento (29).

### 3.4. POBLACIÓN

Se conformó por cajas Petri con cultivos de cepas aislada de *S. mutans*, adquirido por el laboratorio de Microbiología, de la FMH - UNAP.

### 3.5. MUESTRA

Según el tipo de muestreo es no probabilístico por conveniencia, de acuerdo a criterios de inclusión y exclusión, se procedió a cultivar la cepa de *S. mutans* en 21 cajas Petri en 6 pozos, distribuidos cada pozo con un disco de sensibilidad lo que resultó 126 repeticiones, dividiéndose en 2 grupos de estudio, los extractos etanólicos de *Piper aduncum* seco y *Piper aduncum* fresco, con las concentraciones de 25, 50 y 100% y un control (+) de CHX al 0.12%, con un total de 18 discos y 6 pozos por placa Petri.

### 3.6. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA

#### 3.6.1. Criterios de inclusión

- Cajas de Petri con una apropiada siembra de *S. mutans*. Debidamente verificadas.
- Placas no contaminadas luego de la incubación, después de 24 hrs. previo al control de calidad.
- Cajas que se observaron los halos inhibitorios en condiciones favorables luego del proceso de incubación.
- Extracto de hojas de *Piper aduncum* seco al 100%, 50% y 25%

esterilizado.

- Extracto de hoja de *Piper aduncum* fresco al 100%, 50% y 25% esterilizado.

### 3.6.2. Criterios de Exclusión

- Cajas de Petri inoculadas con *S. mutans*, las cuales pudieron sufrir una alteración y/o contaminación por una mala maniobra por parte del operador.
- Extractos etanólicos de *P. aduncum* seco y *P. aduncum* fresco en concentraciones diferentes a las especificadas.

## 3.7. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

“Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *Piper aduncum* (Matico) en materia seca y fresca frente al *Streptococcus mutans*, Puno - 2023”.

**Tabla 1.**

*Operacionalización de las variables*

| Variable  | Definición   | Indicador  | Subindicador  | Escala de Medición |
|---|--|--|---|--------------------|
| <b>Independiente</b><br><b>Extracto etanólico de <i>P. aduncum</i> seco</b>   | El Matico es una planta medicinal, crece a una elevación de 3 a 5 metros (18), por lo que tiene hojas grandes, también conocida como la hierba de soldado perteneciente a la familia piperácea (19).   | Concentraciones  | 100%<br>50%<br>25%  | Ordinal            |
| <b>Independiente</b><br><b>Extracto etanólico de <i>P. aduncum</i> fresco</b> | <i>Streptococcus mutans</i><br>Bacteria anaerobia grampositiva, sustancia facultativa que normalmente está presente en boca como parte de la biopelícula dental. Esta enfermedad tiene mayor impacto en el inicio y progresión de la caries dentaria (26). | Diámetros de halo de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> | Escala de Duraffourd.<br>Nula < 8mm.<br>Sensible ≥ 9mm-14mm.<br>Muy sensible ≥ 15- 19mm.<br>Sumamente sensible ≥ 20mm | De razón           |



## 3.8. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

### 3.8.1. Técnicas

A través del método de observación directa, se determinó los halos inhibitorios generados por el extracto etanólico de *Piper aduncum* de hojas secas y frescas al 100%, 50% y 25% de concentración, como control (+) fue la CHX al 0,12% contra *S. mutans* durante las 24 hrs. y 48 hrs; estos datos se registraron en ambos periodos en un formulario de recolección de datos.

### 3.8.2. Procedimientos

#### 3.8.2.1. Obtención del *Piper aduncum*

El *Piper aduncum* se adquirió de la provincia de Sandía, distrito San Juan del Oro, región de Puno en una cantidad de 5 kg. Fue transportada al Laboratorio de Microbiología de la UNA-Puno, en bolsas de papel marrón, seleccionado en la F.M.H.

#### 3.8.2.2. Selección del *Piper aduncum*

##### - *Piper aduncum* seco

Se seleccionó las hojas de *Piper aduncum* que tengan sus características morfológicas en buen estado, donde se eliminó las hojas en mal estado, las hojas elegidas fueron lavadas con agua y después con agua destilada. Para empezar a deshidratar las hojas de *P. aduncum*, se llevó a la estufa a 60 °C por 24 horas, en una cantidad de 2 kilos, posteriormente fueron cortadas en trozos irregulares de 4 a 5 mm aproximadamente.



- ***Piper aduncum* fresco**

Se escogió las hojas de *Piper aduncum* fresco mejor conservadas y se retiró las hojas en mal estado, luego fueron lavadas con agua y después se enjuagó con agua desmineralizada, posteriormente fueron partidas en trozos irregulares de 4 a 5 mm aproximadamente.

**3.8.2.3. Obtención del extracto de *Piper aduncum***

- **Extracto etanólico de *Piper aduncum* seco**

El extracto se adquirió efectuándolo en la F.M.H. Laboratorio de Microbiología de la UNA-Puno. Los trozos irregulares de *Piper aduncum* seco se envolvieron en papel aluminio para esterilizar a calor seco en 150°C por 15 min. Paso seguido, se machacaron usando un mortero, consiguiendo 100 gr. de *Piper aduncum* seco en polvo; se dispuso en papel aluminio para volver a esterilizar por 5 minutos, en una probeta se midió 600 ml de etanol al 96% y junto con el *Piper aduncum* seco en polvo se depositó y disolvió en el matraz de Erlenmeyer (Proporción de 1:6), después se realizó la filtración. En la cual la solución preparada se dejó macerar por 5 días, seguidamente se centrifugó a 3000 rpm en 30 minutos, luego se dejó durante 7 días macerar, finalmente para apresurar la velocidad del filtrado se hizo la filtración al vacío.

- **Extracto etanólico de *Piper aduncum* fresco**

Para obtener el extracto se realizó en la F.M.H. Laboratorio de Microbiología de la UNA-Puno. Las hojas ya cortadas en trozos de *Piper aduncum* fresco luego del lavado, se pusieron en papel aluminio para



esterilizar a 150°C en 15 min, se secaron a temperatura ambiente, seguidamente los trozos de hojas del *P. aduncum* fueron triturados usando un mortero, obteniendo 100 gr. de *Piper aduncum fresco* molido y disuelta en 600 ml de etanol puro al 96% en matraz de Erlenmeyer (Proporción de 1:6). Después a 3000 rpm se agitó por 30 min, se dejó macerando durante 7 días a temperatura ambiente. Mediante la técnica con filtración al vacío se consiguió el extracto etanólico de *Piper aduncum* fresco.

#### **3.8.2.4. Elaboración de las concentraciones con el extracto de *Piper aduncum***

Las diferentes concentraciones de los extractos etanólicos se disolvieron en alcohol etílico absoluto.

- ***Piper aduncum* seco en concentraciones de 100%, 50% y 25%**
  - Para lograr el **100%** de concentración se usó la pureza del extracto en un volumen de 10 ml.
  - Para el **50%** de concentración solo se utilizó 5ml del extracto (Matico Seco) junto a 5 ml de alcohol etílico absoluto.
  - Para el **25%** de concentración se utilizó 2.5ml del extracto (Matico Seco) junto a 7.5 ml de alcohol etílico absoluto.
- ***Piper aduncum* fresco en concentraciones de 100%, 50% y 25%**
  - Para lograr el **100%** de concentración se usó la pureza del extracto en un volumen de 10 ml.
  - Para el **50%** de concentración solo se utilizó 5ml del extracto (Matico fresco) junto a 5 ml de alcohol etílico absoluto.
  - Para el **25%** de concentración se utilizó 2.5ml del extracto (Matico



fresco) junto a 7.5 ml de alcohol étílico absoluto.

### 3.8.2.5. Preparación del medio de cultivo para aislamiento de *S. mutans*

- En esta investigación, además se recurrió al laboratorio GenLab del Perú SAC, quien estuvo a cargo de la importación de las bacterias, procedente de cultivos estandarizados (CEPA ATCC 25175) las cuales le brindamos las especificaciones de *Streptococcus mutans*, para recibir las cepas (Microbiologics, Minnesota, USA, importadas por Genlab del Perú SAC) (30).
- Seguimos como primer paso las sugerencias del laboratorio, después de recibirlas a  $-2^{\circ}\text{C}$  se guardaron antes de su activación, la bacteria se activó metabólicamente a partir del método de conservación realizando el sembrado en un medio rico. Con 5% de sangre de cordero se usó agar sangre para el primer sembrado, el cual se aisló en agar tripticasa de soya, el segundo sembrado se realizó de acuerdo con los requerimientos nutricionales de la bacteria en agar sangre; se incubaron durante 24 hrs. a  $37^{\circ}\text{C}$  y algunas de ellas en atmósfera de  $\text{CO}_2$  al 5 %.
- Siguiendo como segundo paso, los procedimientos de bioseguridad para evitar la contaminación bacteriana, se añadió la cepa (CEPA ATCC 25175) de *Streptococcus mutans* al contenido de los tubos que contenían una solución tampón proporcionada por el laboratorio Microbiologics, Minnesota, EE.UU., con el fin de activar las bacterias.



## - **Preparación del caldo nutritivo para la replicación**

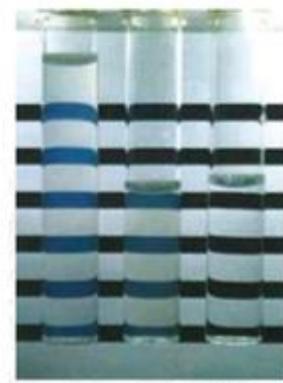
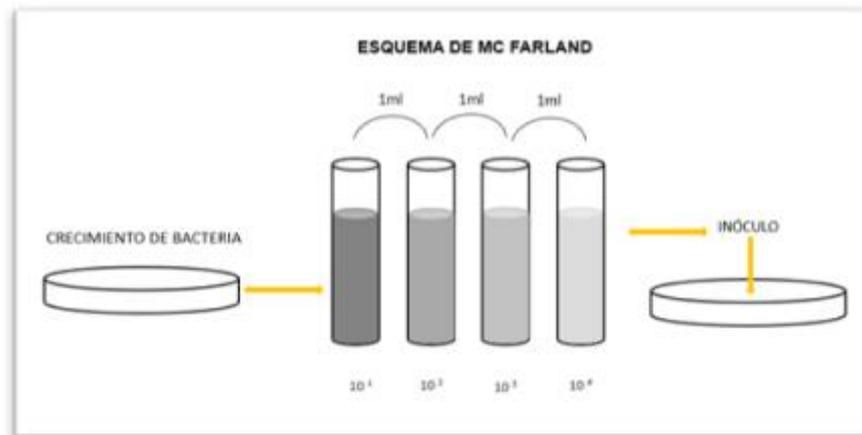
Se acondicionó para su crecimiento bacteriano el caldo nutritivo de tripticasa de soya, y se almacenó la cepa con características morfológicas de *Streptococcus mutans*. La preparación se hizo según las indicaciones de la empresa para ser cultivados en agar tripticasa de soya, las bacterias se aislaron y se incubaron en tubos de ensayo a 37°C durante 24 hrs. con solución nutritiva para la inoculación en el agar Mueller Hinton.

### **a) Para la obtención de resultados de McFarland se empleó:**

Los estándares de McFarland son patrones de turbidez basados en suspensión de la cepa bacteriana. La escala de McFarland consta de patrones hasta llegar al 0,5 de turbidez (según la escala de McFarland). Para estimar la turbidez bacteriana que se encuentra en suspensión, se comparó visualmente con la escala para determinar su turbidez, utilizando un fondo de contraste (31).

**Figura 3.**

*Esquema de McFarland (imagen propia de investigadoras)*



### 3.8.2.6. Preparación del agar Mueller Hinton para la prueba de sensibilidad antibacteriana

Se preparó según las concentraciones del soluto con el solvente del agar Mueller Hinton por medio de las sugerencias del fabricante que es de 25 g por un litro de agua destilada estéril, donde se puso a hervir hasta conseguir su ebullición de la solución, para la esterilización durante 15 min a 121 °C en autoclave, a temperatura ambiente se dejó enfriar y se plaquearon en 21 cajas de Petri nuevamente se dejó por 10 min. temperatura ambiente para conseguir su gelificación. Después de la



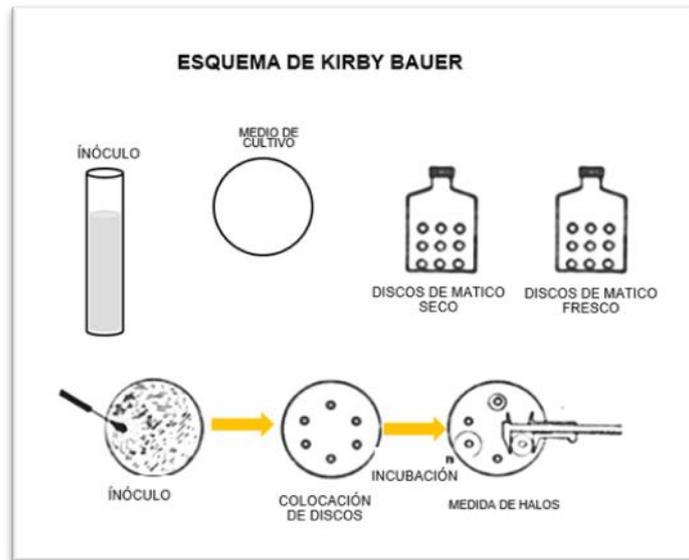
gelificación, las cepas se cultivaron utilizando un método de agotamiento para lograr una distribución uniforme que se extiende en tres direcciones; después de la siembra del inóculo se esperó 10 min, para luego utilizar el método de Kirby Bauer. Primeramente, se hizo los pocillos en una distribución equidistante, se introdujo el disco de sensibilidad estéril en los pocillos, un total de 6 discos por pocillo en la caja de Petri. La distancia mínima entre los agujeros fue de 20 mm (diámetro del disco 6 mm según normas INS), distribuidos en las cajas por 6 repeticiones para 25%, 50% y 100%. Luego se aplicó el extracto etanólico de *P. aduncum* tanto de materia seca como de materia fresca en un volumen de 10  $\mu$ l, lo mismo se efectuó con CHX al 0,12% para el control positivo (+).

#### **a) Método de difusión en disco de Kirby-Bauer**

Para microorganismos con proliferación apresurada, es apropiado el método de difusión de disco “Kirby-Bauer” es apropiado. Este procedimiento se basa en ocupar con la aplicación del extracto etanólico del *P. aduncum* seco y fresco sobre el pocillo con el disco de sensibilidad, en el agar con el sembrado del inóculo de la bacteria de *S. mutans*. Después de la incubación, en la incubadora de CO<sub>2</sub> a las 24 y 48 hrs. a una temperatura de 37 °C se observó el efecto antibacteriano midiendo el diámetro en mm del halo de inhibición (31).

**Figura 4.**

*Esquema de Kirby Bauer (imagen propia de investigadoras)*



### 3.9. RECOLECCION DE DATOS

Los datos contemplados se registraron a las 24 y 48 hrs. en una ficha de recolección de datos. Se usó un vernier, viendo el aumento de los halos en un lugar con buena iluminación artificial.

- Según la escala de Durafford se evaluó la actividad inhibitoria:
  - Nula  $< 8\text{mm}$ .
  - Sensible  $\geq 9\text{mm}-14\text{mm}$ .
  - Muy sensible  $\geq 15-19\text{mm}$ .
  - Sumamente sensible  $\geq 20\text{mm}$ .
- Para el análisis de los datos se empleó en la computadora el programa Excel 15 (Excel 2013) y el paquete estadístico SPSS versión 22 para el procesamiento y comparación.



### **3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico de datos, se usó la prueba de T para ver su distribución y dispersión; para la prueba de significancia se usó la prueba estadística de ANDEVA y para la comparación se utilizó la prueba estadística de TUKEY y DUNCAN.

### **3.11. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

- Solicitud dirigida al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAP.  
(Anexo B)
- Constancia de ejecución del proyecto de investigación. (Anexo D)
- Identificación de especie - constancia. (Anexo C)
- Certificado de la cepa. (Anexo E)

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. RESULTADOS

**Tabla 2.**

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca al 25, 50 y 100% sobre el *S. mutans* a las 24 y 48 hrs.*

| Tiempo              | 24 HORAS                      |          |          | 48 HORAS |          |          |          |
|---------------------|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                     | ESTADISTICO DE LA PRUEBA DE t | 25%      | 50%      | 100%     | 25%      | 50%      | 100%     |
| Promedio            |                               | 15.31 mm | 15.51 mm | 16.63 mm | 14.82 mm | 15.08 mm | 16.29 mm |
| Desviación Estándar |                               | ± 0.47   | ± 0.39   | ± 0.47   | ± 0.50   | ± 0.42   | ± 0.50   |
| Límite Inferior     |                               | 15.08 mm | 15.32 mm | 16.40 mm | 14.57 mm | 14.87 mm | 16.04 mm |
| Límite Superior     |                               | 15.55 mm | 15.70 mm | 16.87 mm | 15.07 mm | 15.29 mm | 16.54 mm |
| T CALCULADA         |                               | 137.44   | 169.00   | 150.86   | 125.80   | 152.50   | 138.74   |
| Probabilidad        |                               | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 |

\*Prueba t

| Tiempo                       | 24 HORAS      |       |       | 48 HORAS |       |       |       |
|------------------------------|---------------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|
|                              | Concentración | 25%   | 50%   | 100%     | 25%   | 50%   | 100%  |
| Promedio (mm)                |               | 15.31 | 15.51 | 16.63    | 14.82 | 15.08 | 16.29 |
| Porcentaje de inhibición (%) |               | 92.06 | 93.26 | 100      | 89.11 | 90.67 | 97.95 |

**Nota:** Elaborado por las investigadoras según la base de datos.

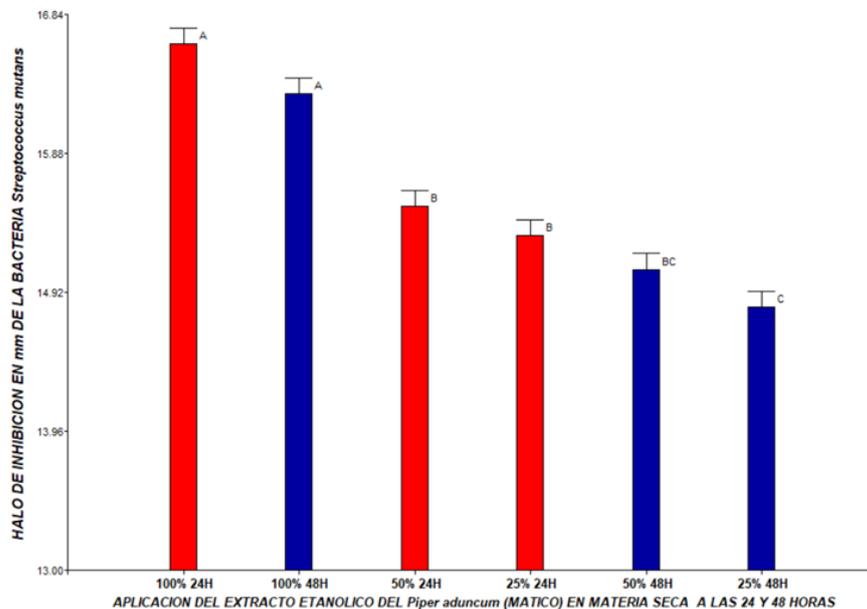
#### • Interpretación

Se analiza los promedios en la tabla 2 a las 24 y 48 hrs. del efecto inhibitor, donde se encontró mayor efectividad antibacteriana a las 24 horas en sus diferentes concentraciones, lo que mostró que a un menor tiempo mejor es el efecto inhibitor; no obstante, se observó que el mejor efecto antibacteriano se dio al 100% de concentración durante 24 hrs. Por tanto, afirmamos que, a menor tiempo y a mayor concentración, se da

mejor actividad inhibitoria. En cuanto al mayor porcentaje de inhibición se dio a las 24 hrs. a una concentración del 100%, y seguido con la misma concentración a las 48 hrs. con 97.95%, siendo de 2.05% la diferencia porcentual, observando los porcentajes entre las 24 y 48 hrs.

### Figura 5.

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos de inhibición a concentraciones de 100, 50 y 25% de la aplicación del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca sobre el *S. mutans* durante 24 y 48 hrs., mediante la Prueba de contraste Tukey.*



**Nota:** Elaborado por las investigadoras según la base de datos.

#### • Interpretación

Se observa los resultados en la figura 5, en la prueba estadística “ANDEVA” del análisis de datos con la aplicación del extracto etanólico del *P. aduncum* seco, con la  $F_{\text{calculado}}$  superior a la  $F_{\text{tabular}}$ , lo que demostraría una diferencia significativa entre el extracto etanólico del *P. aduncum* de materia seca al 100, 50 y 25% de concentración

contra el *S. mutans* durante 24 y 48 hrs, siendo 2.95 el CV y de 0.05 la probabilidad  $\alpha$ . Por lo cual fue sometido a la prueba estadística de Tukey de contraste de promedios que se muestra a través del esquema de barras, Tukey  $\alpha = 0.05$ , la DMS = 0.44503 y  $gl = 102$ , lo cual mostró el mayor efecto antibacteriano al 100% de concentración durante las 24 hrs.

**Tabla 3.**

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico del P. aduncum en materia fresca al 25, 50 y 100% sobre el S. mutans a 24 y 48 hrs.*

| Tiempo<br>ESTADISTICO DE<br>LA PRUEBA DE t | 24 HORAS |          |          | 48 HORAS |          |          |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|  | 25%      | 50%      | 100%     | 25%      | 50%      | 100%     |
| <b>Promedio</b>                            | 9.87 mm  | 11.27 mm | 13.94 mm | 9.49 mm  | 10.67 mm | 13.54 mm |
| <b>Desviación<br/>Estándar</b>             | ± 0.21   | ± 0.30   | ± 0.38   | ± 0.17   | ± 0.39   | ± 0.31   |
| <b>Límite Inferior</b>                     | 9.76 mm  | 11.12 mm | 13.76 mm | 9.40 mm  | 10.48 mm | 13.39 mm |
| <b>Límite Superior</b>                     | 9.97 mm  | 11.42 mm | 14.13 mm | 9.57 mm  | 10.87 mm | 13.70 mm |
| <b>T CALCULADA</b>                         | 197.98   | 159.86   | 156.02   | 235.27   | 116.31   | 182.55   |
| <b>Probabilidad</b>                        | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 | < 0.0001 |

\*Prueba t

| Tiempo                                      | 24 HORAS |       |       | 48 HORAS |       |       |
|---|----------|-------|-------|----------|-------|-------|
|   | 25%      | 50%   | 100%  | 25%      | 50%   | 100%  |
| <b>Concentración</b>                        |          |       |       |          |       |       |
| <b>Promedio<br/>(mm)</b>                    | 9.87     | 11.27 | 13.94 | 9.49     | 10.67 | 13.54 |
| <b>Porcentaje de<br/>inhibición<br/>(%)</b> | 70.80    | 80.84 | 100   | 68.07    | 76.54 | 97.13 |

**Nota:** Elaborado por las investigadoras según el soporte de datos.

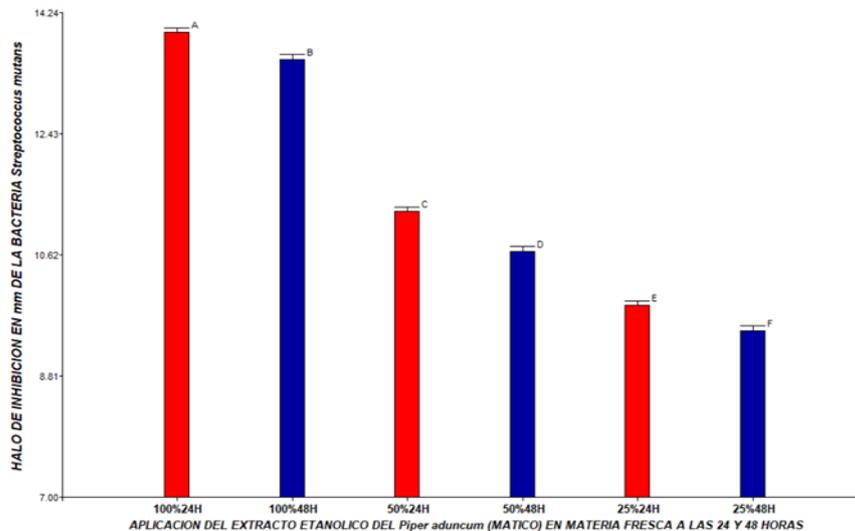
### • Interpretación

La tabla 3 presenta los promedios a las 24 y 48 hrs. teniendo un buen efecto inhibitorio a las 24 hrs. en sus distintas concentraciones, lo cual confirma “a menor tiempo mejor es el efecto inhibitorio” contra el *S. mutans*, así mismo, se ve el más y mejor efecto inhibitorio a las 24 hrs. al 100%. Se afirma que, a más concentración y menos tiempo,

mayor efecto inhibitor. Acerca del porcentaje de inhibición es mejor a concentración de 100% a las 24 hrs. con un 100% de efectividad del halo de inhibición. Determinando así la efectividad del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia fresca al 100% de concentración con un 13.94 mm de halo inhibitorio realizado en el control de 24 hrs.

### Figura 6.

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos de inhibición a concentraciones de 100, 50 y 25% de la aplicación de extracto etanólico del P. aduncum en materia fresca sobre el S. mutans durante 24 y 48 hrs., mediante la Prueba de contraste Tukey.*



**Nota:** Elaborado por las investigadoras según el soporte de datos.

#### • Interpretación

Presenta en la figura 6 el producto del análisis de datos de los halos inhibitorios con ayuda de la prueba estadística de “ANDEVA”, siendo la  $F_{\text{calculado}}$  mayor que la  $F_{\text{tabular}}$ , por lo tanto demostraría una diferencia significativa en las aplicaciones de extracto etanólico del *P. aduncum* de materia fresca en concentraciones de 100, 50 y 25%, contra el *S. mutans* en el transcurso de 24 y 48 hrs, una probabilidad  $\alpha$  de 0.05 siendo 2.66 su

CV, por ello se hizo la evaluación estadística de contraste de medias Tukey, como se muestra en el esquema de barras, Tukey  $\alpha = 0.05$ ,  $gl = 102$  y  $DMS = 0.29521$ , el cual muestra el mayor resultado antibacteriano al 100% a las 24 hrs, seguido con la misma concentración de 100% a las 48 hrs, en comparación a las aplicaciones de 50% y 25%.

**Tabla 4.**

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos del P. aduncum en materia seca, materia fresca y el control positivo (clorhexidina al 0.12%) frente al S. mutans.*

| APLICACION   | PROMEDIO                        | CONCENTRACIONES |          |          |             |
|--|---------------------------------|-----------------|----------|----------|-------------|
|  |                                 | 25%             | 50%      | 100%     | CONTROL (+) |
| DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL <i>Piper aduncum</i> (Matico) EN MATERIA SECA   | HALO INHIBITORIO 24 HORAS       | 15.31 mm        | 15.51 mm | 16.63 mm | 16.86 mm    |
|  | HALO INHIBITORIO 48 HORAS       | 14.82 mm        | 15.08 mm | 16.29 mm | 16.34 mm    |
|  | PORCENTAJE INHIBITORIO 24 HORAS | 90.80%          | 91.99%   | 98.63%   | 100%        |
|  | PORCENTAJE INHIBITORIO 48 HORAS | 87.90%          | 89.44%   | 96.61%   | 96.91%      |
| DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL <i>Piper aduncum</i> (Matico) EN MATERIA FRESCA | HALO INHIBITORIO 24 HORAS       | 9.87 mm         | 11.27 mm | 13.94 mm | 16.86 mm    |
|  | HALO INHIBITORIO 48 HORAS       | 9.49 mm         | 10.67 mm | 13.54 mm | 16.34 mm    |
|  | PORCENTAJE INHIBITORIO 24 HORAS | 58.54%          | 66.84%   | 82.68%   | 100%        |
|  | PORCENTAJE INHIBITORIO 48 HORAS | 56.28%          | 63.28%   | 80.30%   | 96.91%      |

**Nota:** Elaborado por las investigadoras según la base de datos.

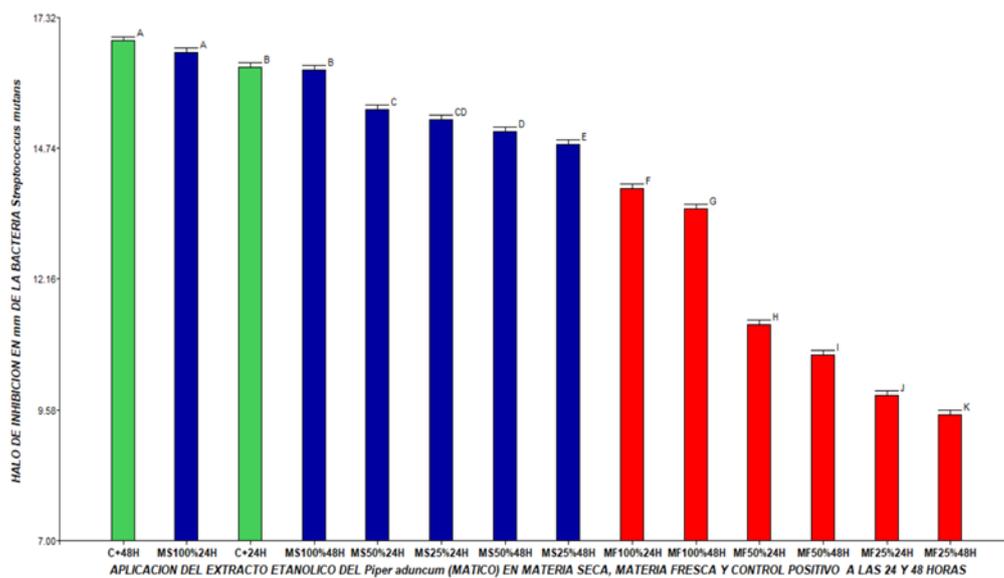
• **Interpretación**

Se observa en la tabla 4 a las 24 y 48 hrs los promedios, donde se puede ver que la CHX al 0.12% muestra la mejor efectividad inhibitoria durante 24 hrs. con 16.86 mm, seguido del extracto etanólico del *P. aduncum* de materia seca al 100% con 16.63 mm a las 24 hrs., y del control (+) con 16.34 mm a las 48 hrs. En cuanto al porcentaje de validez

lo posee el control (+) durante 24 hrs. continuado por el *P. aduncum* de materia seca al 100% con un porcentaje de 98.63% a las 24 hrs, con 1.37% de diferencia porcentual.

### Figura 7.

*Comparación in vitro del efecto antibacteriano de los halos inhibitorios a concentraciones de 100, 50 y 25% de los extractos etanólicos del P. aduncum de materia seca, materia fresca y control positivo sobre la bacteria S. mutans durante 24 y 48 hrs., mediante la prueba de contraste Duncan.*



**Nota:** Elaborado por las investigadoras según la base de datos.

#### • Interpretación

Se detallan en la figura 7 las respuestas del halo de inhibición con la prueba “ANDEVA” del análisis de datos, resultando que la  $F_{\text{calculado}}$  es mayor que la  $F_{\text{tabular}}$ , en consecuencia evidencia una diferencia significativa, siendo 2.61 su CV, una probabilidad  $\alpha = 0.05$ , es por eso que se ha sometido a la evaluación estadística de contraste de medias de DUNCAN el cual se muestra en el esquema de barras, Duncan  $\alpha = 0.05$ , EE = 0.1329 y gl = 238. Siendo con mayor efecto antibacteriano el control (+) a las 24 hrs. seguido del extracto etanólico del *P. aduncum* de materia seca al 100% a las 24 hrs., continuado por



el control (+) durante 48 hrs, en comparación al 50% y 25%, cabe mencionar que el extracto etanólico del *P. aduncum* de materia fresca del 25% tiene menor efecto inhibitorio durante 48 hrs. contra el *S. mutans*.

## 4.2. DISCUSIÓN

La investigación como objetivo principal tuvo, comparar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos del *P. aduncum* de materia seca y fresca frente al *S. mutans*, Puno - 2023, empleando al 100%, 50% y 25% de concentración, las mediciones del halo de inhibición se evaluaron a las 24 y 48 horas, donde los resultados para el mayor promedio del efecto antibacteriano fue el extracto etanólico de *P. aduncum* seco al 100% durante 24 hrs. con 16.63 mm de halo inhibitorio y un 98.63% de efectividad, siendo superior a las demás concentraciones por lo tanto, el extracto etanólico del *P. aduncum* de materia seca presentó mayor efecto antibacteriano que el fresco en sus diferentes concentraciones, donde se vio que a mayor concentración mayor efecto antibacteriano. Según lo hallado, estamos aceptando la hipótesis planteada del estudio que demuestra que existe diferencia entre el extracto etanólico de *P. aduncum* en materia seca y fresca frente al *S. mutans*. Sin embargo, no se encuentran precedentes que vinculen ambas variables, no obstante, encontramos en la revisión de la literatura que las variables son evaluadas por separado. En la investigación de Fróes, C. (9) evaluaron que el extracto etanólico del *P. aduncum* presentó actividad antibacteriana sobre *S. mutans* y *sanguinis*, lo cual indican la capacidad del extracto etanólico de *P. aduncum* seco para inhibir el aumento de las cepas de *S. mutans*. Por otra parte, Bornaz, JG. et al. (12) estudiaron el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de *P. aduncum* al 40 % en relación al *Enterococcus faecalis*, donde demostraron efectividad antimicrobiana. Finalmente, Graus RY. (13) presentó al 5% de concentración una media de 11.68 mm, y 8.6 mm la de 2.5%, encontrando similitud con nuestro estudio, donde el mayor efecto inhibitorio del



extracto etanólico de *P. aduncum* se encuentra en materia seca, en una mayor concentración. Es indudable la efectividad antibacteriana que muestra el *P. aduncum* en extracto etanólico, metanólico, y aceite como lo manifiestan las investigaciones mostradas, estos resultados podrían ser a causa de la concentración de sesquiterpenos presentes en las hojas de *P. aduncum*, brindan su actividad antibacteriana al vegetal, no obstante, las propiedades (biológicas y químicas) del *P. aduncum* podrían depender de sus diversos factores como la fase vegetativa o condiciones del clima, ya que son distintos en cada región y país (13).

Con respecto a la comparación de los extractos del *P. aduncum* de materia seca en sus diferentes concentraciones, se encontró diferencia con la investigación de *Martínez MP.* (8) donde determinó la efectividad inhibitoria del extracto etanólico de *P. aduncum* presentó más efectividad en la concentración del 50% a las 48 horas, en relación a la cepa de *P. gingivalis* con un halo inhibitorio de 13 mm, bacteria Gram (-) anaeróbica estricta presente en la enfermedad periodontal. Sin embargo, se puede diferenciar que, en nuestro trabajo a mayor concentración, mayor efectividad, esta discrepancia podría ser debido a que se usó diferentes bacterias. Por otro lado, en la investigación de *García, D. et al.* (10) los resultados fueron similares a nuestro estudio, donde la mayor efectividad se observó al 100% de concentración sobre *S. mutans* con un halo inhibitorio de 15.41 mm, al 75% fue de 13,25 mm y al 50% fue de 11,79 mm. Así mismo, *Rodríguez, S. et al.* (11) hallaron mejor efectividad al 100% sobre *Staphylococcus aureus* con un halo de 22.66 mm, encontrando similitud con la presente investigación. Al igual que en el estudio de *Mendoza M.* (14) se observó la zona de inhibición al 100% con 16,50 mm. Estas coincidencias podrían ser debido a que se usaron los mismos indicadores, a diferencia de este trabajo algunos autores usaron otras cepas, pero al igual que el *S mutans* poseen actividad contra la bacteriana, ello se basa en sus principios activos del extracto del *P.*



*aduncum* como los flavonoides, que muestran efectos antibacterianos (13).

No se han reportado estudios comparativos entre extractos etanólicos extraídos a partir del *P. aduncum* fresca y seca para evaluar su efecto antibacteriano, sin embargo, en nuestro estudio realizado se encontró que la mayor efectividad del extracto etanólico de *P. aduncum* fresco fue al 100% de concentración con 13.94 mm a las 24 hrs. y de 13.54 mm a las 48 hrs., al 50% de concentración fue de 11.27 y 10.67 mm durante 24 y 48 hrs respectivamente, finalmente al 25% de concentración fue de 9.87 y 9.49 mm durante 24 y 48 hrs. respectivamente. Donde observó que su mayor efectividad antibacteriana se encuentra en las concentraciones más altas. Sin embargo, podemos indicar que los resultados son específicos para cada organismo patógeno, y la aplicación práctica de estos hallazgos dependerá de la naturaleza de los microorganismos a tratar. Estos estudios ofrecen una visión valiosa sobre el potencial antibacteriano del extracto etanólico del *P. aduncum* y abren la puerta a investigaciones más profundas.

Al comparar los resultados de la efectividad antibacteriana del extracto etanólico de *P. aduncum* seco, fresco y la CHX al 0.12% frente al *S. mutans*, se indicó que, la CHX al 0.12% tuvo una elevada efectividad antibacteriana que los extractos obtenidos del *P. aduncum* ya que no manifiestan la misma acción antibacteriana contra un fármaco con reconocido efecto sobre estas bacterias, este resultado podría deberse a que, la CHX es un poderoso antibacteriano que acciona como bacteriostático y bactericida (13).



## V. CONCLUSIONES

**PRIMERA:** No existe diferencias significativas en el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca frente al *S. mutans*, a concentraciones de 25, 50 y 100%, a las 24 y 48 hrs. Se demostró una mayor efectividad al 100% de concentración a las 24 hrs.

**SEGUNDA:** No existe diferencias significativas en el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia fresca frente al *S. mutans*, a concentraciones de 25, 50 y 100%, a las 24 y 48 hrs. Se demostró una mayor efectividad al 100% de concentración a las 24 hrs.

**TERCERA:** Existe diferencias significativas al comparar los resultados del efecto antibacteriano del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca, fresca y el control positivo (clorhexidina al 0.12%). Se demostró que la clorhexidina presentó mayor efecto antibacteriano en relación a los extractos etanólicos obtenidos del *P. aduncum*.

**CUARTA:** Al comparar la efectividad antibacteriana del extracto etanólico del *P. aduncum* en materia seca y fresca frente al *S. mutans*, se comprobó que existe un mayor efecto antibacteriano del extracto etanólico en materia seca en sus diferentes concentraciones frente al *S. mutans*. Demostrando que entre los halos inhibitorios existe diferencia significativa. Se concluye que tiene un efecto de tipo bacteriostático.



## VI. RECOMENDACIONES

**PRIMERA:** Recomendamos realizar el estudio comparativo del *P. aduncum* seco y fresco en presentaciones de aceite esencial frente al *S. mutans*.

**SEGUNDA:** Se recomienda a los futuros investigadores que puedan realizar estudios con un enfoque específico en el *P. aduncum* fresco.

**TERCERA:** A docentes e investigadores que puedan realizar estudios in vitro con la aplicación del *P. aduncum* contra otras bacterias patógenas de la cavidad bucal.

**CUARTA:** A los futuros investigadores, que realicen estudios enfocados en su principal propiedad medicinal del *P. aduncum* como cicatrizante en tratamientos post exodoncia.

**QUINTA:** Se sugiere industrializar las plantas medicinales estudiadas para utilizarlas buscando la aplicabilidad de sus principios activos como en enjuagues, pastas dentales y otros productos para el cuidado oral, asimismo transferir los resultados de la investigación a los establecimientos de salud, para su implementación.

**SEXTO:** Se sugiere realizar en futuros estudios, equiparando el volumen en número de hojas secas y frescas del *P. aduncum* para obtener un estudio más preciso.



## VII. REFERENCIAS

1. Jiménez, Paula A. Evaluación genotóxica del aceite esencial y el extracto etanólico de *Piper elongatum* Vahl [Tesis de Pregrado]. [La Paz - Bolivia]: Universidad Mayor De San Andrés; 2009.
2. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Maurtua, Villegas L, Diaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev Estomatol Herediana*. octubre de 2015;25(4):268–77.
3. Ore F, Ticsihua J, Ruiz A, Corilla DD. *Piper aduncum* L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y COVID-19. *Revista Vive*. 14 de diciembre de 2021;4(12):534–49.
4. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología del *Piper aduncum* L. (“Matico”). *Revista de Química*. diciembre de 2004;27–32.
5. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Revista CES Odontología*. 2013;26(1):44–56.
6. Cardentey J. Empleo de la medicina natural y tradicional en el tratamiento estomatológico Use of natural and traditional medicine in stomatological treatments. *Rev Arch Med Camagüey*. 2015;19(3):316–21.
7. Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2022 [citado 7 de enero de 2024]. Salud bucodental. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
8. Martínez P del C. “Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper aduncum* (Matico) sobre cepa de *Porphyromona gingivalis* estudio in vitro”[Tesis de Pregrado]. [Ecuador]: Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología; 2018.
9. Fróes C, Pessoa de Siqueira E, Alves de Oliveira E, Leomar C, Loreto R, Valeria dos Santos K, et al. Antimicrobial activity of *Piper aduncum* leaf extracts against the dental plaque bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 17 de junio de 2016;10(23):331–7.



10. Garcia D, Llanos A. Efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de Piper aduncum L. (Matico) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175, in vitro [Tesis de Pregrado]. Lima - Perú; 2023.
11. Rodriguez S, Galan K. Efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de Piper aduncum “Matico” y Thymus vulgaris “Tomillo” sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923[Tesis de Pregrado]. [Huancayo-Perú]: Universidad Privada De Huancayo “Franklin Roosevelt”; 2021.
12. Bornaz J, InoNotas Z, Tito D, Bornaz V. Efecto antimicrobiano In vitro del extracto etanólico al 40 % de Piper augustifolium (matico) sobre Enterococcus faecalis. Revista Médica Basadrina. 2019;13:12–8.
13. Graus R. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de Piper aduncum (MATICO) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175 [Tesis de Pregrado]. [Trujillo-Perú]: Universidad Católica los Ángeles Chimbote; 2019.
14. Mendoza M del P. Efecto antibacteriano del aceite esencial de Piper aduncum “Matico” sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con oxacilina, estudio in vitro [Tesis de Pregrado]. [Trujillo-Perú]: Universidad César Vallejo; 2019.
15. Bermúdez A, Oliveira M, Velázquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. 2005;30(8):453–9.
16. Diaz L, Nieto A. Escenarios posibles de desarrollo del sector farmacéutico de producción nacional. Facultad de Química - UdelaR; 2004.
17. Gallegos M. Las plantas medicinales: usos y efectos en el estado de salud de la población rural de Babahoyo – Ecuador – 2015. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
18. Saavedra J. Las plantas medicinales de la sierra central de Piura. En Piura: Centro de Investigación en Geografía aplicada; 1995. p. 45–89.
19. Lemus A. Aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos de Piper aduncum. Rev, Universidad Estatal Amazónica. 2013;1(1).



20. Sepúlveda C, Ciro G, Zapata E. Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [Internet]. 2016;21(2):133–44. Disponible en: <http://scielo.sld.cu>
21. Linnaeus C von. *Tropicos* [Internet]. En: *Species Plantarum*. 29<sup>a</sup> ed. 1753.
22. Ordinola C, Barrena M, Rascón J, Corroto F. Uso de plantas medicinales para el síndrome febril por los pobladores del Asentamiento Humano Pedro Castro Alva del distrito de Chachapoyas (Chachapoyas-Perú). *Arnaldoa*. 2019;26(3):1033–46.
23. Favaron P, Bensho C. Benshoanon: el proceso curativo de la medicina tradicional del pueblo indígena shipibo-konibo”. *Maguaré*. 24 de junio de 2021;35(1):159–78.
24. Machado T, Reyes B. *Streptococcus mutans*, principal cariogénico de la cavidad bucal. *Revista Progaleno* [Internet]. 2021;4(3):84–99. Disponible en: <https://orcid.org/0000-0003-2915-9341>
25. Espín D. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) vs *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) sobre cepas de *Streptococcus mutans*. [Tesis de Pregrado]. [Ecuador - Quito]: Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología; 2019.
26. Figueroa G, Alonso G. Efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *Piper aduncum* “Matico” y *Thymus vulgaris* “Tomillo” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Acta Odontol Venez* [Internet]. 19 de junio de 2009;47:1–13. Disponible en: [www.actaodontologica.com](http://www.actaodontologica.com)NOTA:[www.actaodontologica.com/ediciones/2008/1/microorganismos\\_progresion\\_lesion\\_caries\\_dental.asp](http://www.actaodontologica.com/ediciones/2008/1/microorganismos_progresion_lesion_caries_dental.asp)
27. Rodríguez E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 2011;7(1):153–70.
28. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet]. 2017;16(3):402–19. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2013>



29. Hernández Sampieri R, Fernández C, Baptista M del P, Méndez S, Mendoza C. Metodología de la Investigación. Sexta edición. México: McGRAW-HILL; 2014.
30. Quintero MP, Montoya D, Restrepo D, González D. Conservación de bacterias por liofilización en la Colección de Microorganismos CM-EM-UDEA,. Biota Colomb [Internet]. 1 de julio de 2023;24(2). Disponible en: <https://doi.org/10.21068/2539200X.1127>
31. Herrera ML. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio [Internet]. Rev méd Hosp Nac Niños Dr Carlos Saenz Herrera . 1999;34(1):85–97.



## ANEXOS

## ANEXO 1. Ficha de recolección de datos

### *Piper aduncum* DE MATERIA SECA

| REPETICION | 100% 24 HORAS | 100% 48 HORAS | 50% 24 HORAS | 50% 48 HORAS | 25% 24 HORAS | 25% 48 HORAS |
|------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1          | 16.3 mm       | 16 mm         | 15.5 mm      | 15.1 mm      | 15.3 mm      | 14.8 mm      |
| 2          | 16.8 mm       | 16.5 mm       | 15.6 mm      | 15 mm        | 15.4 mm      | 14.8 mm      |
| 3          | 17.3 mm       | 17 mm         | 15.3 mm      | 15.1 mm      | 16.2 mm      | 15.9 mm      |
| 4          | 17.6 mm       | 17.2 mm       | 15.6 mm      | 15.2 mm      | 16.1 mm      | 15.5 mm      |
| 5          | 16.9 mm       | 16.5 mm       | 16.3 mm      | 15.9 mm      | 16.3 mm      | 15.8 mm      |
| 6          | 16.4 mm       | 16.2 mm       | 16.2 mm      | 15.9 mm      | 14.9 mm      | 14.5 mm      |
| 7          | 16.9 mm       | 16.5 mm       | 15 mm        | 14.5 mm      | 15 mm        | 14.5 mm      |
| 8          | 16.6 mm       | 16.3 mm       | 15.4 mm      | 15 mm        | 14.9 mm      | 14.3 mm      |
| 9          | 16.7 mm       | 16.3 mm       | 15.6 mm      | 15 mm        | 14.8 mm      | 14.4 mm      |
| 10         | 16.3 mm       | 16 mm         | 15.5 mm      | 15.2 mm      | 15.1 mm      | 14.6 mm      |
| 11         | 16.4 mm       | 16 mm         | 15.4 mm      | 15.1 mm      | 15.4 mm      | 15 mm        |
| 12         | 16.6 mm       | 16.4 mm       | 14.9 mm      | 14.5 mm      | 14.9 mm      | 14.4 mm      |
| 13         | 15.8 mm       | 15.5 mm       | 16.2 mm      | 15.8 mm      | 15.1 mm      | 14.5 mm      |
| 14         | 15.9 mm       | 15.2 mm       | 15.3 mm      | 14.7 mm      | 15 mm        | 14.5 mm      |
| 15         | 16.3 mm       | 16 mm         | 15.1 mm      | 14.7 mm      | 15.7 mm      | 15.3 mm      |
| 16         | 16.5 mm       | 16.1 mm       | 15.3 mm      | 14.8 mm      | 14.9 mm      | 14.4 mm      |
| 17         | 17.3 mm       | 17 mm         | 15.4 mm      | 15 mm        | 15.4 mm      | 15 mm        |
| 18         | 16.8 mm       | 16.5 mm       | 15.6 mm      | 14.9 mm      | 15.2 mm      | 14.5 mm      |

Lic. Baltazar Longhi Palacios Pisancho  
DNI: 01225984  
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FIMUNA PUNO

*Piper aduncum* DE MATERIA FRESCA

CLORHEXIDINA 0,12%

| REPETICION | 100% 24 HORAS | 100% 48 HORAS | 50% 24 HORAS | 50% 48 HORAS | 25% 24 HORAS | 25% 48 HORAS | 24 HORAS | 48 HORAS |
|------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------|----------|
| 1          | 14.2 mm       | 13.8 mm       | 11.8 mm      | 11.4 mm      | 10 mm        | 9.6 mm       | 16.7 mm  | 16.2 mm  |
| 2          | 14.1 mm       | 13.6 mm       | 11.6 mm      | 11.2 mm      | 9.9 mm       | 9.6 mm       | 16.8 mm  | 16.5 mm  |
| 3          | 13.8 mm       | 13.5 mm       | 11 mm        | 10.5 mm      | 10.2 mm      | 9.7 mm       | 16.8 mm  | 16.4 mm  |
| 4          | 14.2 mm       | 13.7 mm       | 11.2 mm      | 10.6 mm      | 9.6 mm       | 9.4 mm       | 17.0 mm  | 16.5 mm  |
| 5          | 13.6 mm       | 13.2 mm       | 11.4 mm      | 10.7 mm      | 9.8 mm       | 9.3 mm       | 16.9 mm  | 16.3 mm  |
| 6          | 14.5 mm       | 14 mm         | 10.9 mm      | 10.5 mm      | 10 mm        | 9.7 mm       | 17.0 mm  | 16.5 mm  |
| 7          | 14 mm         | 13.5 mm       | 11.3 mm      | 10.8 mm      | 9.7 mm       | 9.3 mm       | 16.7 mm  | 16.2 mm  |
| 8          | 13.7 mm       | 13.3 mm       | 11.1 mm      | 10.5 mm      | 9.8 mm       | 9.5 mm       | 16.8 mm  | 16.3 mm  |
| 9          | 13.2 mm       | 13.2 mm       | 11.2 mm      | 10.5 mm      | 9.6 mm       | 9.4 mm       | 16.7 mm  | 16.4 mm  |
| 10         | 13.4 mm       | 13 mm         | 10.9 mm      | 10 mm        | 9.7 mm       | 9.4 mm       | 16.9 mm  | 16.5 mm  |
| 11         | 14.5 mm       | 13.9 mm       | 11.1 mm      | 10.6 mm      | 9.9 mm       | 9.6 mm       | 16.8 mm  | 16.3 mm  |
| 12         | 14.3 mm       | 13.8 mm       | 10.6 mm      | 9.8 mm       | 9.7 mm       | 9.2 mm       | 16.9 mm  | 16.3 mm  |
| 13         | 14.2 mm       | 14 mm         | 11.3 mm      | 11 mm        | 9.8 mm       | 9.5 mm       | 16.6 mm  | 16.1 mm  |
| 14         | 13.8 mm       | 13.4 mm       | 11.4 mm      | 10.5 mm      | 10 mm        | 9.4 mm       | 17.1 mm  | 16.3 mm  |
| 15         | 14.1 mm       | 13.6 mm       | 11 mm        | 11 mm        | 10.1 mm      | 9.7 mm       | 16.8 mm  | 16.2 mm  |
| 16         | 13.4 mm       | 13.2 mm       | 11.4 mm      | 10.6 mm      | 9.5 mm       | 9.2 mm       | 17.0 mm  | 16.3 mm  |
| 17         | 14.2 mm       | 13.9 mm       | 11.5 mm      | 10.9 mm      | 10.1 mm      | 9.6 mm       | 17.1 mm  | 16.5 mm  |
| 18         | 13.8 mm       | 13.2 mm       | 11.6 mm      | 11 mm        | 10.2 mm      | 9.7 mm       | 16.9 mm  | 16.4 mm  |

Lic. Barbro Largo Palacios Pisancho  
 DNI: 01226984  
 ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FMH-UNA PUNO



## ANEXO 2. Solicitud de laboratorio de la FMH

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

**SOLICITUD: Autorización de los laboratorios de Microbiología para la ejecución del proyecto de investigación.**

**SEÑOR DECANO DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**Dr. GILBERTO FELIX PEÑA VICUÑA.**



Yo: Dinorham Lexmi Arce Santos, identificado con D.N.I. N°46948610 con código de matrícula N°111824 y Vilma Veronica Huaracca Vilca identificada con D.N.I. N°72895096, con código de matrícula N°105528, estudiantes de la escuela profesional de odontología UNA-PUNO.

Ante usted con el debido respeto, me presento y expongo lo siguiente:

Que habiendo recibido el acta de aprobación N°2023-338 del proyecto de tesis titulado "COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *PIPER ADUNCUM* (MATICO) SECO Y FRESCO FRENTE AL *STREPTOCOCCUS MUTANS*, PUNO – 2023". Solicitamos a su digno despacho se nos autorice el uso del laboratorio de microbiología para el proceso de obtención de los extractos, cultivo de bacterias y medición de halos inhibitorios donde serán necesarios varios instrumentos para la realización según sea el caso, todo con previa coordinación sobre horarios e insumos con el fin de no perjudicar sesiones académicas u otras actividades.

**POR LO EXPUESTO:**

Ruego a usted acceder a mi petición por ser justa y legal.



Dinorham Lexmi Arce Santos  
D.N.I. N°46948610

Puno, 07 de Julio del 2023

Atentamente:

Vilma Veronica Huaracca Vilca  
D.N.I. N°72895096

### ANEXO 3. Constancia de identificación de especie



#### CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE

El que suscribe coordinador del laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, hace constar que:  
A solicitud presentada por las Srtas. Dinorham Lexmi Arce Santos y Vilma Verónica Huaracca Vilca, cuyo asunto es la IDENTIFICACION TAXONOMICA A NIVEL DE ESPECIE DE UNA PLANTA para futuro uso experimental.

#### RESULTADO DE ANÁLISIS

ASUNTO: IDENTIFICACION DE LA ESPECIE HOJA DE MATICO (*Piper Aduncum*)

#### REFERENCIAS GENERALES:

Matico (Buddleja globosa Hope) es una planta oriunda de Chile, Argentina y Perú, pero en este último país se le conoce como matico a la especie *Piper angustifolium* (*Piper aduncum*), que abunda mayormente de manera silvestre en toda la selva peruana. Es una planta medicinal, que crece a una altura de 3 a 5 metros, por lo que tiene hojas grandes, también conocida como la hierba de soldado perteneciente a la familia piperácea, que mayormente se produce en América del Sur y América Central, además esta planta contiene compuestos bioactivos, terpenos, flavonoides y alcaloides que tiene propiedades medicinales, los extractos de matico se utilizan en la medicina herbal, la industria y la perfumería.

#### PROCEDENCIA:

Provincia de sandia del distrito san juan de loro

#### IDENTIFICACION TAXONOMÍA

Reino: Plantae  
División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Orden: *Piperales*  
Familia: *Piperaceae*  
Género: *Piper*  
Especie: *Piper Aduncum L.*

#### CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA MUESTRA:

ASPECTO: Hojas ovalado-lanceoladas

COLOR: verde oscuro

CANTIDAD: 5kg



Lic. Baylino Lorgio Palacios Frisancho  
DNI: 01225964  
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FISHUNA PUNO



#### ANEXO 4. Constancia de ejecución



### CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

HACE CONSTAR:

Que, los bachilleres DINORHAM LEXMI ARCE SANTOS, con código de matrícula 11824, VILMA VERONICA HUARACCA VILCA con código de matrícula 105528 egresados de la facultad Ciencias de la Salud, escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, han ejecutado su proyecto de investigación titulado “COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL *Piper aduncum* (MATICO) SECO Y FRESCO FRENTE AL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2023.” en el laboratorio de microbiología y parasitología de la escuela profesional de Medicina Humana, en los meses de julio, agosto y setiembre del año 2023.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado para fines que considere conveniente.

Puno, jueves 28 de setiembre del 2023.



  
Lic. Balbino Lorgio Palacios Prisancho  
DNI: 01225964  
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FBMH-UNA PUNO

## ANEXO 5. Certificado de la cepa bacteriana



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**CERTIFICADO DE LA CEPA BACTERIANA**

**EL QUE SUSCRIBE:**

Certifica que la pureza de *Streptococcus mutans* se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

- 1.- El medio de cultivo que se utilizo para el aislamiento es el agar sangre para observar la actividad hemolítica, y los complejos antígeno-anticuerpo.
- 2.- Características ambientales.
  - a. Mesófilo, crece a temperatura entre 18 a 40°C
  - b. Acidófilo, vive en medio de PH bajo.
  - c. Anaerobio facultativo.
- 3.- Para la identificación del *Streptococcus mutans*, se tomo en cuenta los criterios fenotípicos.
  - a. Morfología macroscópica, borde irregular, elevación cóncava, color blanquecino, forma irregular.
  - b. Morfología microscópica, bacteria coco Gram positivo, dispuesta en cadena.
  - c. Resistencia y sensibilidad a los antibióticos:  
Resistencia a la amoxicilina y bacitracina, sensible a los betalactámicos.
  - d. Propiedades bioquímicas, oxidasa y catalasa negativa, fermentación positiva de rafinosa, manitol, melobiosa, trebalosa e insulina; hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; ureasa negativa de la arginina.

Nota: Para la obtención de la cepa pura de *Streptococcus mutans* se siguió los métodos estándar propuesto por el Instituto Nacional de la Salud (INS)



*[Firma]*  
Litt. Barbara Zepeda Palacios Frisancho  
C.I.I. 01225984  
ESPECIALISTA ADMINISTRATIVO FARMACIA PUNO

## ANEXO 6. Pruebas estadísticas

### MATICO

#### Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

| Variable  | n  | Media | DE   | LI(95) | LS(95) | T      | p(Bilateral) |
|-----------|----|-------|------|--------|--------|--------|--------------|
| 100% 24 h | 18 | 13.94 | 0.38 | 13.76  | 14.13  | 156.02 | <0.0001      |
| 100% 48 h | 18 | 13.54 | 0.31 | 13.39  | 13.70  | 182.55 | <0.0001      |
| 50% 24 h  | 18 | 11.27 | 0.30 | 11.12  | 11.42  | 159.86 | <0.0001      |
| 50% 48 h  | 18 | 10.67 | 0.39 | 10.48  | 10.87  | 116.31 | <0.0001      |
| 25% 24 h  | 18 | 9.87  | 0.21 | 9.76   | 9.97   | 197.98 | <0.0001      |
| 25% 48 h  | 18 | 9.49  | 0.17 | 9.40   | 9.57   | 235.27 | <0.0001      |

#### Prueba t para una media

Valor de la media bajo la hipótesis nula: 0

| Variable     | n  | Media | DE   | LI(95) | LS(95) | T      | p(Bilateral) |
|--------------|----|-------|------|--------|--------|--------|--------------|
| MS 100% 24 H | 18 | 16.63 | 0.47 | 16.40  | 16.87  | 150.86 | <0.0001      |
| MS 100% 48 H | 18 | 16.29 | 0.50 | 16.04  | 16.54  | 138.74 | <0.0001      |
| MS 50% 24 H  | 18 | 15.51 | 0.39 | 15.32  | 15.70  | 169.00 | <0.0001      |
| MS 50% 48 H  | 18 | 15.08 | 0.42 | 14.87  | 15.29  | 152.50 | <0.0001      |
| MS 25% 24 H  | 18 | 15.31 | 0.47 | 15.08  | 15.55  | 137.44 | <0.0001      |
| MS 25% 48 H  | 18 | 14.82 | 0.50 | 14.57  | 15.07  | 125.80 | <0.0001      |

#### Análisis de la varianza

| Variable               | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------|----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 24H | 54 | 0.64           | 0.63              | 2.81 |

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.              | SC    | gl | CM   | F     | p-valor |
|-------------------|-------|----|------|-------|---------|
| Modelo            | 18.29 | 2  | 9.14 | 46.19 | <0.0001 |
| APLICACION MATICO | 18.29 | 2  | 9.14 | 46.19 | <0.0001 |
| Error             | 10.10 | 51 | 0.20 |       |         |
| Total             | 28.38 | 53 |      |       |         |

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.35801

Error: 0.1980 gl: 51

| APLICACION MATICO | Medias | n  | E.E.   |
|-------------------|--------|----|--------|
| AMMS100%24H       | 16.63  | 18 | 0.10 A |
| AMMS50%24H        | 15.51  | 18 | 0.10 B |
| AMMS25%24H        | 15.31  | 18 | 0.10 B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



### Análisis de la varianza

| Variable                     | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 48 HORA.. | 54 | 0.66           | 0.65              | 3.08 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                 | SC    | gl | CM    | F     | p-valor |
|----------------------|-------|----|-------|-------|---------|
| Modelo               | 22.21 | 2  | 11.11 | 49.46 | <0.0001 |
| APLICACION MATICO MS | 22.21 | 2  | 11.11 | 49.46 | <0.0001 |
| Error                | 11.45 | 51 | 0.22  |       |         |
| Total                | 33.67 | 53 |       |       |         |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.38133

Error: 0.2246 gl: 51

| APLICACION MATICO MS | Medias | n  | E.E.   |
|----------------------|--------|----|--------|
| AMMS100%48H          | 16.29  | 18 | 0.11 A |
| AMMS50%48H           | 15.08  | 18 | 0.11 B |
| AMMS25%48H           | 14.82  | 18 | 0.11 B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

### Análisis de la varianza

| Variable                     | N   | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|-----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 24 Y 48.. | 108 | 0.68           | 0.66              | 2.95 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                         | SC    | gl  | CM   | F     | p-valor |
|------------------------------|-------|-----|------|-------|---------|
| Modelo                       | 45.36 | 5   | 9.07 | 42.94 | <0.0001 |
| APLICACION MATICO 24 Y 48 .. | 45.36 | 5   | 9.07 | 42.94 | <0.0001 |
| Error                        | 21.55 | 102 | 0.21 |       |         |
| Total                        | 66.91 | 107 |      |       |         |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.44503

Error: 0.2113 gl: 102

| APLICACION MATICO 24 Y 48 .. | Medias | n  | E.E.     |
|------------------------------|--------|----|----------|
| AMMS100%24H                  | 16.63  | 18 | 0.11 A   |
| AMMS100%48H                  | 16.29  | 18 | 0.11 A   |
| AMMS50%24H                   | 15.51  | 18 | 0.11 B   |
| AMMS25%24H                   | 15.31  | 18 | 0.11 B   |
| AMMS50%48H                   | 15.08  | 18 | 0.11 B C |
| AMMS25%48H                   | 14.82  | 18 | 0.11 C   |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)



### Análisis de la varianza

| Variable                     | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 24 HORA.. | 54 | 0.97           | 0.97              | 2.60 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                 | SC     | gl | CM    | F      | p-valor |
|----------------------|--------|----|-------|--------|---------|
| Modelo               | 154.55 | 2  | 77.28 | 834.19 | <0.0001 |
| APLICACION MATICO MF | 154.55 | 2  | 77.28 | 834.19 | <0.0001 |
| Error                | 4.72   | 51 | 0.09  |        |         |
| Total                | 159.28 | 53 |       |        |         |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24491

Error: 0.0926 gl: 51

| APLICACION MATICO MF | Medias | n  | E.E. |   |
|----------------------|--------|----|------|---|
| MF100%               | 13.94  | 18 | 0.07 | A |
| MF50%                | 11.27  | 18 | 0.07 | B |
| MF25%                | 9.87   | 18 | 0.07 | C |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

### Análisis de la varianza

| Variable                     | N  | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 48 HORA.. | 54 | 0.97           | 0.97              | 2.72 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                 | SC     | gl | CM    | F      | p-valor |
|----------------------|--------|----|-------|--------|---------|
| Modelo               | 156.58 | 2  | 78.29 | 839.14 | <0.0001 |
| APLICACION MATICO MF | 156.58 | 2  | 78.29 | 839.14 | <0.0001 |
| Error                | 4.76   | 51 | 0.09  |        |         |
| Total                | 161.34 | 53 |       |        |         |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24578

Error: 0.0933 gl: 51

| APLICACION MATICO MF | Medias | n  | E.E. |   |
|----------------------|--------|----|------|---|
| MF100%               | 13.54  | 18 | 0.07 | A |
| MF50%                | 10.67  | 18 | 0.07 | B |
| MF25%                | 9.49   | 18 | 0.07 | C |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)



### Análisis de la varianza

| Variable                     | N   | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|-----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 24 Y 48.. | 108 | 0.97           | 0.97              | 2.66 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                         | SC     | gl  | CM    | F      | p-valor |
|------------------------------|--------|-----|-------|--------|---------|
| Modelo                       | 316.79 | 5   | 63.36 | 681.49 | <0.0001 |
| APLICACION DEL MATICO 24 Y.. | 316.79 | 5   | 63.36 | 681.49 | <0.0001 |
| Error                        | 9.48   | 102 | 0.09  |        |         |
| Total                        | 326.27 | 107 |       |        |         |

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.29521

Error: 0.0930 gl: 102

APLICACION DEL MATICO 24 Y.. Medias n E.E.

|             |       |    |      |   |
|-------------|-------|----|------|---|
| AMMF100%24H | 13.94 | 18 | 0.07 | A |
| AMMF100%48H | 13.54 | 18 | 0.07 | B |
| AMMF50%24H  | 11.27 | 18 | 0.07 | C |
| AMMF50%48H  | 10.67 | 18 | 0.07 | D |
| AMMF25%24H  | 9.87  | 18 | 0.07 | E |
| AMMF25%48H  | 9.49  | 18 | 0.07 | F |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

### Análisis de la varianza

| Variable                     | N   | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> Aj | CV   |
|------------------------------|-----|----------------|-------------------|------|
| HALO DE INHIBICION 24 Y 48.. | 252 | 0.98           | 0.98              | 2.61 |

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

| F.V.                         | SC      | gl  | CM     | F      | p-valor |
|------------------------------|---------|-----|--------|--------|---------|
| Modelo                       | 1581.61 | 13  | 121.66 | 915.18 | <0.0001 |
| APLICACION DE MATICO MS Y .. | 1581.61 | 13  | 121.66 | 915.18 | <0.0001 |
| Error                        | 31.64   | 238 | 0.13   |        |         |
| Total                        | 1613.25 | 251 |        |        |         |

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.1329 gl: 238

APLICACION DE MATICO MS Y .. Medias n E.E.

|             |       |    |      |     |
|-------------|-------|----|------|-----|
| C+48H       | 16.86 | 18 | 0.09 | A   |
| AMMS100%24H | 16.63 | 18 | 0.09 | A   |
| C+24H       | 16.34 | 18 | 0.09 | B   |
| AMMS100%48H | 16.29 | 18 | 0.09 | B   |
| AMMS50%24H  | 15.51 | 18 | 0.09 | C   |
| AMMS25%24H  | 15.31 | 18 | 0.09 | C D |
| AMMS50%48H  | 15.08 | 18 | 0.09 | D   |
| AMMS25%48H  | 14.82 | 18 | 0.09 | E   |
| AMMF100%24H | 13.94 | 18 | 0.09 | F   |
| AMMF100%48H | 13.54 | 18 | 0.09 | G   |
| AMMF50%24H  | 11.27 | 18 | 0.09 | H   |
| AMMF50%48H  | 10.67 | 18 | 0.09 | I   |
| AMMF25%24H  | 9.87  | 18 | 0.09 | J   |
| AMMF25%48H  | 9.49  | 18 | 0.09 | K   |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

## ANEXO 7. Evidencias fotográficas

### PROCESO DE REALIZACIÓN DEL EXTRACTO

*Piper aduncum* (Matico) en materia

Seca

Pesado en balanza analítica.



*Piper aduncum* (Matico) en materia

Fresca

Pesado en balanza analítica.



Se llevó a la estufa en 60 °C.



Se llevó a la estufa en 60 °C.





**Dilución del Matico en materia seca.**

**Dilución del Matico en materia fresca.**



**Colocación del extracto de Matico en matraz de Erlenmeyer para su maceración.**



### Filtración al vacío Matico fresco.



### Filtración al vacío Matico seco.



### Obtención de muestras.



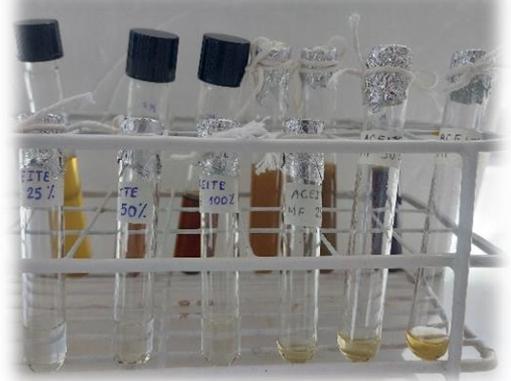
### Filtración del Matico seco.



### Filtración del Matico fresco.



### Extracto en diferentes concentraciones.



### Obtención de la bacteria de *Streptococcus mutans*.



### Mueller Hinton agar.



### Dilución del agar Mueller Hinton.





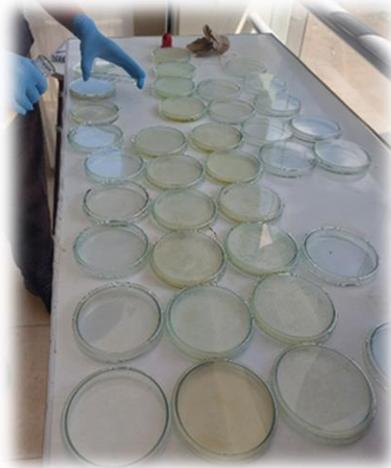
### Autoclave en proceso de Esterilización.



### **Empaquetado de las cajas de Petri y matraces con agares para su esterilización.**



### **Plaqueado del agar en las cajas de Petri.**

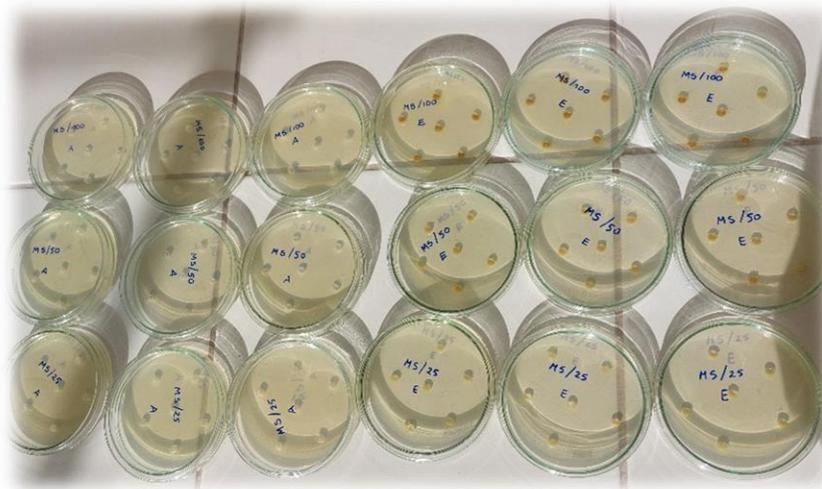


### **Sacabocados, pipeta digital.**

**Elaboración de los pozos en las cajas  
de Petri.**



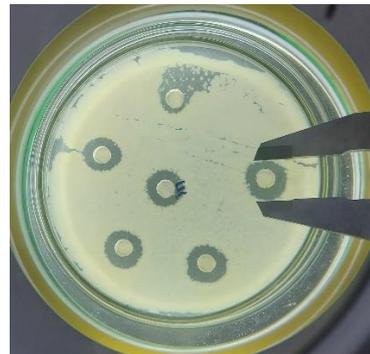
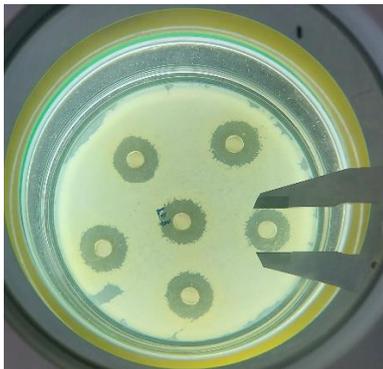
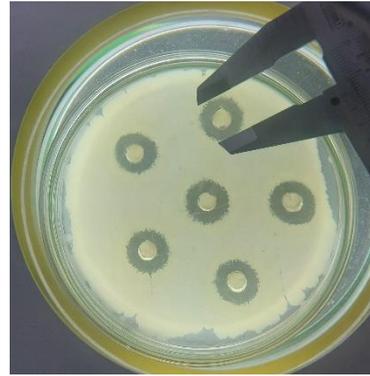
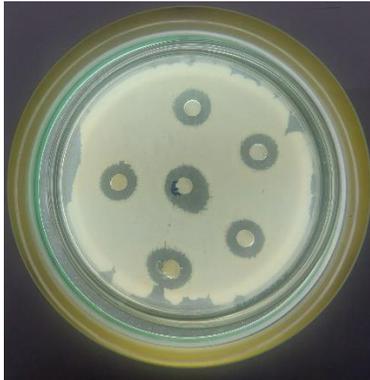
**Introducción de los discos de  
sensibilidad en cada pocillo elaborado.**



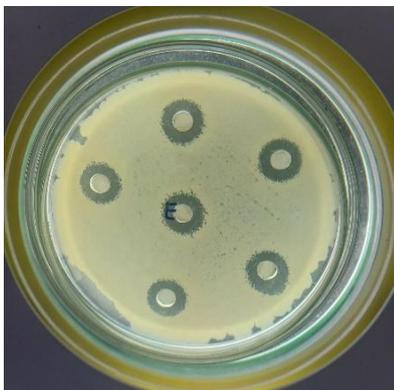
**Placas debidamente identificadas con el inóculo y la aplicación del Matico.**

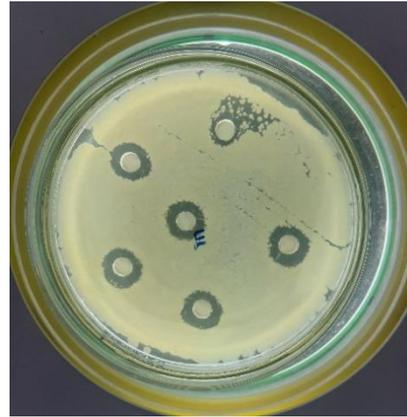
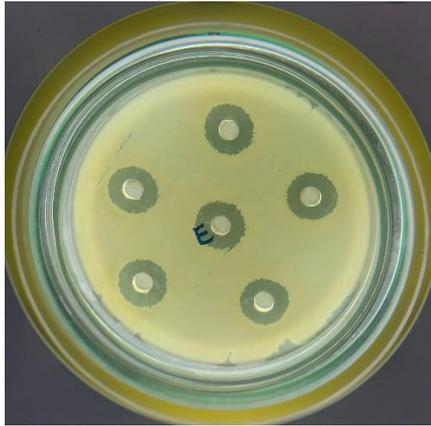
### Halo de inhibición de las aplicaciones.

24 horas



48 horas





**Control con clorhexidina.**





## ANEXO 8. Declaración jurada de autenticidad de tesis



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo VILMA VERONICA HUARACCA VILCA,  
identificado con DNI 72895096 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DEL Piper aduncum (MATICO) EN MATERIA SECA Y  
FRESCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, PUNO - 2023 ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 13 de JUNIO del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo DINORHAM LEXMI ARCE SANTOS  
identificado con DNI 46948610 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DEL Piper aduncum (MATICO) EN MATERIA SECA Y  
FRESCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, PUNO- 2023 ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 13 de JUNIO del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



## ANEXO 9. Autorización para el depósito de tesis en el Repositorio Institucional



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo VIUMA VERONICA HUARACCA VILCA,  
identificado con DNI 72895096 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DEL Piper aduncum (MATICO) EN MATERIA SECA Y  
FRESCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, PUNO - 2023 ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 13 de JUNIO del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo DINORHAM LEXMI ARCE SANTOS,  
identificado con DNI 46948610 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

ODONTOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL Piper aduncum (MATICO) EN MATERIA SECA Y FRESCA FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS , PUNO - 2023 ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 13 de JUNIO del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella