



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

“Actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* procedente de la región de Cajamarca (provincia de Contumazá) frente a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™). Estudio *in vitro*”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

Presentado por:

Rosita Belén Bazán Aliaga (0000-0001-9230-6258)

Asesora:

Dra. Angela Quispe Salcedo (0000-0002-6449-4631)

Lima - Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 14 de abril del 2021.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dr. Kilder Maynor Carranza Samanez	<input type="checkbox"/>
Miembro: Lic. Elba Estefanía Martínez Cadillo	
Miembro: Mg. Juan Antonio Castro Arredondo	

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

«**Actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* procedente de la región de Cajamarca (provincia de Contumazá) frente a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™). Estudio *in vitro***»

Presentada por la estudiante:

Rosita Belén Bazán Aliaga

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesorada por: Dra. Angela Quispe Salcedo

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la estudiante de la Carrera de Estomatología en la sustentación, se concluyen de:

Manera unánime (**X**)

Por mayoría ()

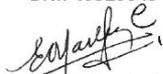
Calificar a:

Tesis: Rosita Belén Bazán Aliaga			Nota (dieciocho): 18
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



**Dr. Kilder Maynor Carranza
Samanez**
DNI: 40320045



Lic. Elba Estefanía Martínez Cadillo
Miembro 1
DNI.08621492



**Mg. Juan Antonio Castro
Arredondo**
DNI: 43062595



Dra. Angela Quispe Salcedo
Asesor(a)
DNI.41900187

RESUMEN

Objetivo: Determinar in vitro la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) frente a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™).

Metodología: El presente estudio fue de tipo experimental in vitro, el cual consistió en determinar el efecto inhibitorio de tres concentraciones del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* 250 mg/ml, 500mg/ml, 1000 mg/ml frente a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™), se realizaron 10 pruebas para cada concentración del extracto teniendo como control positivo la clorhexidina al 0,12 % para las placas de *Streptococcus mutans* y paramonclorofenol alcanforado para las placas de *Candida albicans*, como control negativo se utilizó DMSO al 10 % para ambos microorganismos. Para evaluar el efecto inhibitorio se colocaron 5 discos de 5mm de diámetro y 0.02 mm de espesor sobre los cuales se agregó 10 uL de tres diferentes concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus*, se realizó la lectura a las 24 y 48 horas para *Candida albicans* y solo a las 48 horas para *Streptococcus mutans*.

Resultados: Se observó que las tres concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* no presentaron efecto inhibitorio tanto para *Streptococcus mutans* ni para *Candida albicans*; sin embargo, la clorhexidina presentó halos de inhibición de 14.43 mm \pm 1.23 mm, a las 48 horas y el paramonoclorofenol alcanforado presentó halos de 22.63 mm \pm 5.83 mm a las 24 horas y 20.63 mm \pm 5.06 mm a las 48 horas de incubación.

Conclusiones: Se determinó que las tres concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* no presentaron efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, efecto inhibitorio, extracto etanólico, *Cyperus rotundus*.

ABSTRACT

OBJECTIVE: The purpose of this study was to determine in vitro the inhibitory activity of the ethanolic extract of *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) against strains of *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) and *Candida albicans* (ATCC® 2091™).

METHODS: This research was experimental in vitro, which consisted of determining the inhibitory effect of three concentrations of the ethanolic extract of *Cyperus rotundus* 250 mg/ml, 500 mg/ml, 1000 mg/ml against strains of *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) and *Candida albicans* (ATCC® 2091™). 10 tests were performed for each concentrations, having 0.12% chlorhexidine as a positive control for *Streptococcus mutans* plates and camphorized paramochlorophenol for *Candida albicans* plates, 10% DMSO was used as a negative control for both microorganisms. To evaluate the inhibitory effect, 5 discs of 5mm in diameter and 0.02 mm thick were placed on which 10 uL of three different concentrations of the ethanolic extract of *Cyperus rotundus* was added, the reading was made at 24 and 48 hours for *Candida albicans* and only at 48 hours for *Streptococcus mutans*.

RESULTS: It was observed that the three concentrations of the ethanolic extract of *Cyperus rotundus* did not present an inhibitory effect for both *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*; However, chlorhexidine presented halos of inhibition of 14.43 mm ± 1.23 mm at 48 hours and camphorized paramonochlorophenol presented halos of 22.63 mm ± 5.83 mm at 24 hours and 20.63 mm ± 5.06 mm at 48 hours of incubation.

CONCLUSIONS: It was determined that the three concentrations ethanolic extracts of *Cyperus rotundus* did not present an inhibitory effect on strains of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*.

Key words: *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, inhibitory effect, ethanolic extract, *Cyperus rotundus*.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad del planeta debido a su riqueza animal y vegetal (1); además, presenta una extensa biodiversidad de ecosistemas y riqueza genética, por lo cual se emplean popularmente 1400 plantas medicinales (2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a las plantas medicinales como un tipo de vegetal que posee propiedades farmacológicas (3). Debido a que un gran porcentaje de la población peruana tiene un acceso limitado a los sistemas de salud y medicinas industrializadas; las plantas medicinales siguen siendo usadas en la actualidad para la cura de diversas enfermedades, basándose en las creencias o experiencias previas obtenidas a lo largo de la historia. Sin embargo, el uso de plantas medicinales no solo se encuentra restringido a los sectores socioeconómicos menos favorecidos como las zonas rurales o periurbanas. En los países desarrollados también se ha observado su uso por cierto sector de la población a causa de los acontecimientos de migración, situación socioeconómica o la ineficacia de la medicina industrializada. Por tanto, resulta de importancia para la población, investigar aquellos productos naturales de uso convencional y de fácil acceso para el tratamiento de enfermedades, a fin de enumerar sus propiedades fitoterapéuticas y descartar todo riesgo de toxicidad para el consumo (2) (4-6).

El *Cyperus rotundus* (coquito) es una de las plantas más antiguas en la medicina tradicional, que usualmente se encuentra en los cultivos de maíz, arroz y plátano (7-10). Esta planta no necesita ser cultivada por el hombre debido a su gran destreza para extenderse y adecuarse a diferentes condiciones, tales como elevadas temperaturas, sequías, alta humedad de suelos, variación de PH y escasez de oxígeno; caracterizándose por su rápida expansión en zonas amplias. Los estudios fitoquímicos realizados han mostrado que el *Cyperus rotundus* posee los siguientes componentes: alcaloides, flavonoides, taninos, glucósidos, furocromonas, monoterpenos, sesquiterpenos,

sitosterol, saponinas, terpenoides, aceites esenciales, almidón, carbohidratos, proteínas y aminoácidos (11). Además, se ha reportado que el extracto del tubérculo presenta grandes cantidades de alcaloides, compuestos fenólicos, glucósidos y en menor proporción péptidos, ácidos orgánicos y una cantidad mínima de esteroides (12). Las propiedades medicinales atribuidas al *Cyperus rotundus* son diversas, resaltando sus propiedades antipiréticas, antiinflamatorias, antifúngicas, antimicrobianas, analgésicas, antimutagénicas, e inclusive anticariogénicas; por lo cual se infiere que sus componentes podrían ser útiles en el tratamiento de diversas enfermedades estomacales, intestinales, renales, neuronales; así como trastornos en el sistema reproductor y la cavidad oral (11-13). A pesar de sus numerosos beneficios y su abundancia en América Latina (8), el número de investigaciones relacionadas a su utilidad en el tratamiento de afecciones orales es aún bastante reducido comparado con otras plantas de uso medicinal.

La caries dental es una enfermedad infecciosa de naturaleza dinámica y multifactorial, ya que depende de la inestabilidad de los factores protectores y patológicos causantes de la remineralización y desmineralización respectivamente; de manera que cuando se presenta un desequilibrio entre ambos procesos, se origina un desbalance que termina en la pérdida de estructura dentaria (14-16). Las lesiones cariosas empiezan con la formación de una fina capa denominada película adquirida, la cual está compuesta por proteínas y glicoproteínas provenientes de la saliva. Este revestimiento cumple roles de protección y remineralización; sin embargo, también favorece la colonización bacteriana ya que en esta se adhieren los principales microorganismos causantes de la caries dental tales como: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, perteneciente a la familia de los *Streptococos viridans*. Pero además se tienen reportes sobre *Candida albicans* el cual en conjunto con *Streptococcus mutans* potencian su patogenicidad ocasionando mayor problema en la estructura dentaria. (15)(17-18)

Streptococcus mutans es una bacteria anaerobia facultativa y gram positiva, que, debido a sus factores de virulencia, se le asocia al establecimiento de la caries dental. Se considera una bacteria del tipo acidófila, ya que puede vivir en un medio ácido y mantenerse metabólicamente activa. Asimismo, es acidúrica puesto que, sintetiza sus propios ácidos y acidogénica por que tiene la capacidad de metabolizar la sacarosa en ácido láctico, el cual genera la desmineralización de la superficie dentaria. Investigaciones previas han demostrado que la adhesión y virulencia de esta bacteria dependen de la producción del glucosil transferasa, aumentando así su poder cariogénico.(1)(3)(12)(16)(19)

Según la OMS, las enfermedades bucodentales perjudican a casi 3500 millones de personas, siendo la caries dental en dientes permanentes el problema de salud más frecuente, incluyendo a más de 530 millones de niños quienes sufren de esta enfermedad en dientes deciduos. (19) El Ministerio de Salud del Perú (MINSA) reporta que entre el año 2001 y 2002 la prevalencia de caries dental en niños de 5 a 15 años fue de un 90.4 %, pero según el último estudio epidemiológico por el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, en el año 2012-2014 se evidenció la prevalencia de caries de un 85,6% en escolares de 3 a 15 años. (20)(21) Asimismo, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) considera al Perú en estado de emergencia ya que según el índice de dientes cariados, perdidos y obturados (CPOD) niños de 12 años presentan un índice de 6, reflejándose aquí el problema de salud bucal que tiene el país. (22)(23)

Candida albicans es un hongo oportunista clasificado dentro del grupo de las levaduras que coloniza las superficies mucosas, pero también se puede encontrar en las bolsas periodontales, placa dental, lesión de caries y en el sistema de conductos. Este hongo

comensal puede pasar a ser patógeno no solo por la alteración de los mecanismos inmunes del hospedero por diversas enfermedades, tratamientos inmunosupresores o uso de medicamentos, sino que también depende de sus características intrínsecas, como es la regulación de ph del medio en el que se encuentra o factores genéticos propios de este hongo. También produce enzimas como fosfolipasas, proteasas entre otras que le facilitan la entrada al epitelio, el cambio morfológico de la fase levaduriforme a la fase filamentosa y la variación fenotípica en el cual se segregan enzimas y toxinas que generan daño a las zonas donde se encuentra habitando, y por último, la producción de proteínas y polímeros que generan un biofilm el cual le brinda resistencia a fármacos. (18)(24-26).

Candida albicans es una de las causantes del fracaso del tratamiento endodóntico ya sea por sus factores de virulencia, pero también por el difícil acceso del sistema de conductos para los medicamentos que se utilizan para desinfección. Es un hongo que puede ingresar por una lesión de caries y establecerse en el sistema de conductos, y que además, presenta resistencia a los antibióticos que se encuentran en las soluciones de irrigación, lo que aumenta la probabilidad de fracaso en los tratamientos endodónticos. (25-31)

Por otro lado, la infección por este hongo en la cavidad bucal se la conoce como Candidiasis oral (CO) y se manifiesta primordialmente como lesiones blancas o eritematosas. Existen diferentes tipos como: La candidiasis pseudomembranosa, la cual se presenta como placas blandas de aspecto blanquecino, que se desprenden fácilmente dejando una superficie eritematosa; la candidiasis hiperplásica crónica, que se muestran como lesiones de placas blanquecinas en la zona retrocomisural y que no se desprenden con facilidad, la candidiasis atrófica crónica, que aparece en superficies que tienen contacto con alguna prótesis removible como el paladar o reborde alveolar o la candidiasis atrófica aguda, que se observa en forma de placas en el dorso y bordes de lengua presentando dolor y ardor. (32-36)

La clorhexidina, perteneciente a la familia de las biguanidas, es el antiséptico más utilizado en el ámbito de la salud por ser muy eficaz contra las bacterias gram positivas, gram negativas, anaerobios facultativos, aerobios y con menor eficacia frente a las levaduras y hongos. En el área odontológica, se ha demostrado que inhibe la adhesión de los microorganismos a la superficie dentaria impidiendo así la formación de la película adquirida, utilizándose como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades como la caries dental, periodontitis, gingivitis y candidiasis oral. Aun cuando se han reportado algunos efectos secundarios tales como reacciones alérgicas, pigmentaciones de mucosa especialmente el dorso de la lengua, dientes y restauraciones, la clorhexidina es considerada hasta la fecha como el mejor agente para combatir a los microorganismos responsables de las enfermedades de la cavidad bucal. (27)(37-38) Por otro lado el paramonoclorofenol alcanforado (CPMC) es el antiséptico intraconducto más empleado gracias a su fuerte efecto antibacteriano y antifúngico, que resulta de la unión de dos radicales libres: el fenol y el cloro, los cuales, a pesar de causar irritabilidad a los tejidos, cuando se le asocia con el alcanfor lo convierte en uno de los compuestos con mayor efectividad, mejorando su difusión y disminuyendo su efecto irritante. (28)(38-39) Varias investigaciones han puesto en evidencia el papel del *Cyperus rotundus* ante las bacterias causantes de la caries dental. Por ejemplo, Haghgoo y col. (40) demostraron que el extracto etanólico del rizoma del *Cyperus rotundus* presentó actividad inhibitoria para el *Streptococcus mutans* a partir de una concentración de 225 mg/ml. De igual manera el estudio de Yu y col. En el cual se demostró que el extracto etanólico obtenido del tubérculo del *Cyperus rotundus*, a partir de una concentración de 0.5 mg/ml, favorece la inhibición del crecimiento bacteriano, así como la disminución de la producción de ácidos, de la adherencia y el impedimento de síntesis de glucanos del *Streptococcus mutans* (12). Otro estudio ha demostrado que el extracto etanólico del *Cyperus rotundus* es efectivo en la

inhibición del crecimiento de *Candida albicans* a una concentración de 100 mg/ml, como lo demuestra el estudio de Kabbashi y col. (41). Con respecto a la toxicidad del extracto etanólico obtenido de toda la planta, el estudio realizado por Mansoor y col. (13) evidenció que no existe algún tipo de toxicidad ni alteración a los órganos internos luego de la administración de una dosis de 1000 mg / kg del extracto en ratas albinas. A pesar de los diversos estudios encontrados que evidencian las propiedades beneficiosas del extracto etanólico del *Cyperus rotundus*, no se han realizado estudios que evalúen el efecto inhibitorio que la variedad peruana posee frente a microorganismos orales. Por tanto, el propósito de esta investigación fue determinar la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Contumazá-Cajamarca) sobre el crecimiento in vitro del *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* a fin de establecer los beneficios de esta planta medicinal y su impacto al área odontológica.

II. OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Determinar in vitro la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) frente a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™).

2. Objetivos específicos

- Evaluar in vitro la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) a las 48 horas.

- Evaluar *in vitro* la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans* (ATCC®2091™) a las 24 y 48 horas.
- Comparar la actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca-contumazá) en sus diferentes concentraciones versus la solución de clorhexidina al 0.12% y paramonoclorofenol alcanforado frente al *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™) respectivamente.

III. HIPÓTESIS

El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca-contumaza) demuestra mayor o igual efecto inhibitorio que la solución de clorhexidina al 0.12% y paramonoclorofenol alcanforado sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™) respectivamente.

IV. METODOLOGÍA

1. Diseño de estudio:

El estudio fue de tipo experimental *in vitro*.

2. Método:

El método utilizado fue la recolección de datos mediante la observación.

3. Muestra:

La unidad de análisis estuvo conformada por cultivos de las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™).

El tamaño muestral fue determinado mediante la fórmula estadística de estimación de una media en base a los datos obtenidos en la prueba piloto (Anexo 1)

4. Criterios de selección

4.1. Criterios de inclusión:

- Placas Petri con crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) frente a la exposición de las diferentes concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus*.
- Placas Petri con crecimiento de *Candida albicans* (ATCC®2091™) frente a la exposición de las diferentes concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus*.

4.2. Criterios de exclusión:

- Placas Petri que mostraron contaminación por otros microorganismos, después del proceso de incubación.
- Placas Petri que no mostraron crecimiento de los microorganismos deseados.

5. Operacionalización de variables:

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	TIPO	ESCALA	VALORES
Actividad inhibitoria del extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i>	Efectividad del extracto para inhibir el crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	Se evaluó el halo de inhibición en un cultivo de agar	Regla calibrada (Vernier)	Cuantitativa	Razón	Milímetros
Bacteria cariogénica	Bacteria relacionada con la caries dental	Bacteria cariogénica que fue utilizada en el presente ensayo de laboratorio	Características morfológicas de las colonias bacterianas en la placa Petri	Cualitativa	Nominal	<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)
Hongo oportunista	Hongo relacionado con patologías orales	Hongo oportunista que fue utilizado en el presente ensayo de laboratorio	Características morfológicas de las colonias fúngicas en la placa Petri	Cualitativa	Nominal	<i>Candida albicans</i> (ATCC 2091)
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> a diferentes concentraciones	Sustancia química producida en laboratorio capaz de inhibir el crecimiento y/o destruir al <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Candida albicans</i>	Elemento obtenido tras procesos de extracción hidroalcohólica de la raíz y tubérculos del <i>Cyperus rotundus</i>	Concentraciones del extracto	Cualitativa	Ordinal	250mg/ml 500mg/ml 1000mg/ml

6. Método y técnicas:

6.1 Identificación

Se obtuvo una muestra completa del *Cyperus rotundus* proveniente de la ciudad de Cajamarca, provincia de Contumazá y se procedió a su identificación y reconocimiento en el herbario San Marcos del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 2 y 3).

6.2. Preparación de la muestra

El proceso se realizó en el laboratorio de química de productos naturales de la Universidad Científica del Sur. Se seleccionaron las raíces y tubérculos de las plantas de *Cyperus rotundus* para lavarlas y secarlas con papel toalla, luego se colocó en una estufa (MMM Group, Alemania) a una temperatura de 40°C por 2 días. Seguidamente se realizó la molienda utilizando una licuadora Oster de 2 caballos de fuerza. Para luego pesar en balanza digital (Sartorius, Alemania) 316 g, la cual se pasó por un colador y se obtuvo 308g de muestra más fina. (1)(3)(12)(15)(41-43) (Anexo 4).

6.3. Preparación del extracto etanólico

La molienda se colocó en un frasco ámbar a través de un embudo de vidrio y se procedió a colocar etanol de 70% (1:6 g/ml)(44), luego se realizó la excitación en el agitador digital (Thermo Fisher Scientific, USA) por dos días y para la ruptura de paredes celulares se usó el homogeneizador (Homogenizer-Glas-Col[®], USA), posteriormente se utilizó la bomba al vacío (Diaphragm Vacuum Pump, China) para el filtrado con papel Whatman N°1 en una campana extractora de gases (LABCONCO, México) y se colocó en un frasco color ámbar cubierta de aluminio para refrigerar a 5°C por dos días. Seguidamente se procedió a utilizar el rotavapor (presión -1 milibar, T: 48°C, rpm:18) y colocar la muestra en placas petri para ponerlas a la estufa a 40°C por dos días. Se colocó la muestra seca en un frasco ámbar obteniendo como peso final 15,3305 g el cual fue disuelto en DMSO al

10%, y se almacenó en refrigeración a 5 °C cubierto de papel aluminio. (1)(3)(12)(15)(20)(42-43) (Anexo 5).

6.4. Reactivación de las cepas

Para la obtención de las cepas se emplearon cultivo liofilizado del *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™), las cuales fueron adquiridas a través de la empresa GenLab del Perú S.A.C. La cepa del *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) se reactivó en cultivo de Agar Mitis Salivarius para luego colocarla en microanaerobiosis empleando la jarra Gas Pak siguiendo el método de vela en extinción durante 4 días e incubación posterior a 37 °C. (43)

La cepa de *Candida albicans* (ATCC®2091™) se reactivó en cultivos de Agar Sabouraud y se procedió a colocarla en incubación a 37 °C, la reactivación de ambas cepas se realizó en cabina de seguridad biológica clase II.

6.5. Evaluación del efecto antibacteriano y antifúngico del extracto de *Cyperus rotundus*

Se determinó la susceptibilidad de ambos microorganismos frente al extracto etanólico del *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones 250 mg/ml, 500 mg/ml, 1000 mg/ml usando la prueba de difusión con discos (Kirby-Bauer). En primer lugar se preparó Caldo Tripticasa Soya (TSB) el cual consistió en 60 mL de H₂O destilada y 2 gramos de (TSB), para luego ser autoclavado a 121° C x 15 minutos. Se procedió a suspender las cepas de cada microorganismo en tubos de ensayo con el caldo preparado hasta alcanzar la turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland, que fue medida por el espectrofotómetro, para finalmente ser incubados por dos horas a 37° C. Posteriormente se estriaron las cepas de cada microorganismo por medio de siembra por diseminación en Agar Müeller Hinton y se incubó por 2 horas a 37°C. Para determinar el efecto antibacteriano se colocaron los discos de papel filtro de 5mm de diámetro y 0.02 mm de espesor sobre los cuales se

agregó 10 uL de cada concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (250 mg/ml, 500 mg/ml, 1000 mg/ml), clorhexidina al 0.12% como control positivo (+) para el *Streptococcus mutans* y paramonoclorofenol alcanforado para *Candida albicans*, y DMSO al 10% como control negativo (-) para ambos. Los discos de papel filtro embebidos con cada concentracion del extracto, los controles negativos y positivos fueron ubicados con una pinza estéril sobre los cultivos de las placas petri anteriormente preparadas. En el caso de las placas con *Streptococcus mutans* se forraron con papel craft para ser incubadas en microanaerobiosis empleando la jarra de Gas Pak, siguiendo el método de vela en extinción para que se obtenga un ambiente aproximadamente de 5 a 10% de CO₂, a 37°C durante 48 horas para hacer la lectura de resultados por medio de la inspección visual. Las placas de *Candida albicans* se incubaron a 37°C y se procedió a realizar la lectura a las 24 y 48 horas, el registro en milímetros de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* se realizó con una regla calibrada (Vernier) la cual determinó cuantitativamente el efecto inhibitorio *in vitro*, de acuerdo con el diámetro del halo de inhibición. (29)(40)(42)(45)(Anexo 6)

El siguiente cuadro ejemplifica la distribución de las placas por grupos:

Streptococcus mutans
 (ATCC®25175™)

Lectura a las 48 horas

10 placas:

- 250 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C1)
- 500 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C2)
- 1000 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C3)
- Clorhexidina 0,12% (control +)(CX)
- DMSO 10% (control -)(B1)

Candida albicans
 (ATCC®2091™)

Lectura a las 24 y 48 horas

10 placas:

- 250 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C1)
- 500 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C2)
- 1000 mg/ml extracto etanólico del *Cyperus rotundus*. (C3)
- Paramonoclorofenol alcanforado (control +) (PA)
- DMSO 10% (control -)(B1)

7. Análisis estadístico

Los datos fueron colocados en una ficha (Anexo 7) y para el análisis de estos se utilizó el programa estadístico (Minitab 19-USA). El plan de análisis buscó comparar la media entre los grupos estudiados, es por ello que se realizó el análisis descriptivo, el cual consistió en detallar la tendencia central (media y mediana) y las medidas de dispersión del halo de inhibición (desviación estándar y varianza), para cada uno de los grupos con los tratamientos utilizados. Seguidamente se evaluó la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk. Al hallarse esta, se utilizó la prueba de ANOVA y para encontrar la diferencia entre los datos obtenidos se utilizó la prueba HSD de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

8. Consideraciones éticas:

El proyecto fue evaluado por el comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Científica del Sur. No se consideró alguna complicación ética ya que se trató de un estudio *in vitro* con cepas estandarizadas y protocolos verificables reportados en publicaciones previas.

V. RESULTADOS

Se observó que 250 mg/ml, 500 mg/ml y 1000 mg/ml no presentaron efecto inhibitorio para *Streptococcus mutans*. Mientras que la clorhexidina mostró un halo de inhibición de (14,4 mm \pm 1,2 mm) a las 48 horas de lectura. (Ver tabla N°1)

Tabla N°1

“Evaluación descriptiva de la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* a las 48 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	N° de repeticiones	Halo de inhibición (Diámetro en mm)		
		Media \pm D.S.	Varianza	Mediana
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	10	0	0	0
Dmso 10%	10	0	0	0
Clorhexidina 0,12%	10	14.43 \pm 1.23	1.51	14.60

Se observó que 250 mg/ml, 500 mg/ml y 1000 mg/ml no presentaron efecto inhibitorio para *Candida albicans*. Mientras que el paramonoclorofenol alcanforado mostró un halo de inhibición de (22,6 mm \pm 5,8 mm) a las 24 horas de lectura. (Ver tabla N°2)

Tabla N° 2

“Evaluación descriptiva de la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans* a las 24 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	N° de repeticiones	Halo de inhibición (Diámetro en mm)		
		Media ± D.S.	Varianza	Mediana
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	10	0	0	0
Dms0 10%	10	0	0	0
Paramonoclorofenol alcanforado	10	22.63 ± 5.83	34.03	22.09

Se observó que 250 mg/ml, 500 mg/ml y 1000 mg/ml no presentaron efecto inhibitorio para *Candida albicans*. Mientras que el paramonoclorofenol alcanforado mostró un halo de inhibición de (20,6 mm ± 5,1 mm) a las 48 horas de lectura. (Ver tabla N°3)

Tabla N° 3

“Evaluación descriptiva de la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans* a las 48 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	Halo de inhibición (Diámetro en mm)			
	Nº de repeticiones	Media ± D.S.	Varianza	Mediana
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	10	0	0	0
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	10	0	0	0
Dmsó 10%	10	0	0	0
Paramonoclorofenol alcanforado	10	20.63 ± 5.06	25.63	21.22

Por otro lado, para la prueba de normalidad se usó Shapiro Wilk en la cual se mostró que para *Streptococcus mutans* a las 24 horas y *Candida albicans* a las 24 y 48 horas el valor $p > 0,1$ por lo tanto se llega a la conclusión que los datos encontrados tanto para clorhexidina y paramonoclorofenol alcanforado respectivamente, se distribuyen con normalidad a un nivel de significancia del 5%. Esta prueba de normalidad no se pudo realizar con los datos de las tres concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* ya que sus valores fueron nulos.

Cuando se comparó con la prueba de ANOVA de un factor, la significancia de los datos obtenidos de los tratamientos aplicados tanto para *Streptococcus mutans* como para *Candida albicans* se encontró diferencia estadísticamente significativa donde $p < 0,001$. Además se observó que el efecto inhibitorio tanto del tratamiento de clorhexidina para *Streptococcus mutans* como paramonoclorofenol alcanforado para *Candida albicans* con respecto a las concentraciones del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* poseen diferencias significativas, esto se realizó con la prueba HSD de Tukey empleando un nivel de significancia del 5%. (Ver tabla N° 4, 5 y 6)

Tabla N°4

“Comparación de la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* a las 48 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	Media ± D.S. Halo de inhibición (Diámetro en mm)	P
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	0	<0,001*
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	0	
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	0	
Dms0 10%	0	
Clorhexidina 0,12%	14.43 ± 1.23	

*Nivel de significancia $p \leq 0,05$

Prueba de Anova de un factor y HSD de Tukey

Tabla N°5

“Compración de la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans* a las 24 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	Media ± D.S. Halo de inhibición (Diámetro en mm)	P
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	0	<0,001*
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	0	
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	0	
Dms0 10%	0	
Paramonoclorofenol alcanforado	22.63 ± 5.83	

*Nivel de significancia $p \leq 0,05$

Prueba de Anova de un factor y HSD de Tukey

Tabla N°6

“Comparación de la actividad inhibitoria del extracto etanolico de cyperus rotundus a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans* a las 48 horas”

SUSTANCIAS EXPERIMENTALES	Media ± D.S. Halo de inhibición (Diámetro en mm)	P
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 250 mg/ml	0	<0,001*
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 500 mg/ml	0	
Extracto etanólico del <i>Cyperus rotundus</i> 1000 mg/ml	0	
Dmsó 10%	0	
Paramonoclorofenol alcanforado	20.63 ± 5.06	

*Nivel de significancia $p \leq 0,05$

Prueba de Anova de un factor y HSD de Tukey

VI. DISCUSIÓN

Gracias a su gran riqueza vegetal y genética el Perú es uno de los países que más empleo hace de plantas medicinales, ya sea por deficiencias en el sistema de salud o por ineficacia de las medicinas industrializadas. Nagarajan et al. (46) describe al *Cyperus rotundus* como una de las plantas más usadas en la medicina china tradicional, de la cual se han formulado más de 500 patentes para su uso. Basados en esta y otras publicaciones que demuestran su efectividad antibacteriana y antifúngica (11-13)(24)(41), surge el interés de investigar las propiedades de la variedad peruana del *Cyperus rotundus* en el área odontológica, ya que es una planta bastante accesible para la población. A pesar de que ya se han publicado algunos artículos describiendo las propiedades de la variedad peruana (47-48), el presente trabajo de investigación constituye el primer reporte sobre las propiedades de la versión peruana del *Cyperus rotundus* frente a microorganismos orales, tales como *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.

La muestra de *Cyperus rotundus*, tomada de la provincia de Contumazá, en el departamento de Cajamarca fue procesada para la obtención de extracto etanólico. Khojaste y col. (24) encontraron como resultado que el extracto etanólico del tubérculo del *Cyperus rotundus* mostró efecto inhibitorio para el *Streptococcus mutans* presentando un halo de inhibición de 19 mm a una concentración de 500 mg/ml utilizando el método de pozos en agar, además de ello comparan el extracto etanólico, acuoso y aceite esencial, siendo el más eficiente el extracto etanólico. La literatura muestra muchos más estudios del *Cyperus rotundus* realizados en base a un extracto etanólico (12-13)(40)(42), razón por la cual también se decide optar por esta metodología. El extracto etanólico realizado para este estudio fue extraído de los bulbos de las raíces, siguiendo la metodología de Yu HH y col. (12) y Kabbashi A y col. (41) con algunas modificaciones, lo cual constituyo otra razón por la cual se decidió realizar el extracto etanólico, ya que de ser el caso de producir un aceite esencial, se necesitaría mucha más cantidad de la muestra. (24)

El análisis microbiológico se llevó a cabo mediante la técnica de difusión en discos (Kirby-Bauer), la cual ha sido empleada por la gran mayoría de autores en este tema (1)(15)(40)(45). Esta técnica es frecuentemente utilizada y se basa en el uso de discos de papel esterilizados empapados del extracto experimental o de la solución control. Sin embargo, Montero y col. (49) en su estudio informan que el método de pozos modificados de agar es mejor, ya que muestra mayor sensibilidad para el uso de la sustancia a probar contra las bacterias que se desean estudiar, y eso gracias a que concentra mayor cantidad del extracto. Haghgoo y col. (40) encontraron que la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* frente a *Streptococcus mutans* era de 225 mg/ml y 450 mg/ml, respectivamente. Sin embargo, la concentración de 900 mg/ml representó una diferencia significativa con respecto a la clorhexidina al 0.2% y la penicilina de 500mg. En nuestro estudio se

utilizaron las concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/ml del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* sin encontrar efecto en los periodos de observación designados. Esto contrasta con lo obtenido por Yu y col. (12), quienes mostraron que a concentraciones de 0.5, 1, 2, 4 mg/ml de extracto etanólico del tubérculo del *Cyperus rotundus* ya se producía inhibición del crecimiento para el *Streptococcus mutans*, sugiriendo que su efecto antibacteriano era dependiente de la dosis. La discrepancia entre nuestro estudio y los antecedentes puede originarse en la variabilidad de la planta y el método utilizado para ver el efecto inhibitorio. Todos los estudios previos donde se destaca su efectividad frente al *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* han sido realizados en otros países, especialmente en el continente asiático, lo que sugiere que las condiciones climatológicas y el tipo de suelo, entre otras condiciones locales, puede haber interferido con las propiedades antibacterianas o antifúngicas de la planta.

Kabbashi A y col. (41) afirmaron que el extracto etanólico de toda la planta del *Cyperus rotundus* presentaba un halo de inhibición de 26 mm para *Cándida albicans* a una concentración de 100 mg/ml, empleando el método pozos en agar a comparación de nuestros resultados, los cuales fueron nulos para las concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/ml. Sin embargo, nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Khojaste M y col. (24) los cuales tampoco encontraron ninguna inhibición en el crecimiento de este hongo empleando 500 mg/ml del extracto etanólico del tubérculo de *Cyperus rotundus*, a pesar de usar el método pozos en agar, lo que refuerza la idea de la importancia del entorno local en las propiedades de la planta.

Una de las principales limitaciones de esta investigación es que se realizó durante la pandemia de la COVID-19, y por ello fue mucho más difícil la disponibilidad de los materiales y laboratorios a emplear, además del inconveniente para conseguir muestras de pacientes. Es por ello que se emplearon cepas ATCC, las cuales son cultivos puros

estandarizados, con la desventaja de ser más susceptibles a los agentes antimicrobianos y antifúngicos comparándolo con las cepas aisladas de pacientes. Por último, hoy en día existen pocos trabajos publicados con respecto a las propiedades y efecto antibacteriano y antifúngicos del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* de origen peruano, especialmente frente a patógenos orales.

Aun cuando los resultados obtenidos no hayan sido favorables para las tres concentraciones del extracto, se recomienda continuar con la línea de investigación sobre plantas medicinales, especialmente sobre el *Cyperus rotundus* y así complementar el conocimiento y encontrar la razón por la cual la variedad peruana de esta planta no presentó algún efecto inhibitorio sobre la bacteria y el hongo estudiado. Por ejemplo, se pueden ampliar estudios sobre las características químicas, estructurales, los mecanismos de acción y el principio activo. Además, se observó que frente a la técnica de difusión con discos (Kirby-Bauer) no hay efecto inhibitorio alguno, por ello se recomienda que en futuras investigaciones se apliquen otros procedimientos más eficaces, como por ejemplo el método de pozos modificados de agar. Es necesario tener en consideración las concentraciones usadas en futuros estudios ya que se sabe que para el *Streptococcus mutans* el MIC es de 225 mg/ml y el MBC es de 450 mg/ml y que en nuestro estudio a pesar de usar concentraciones más altas no se vieron resultado alguno, de igual manera para *Candida albicans* ya que no se presentó efecto inhibitorio del extracto empleado en ninguna de sus concentraciones.

VII.CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) a diferentes concentraciones no mostró ningún tipo de actividad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) a las 48 horas.

2. El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca - Contumazá) a diferentes concentraciones no mostró ningún tipo de actividad inhibitoria frente a *Candida albicans* (ATCC®2091™) a las 24 y 48 horas.
3. El extracto etanólico del *Cyperus rotundus* (Cajamarca-Contumazá) en sus diferentes concentraciones no puede compararse con la solución de clorhexidina al 0.12% y paramonoclorofenol alcanforado frente al *Streptococcus mutans* (ATCC®25175™) y *Candida albicans* (ATCC®2091™), respectivamente, ya que estos no mostraron ningún tipo de actividad inhibitoria.

VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cano W. Efecto del extracto etanólico de *Azadirachta indica* (neem) sobre la viabilidad in vitro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis]. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo; 2017.
2. Bussmann R, Douglas S. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. *Ethnobot Res Appl.* 2016;5(1):1-293.

3. Abanto M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
4. Dentone S, Morales S. Determinación *in vitro* de la actividad antimicótica del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporium canis*. Rev Inv Vet Perú. 2017;28(1):56-61.
5. Cruz C, Diaz M, Sook M. Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. Pharm Biol. 2017;55(1):1992-98.
6. Aleman M, Román M, Stucchi C. Acceso a información de salud bucal en niños de 0 a 11 años según la encuesta demográfica y de salud familiar en el Perú en el año 2016 [Tesis]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2018.
7. Castillo J, Rodríguez P, Molina P, Cardozo M, Vega C . Entomofauna en las principales malezas asociadas a los cultivos de maíz, cítricos y lúcumo y su población estimada por hectárea en la molina, Lima. Perú. Ana cient. 2015;76(2):315-23.
8. Fuentes C, Osoria A, Granados JC, Piedrahita W. Producción eco-eficiente del arroz en America Latina .1er. Tomo. Colombia:ciat;2010.
9. Medina K. Efecto de la fertilización y orgánica sobre la incidencia y severidad de malezas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L) en la zona de Lomas de Sargentillo Provincia de Guayas [Tesis]. Guayaquil: Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2008.
10. Rodriguez D. Efecto de tres herbicidas y diferentes dosis en el de malezas en el cultivo de plátano (*Musa sp.*) En tingo maria [Tesis].Tingo Maria: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2011.
11. Esmail A. A review on *Cyperus rotundus* a potential medicinal plant. IOSRPHR. 2016;6:32-48.

12. Yu HH, Lee DH, Seo SJ, Yu YO. Anticariogenic properties of the extract of *Cyperus rotundus*. Am J Chin Med. 2007;35(3):497–505.
13. Mansoor A, Mahayrookh, Mehjabeen, Asif B, Noor J. Toxicological and biochemical evaluation of ethanolic crude extract of *Cyperus rotundus*. Int j pharm pharm sci. 2013;5:538-544.
14. Miñana V. Promoción de la salud bucodental. Rev Pediatr Aten Primaria. 2011; 13(51):435-58.
15. Barragán J. Efecto de inhibición del extracto de té verde en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% frente a *Streptococcus mutans* en 20 muestras in vitro. [Tesis]. Quito. Universidad Central del Ecuador; 2018.
16. Borda A. Factores de riesgo de caries dental en niños de una institución educativa primaria de Canchaque, Piura, 2014 [Tesis]. Lima: Universidad Peruano Cayetano Heredia; 2017.
17. Ortiz N. Desinfección de cepillos dentales inoculados con *Streptococcus mutans* usando vinagre, clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio [Tesis]. Ecuador: Universidad Central de Ecuador; 2017.
18. Du Q, Ren B, He J, Peng X, Guo Q, Zheng L. *Candida albicans* promotes tooth decay by inducing oral microbial dysbiosis. J ISME . 2020;1-15.
19. Oms [Internet]: Organización mundial de la salud; 2020 [cited 2021 ene 4]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
20. Ministerio de Salud. Prevalencia nacional de caries dental, fluorosis del esmalte y urgencia de tratamiento en escolares de 6 a 8, 10, 12 y 15 años, Perú. 2001-2002. Lima: Minsa; 2005.

21. Ministerio de Salud [Internet]: Programa presupuestal 0018 enfermedades no transmisibles. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/presupuestales/doc2019/pp/anexo/ANEXO2_5.pdf
22. Ministerio de Salud [Internet]: El 90.4% de los peruanos tiene caries dental. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental>
23. Ministerio de Salud. Perfil epidemiológico de salud bucal en escolares de 3 a 15 años, Perú 2012-2014 [Internet]: Disponible en: https://www.academia.edu/36448738/GUIA_TECNICA_CARIES_MINSA
24. Khojaste M, Yazdanian M, Tahmasebi E, Shokri M, Houshmand, B, Shahbazi R. Cell Toxicity and inhibitory effects of *Cyperus rotundus* extract on *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Candida albicans*. Eur J Transl Myol. 2018;28(4):362-9.
25. Verma A, Richardson J, Zhou C, Coleman B, Moyes D, Ho J, et al. Oral epithelial cells orchestrate innate type 17 responses to *Candida albicans* through the virulence factor candidalysin. Sci Immunol. 2017;2:1-13.
26. Panizo M, Reviákina V. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Rev Soc Ven Microbiol. 2001;21(2):38-45.
27. Armata MG, Serrano P, García R, Díaz A, Acosta Is. Efecto antimicrobiano de la clorhexidina en odontología. Rev odontol latinoam. 2016;8(2):31-35.
28. Zumárraga MJ, Almeida A, Resende T, Henrique P, Ferreira G. Beneficio de algunas asociaciones como medicación intracanal. KIRU. 2017;14(2):188-192.
29. Azaña I. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas

- de origen endodóntico [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
30. Kumar J, Sharma R, Sharma M, Prabhavathi V, Paul J, Deepak C. Presence of *Candida albicans* in Root Canals of Teeth with Apical Periodontitis and Evaluation of their Possible Role in Failure of Endodontic Treatment. JIOH. 2015;7(2):42-5.
 31. Medina A, Vega A, Zuluaga G. Eficacia in vitro de la moxifloxacina frente a *Candida albicans* en enfermedad periodontal. Avances en Periodoncia. Av periodoncia. 2014;26(1):45-50.
 32. Maureira N, Viera P, Fernandez A, Urrejola M, Bravo C, Mardones F, et al. Susceptibilidad de Cepas de *Candida* Oral a Extracto Etanólico del Propóleo Chileno de Olmué. Int. J. Odontostomat. 2017;11(3):295-303.
 33. Otero R, Peñamaría M, Rodríguez P, Martín B, Blanco C. Candidiasis oral en el paciente mayor. Av Odontoestomatol. 2015;31(3):135-148.
 34. Rebolledo M, Sanchez M, Bettín A, Mosquera H, Lozano A. Candidiasis bucal en pacientes con cáncer sometidos a quimioterapia. Rev Cubana Estomatol. 2020;57(1).
 35. Wolfgang B. Candidiasis orales Parte 1: Cuadro clínico, epidemiología y etiología. Quint Pub. 2010;23(10):1-8.
 36. Lazarde L, Pacheco A. Identificación de especies de *Candida* en un grupo de pacientes con Candidiasis Atrófica Crónica. Acta odontol. venez . 2001;39(1): 13-18.
 37. Serrano P. Informe sobre la eficacia, efectividad, seguridad y coste-efectividad del uso preoperatorio de antisépticos para reducir el riesgo de infecciones del sitio quirúrgico. 2017.
 38. Barbosa C, Goncalves R, Siqueira J, De Uzeda M. Evaluation of the Antibacterial Activities of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine, and Camphorated

- Paramonochlorophenol as Intracanal Medicament, A Clinical and Laboratory Study. J endod. 1997;23(5).
39. Salcedo D. Efecto antibacteriano de las pastas 3 mix-mp y calen pmcc® en un biofilm de tres bacterias predominantes en periodontitis apical crónica [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
40. Haghgoo R, Mehran M, Zadeh H, Afshari E, Zadeh N. Comparison Between Antibacterial Effect of Chlorhexidine 0.2% and Different Concentrations of *Cyperus rotundus* Extract: An In vitro Study. JISPCD. 2017;7(5):242-6.
41. Kabbashi A, Mohammed S, Almagboul A, Ahmed I. Antimicrobial activity and Cytotoxicity of Extract of *Cyperus rotundus* L. AJPPS. 2015;2(1):1-13.
42. Miranda V. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
43. Urbina LM. Efecto antibacteriano in vitro de un enjuague bucal a diferentes concentraciones a base de extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
44. Hu C, Zhang Y, Liu G, Liu Y, Wang J, Sun B. Untargeted metabolite profiling of adipose tissue in hyperlipidemia rats exposed to *Hawthorn* ethanol extracts. J Food Sci. 2019;84(4):717-25.
45. Brañez K, Ramos D, Castro A, Piscoche L, Dávila D, Ruiz J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus sanguinis* y

- Actinomyces viscosus* bacterias iniciadoras en la formación de biopelícula dental. Odontol sanmarquina. 2018;21(1):21-25.
46. Nagarajan M, Kuruvilla G, Subrahmanya K, Venkatasubramanian P. Pharmacology of *Ativisha*, *Musta* and their substitutes. J-AIM. 2015;6(2):121-131.
47. Mendoza G, Chambe R, Callacná M, Paucar R, Ticlla I. Efecto de la harina de *Cyperus rotundus* “coquito” sobre los parámetros productivos de *Cavia porcellus* “cuy”. SCIENDO. 2014;17(2):51-6.
48. Huapaya J, Toro I. Efecto inhibitor del extracto etanólico de *Cyperus rotundus* (piripiri) sobre la contractibilidad de la fibra uterina in vitro en ratas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
49. Montero M, Vayas L, Avilés D, Pazmiño P, Erazo V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*. Rev Inv Vet Perú. 2018; 29(4):1543-7.

IX.ANEXOS

ANEXO 1

El tamaño muestral fue determinado mediante la fórmula estadística de comparación de dos medias en base a los datos obtenidos en la prueba piloto

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

Donde:

- ▶ n = sujetos necesarios en cada una de las muestras
- ▶ Z_{α} = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- ▶ Z_{β} = Valor Z correspondiente al riesgo deseado
- ▶ S^2 = Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control o de referencia.
- ▶ d = Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar (datos cuantitativos)

$$n = \frac{2 * (1.96 + 1.96)^2 * 1.50}{2.15^2}$$

$$n = 9.97$$

$$n \approx 10$$

ANEXO 2



VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA Nº 062-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa), recibida de **ROSITA BELÉN BAZÁN ALIAGA** estudiante de la Universidad Científica del Sur, Facultad de Estomatología, ha sido estudiada y clasificada como: ***Cyperus rotundus L.***; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUB CLASE: COMMELINIDAE

ORDEN: CYPERALES

FAMILIA: CYPERACEAE

GENERO: *Cyperus*

ESPECIE: *Cyperus rotundus L.*

NC: "Cípero"
Determinado por: Mag. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente.

Lima, 14 de marzo de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

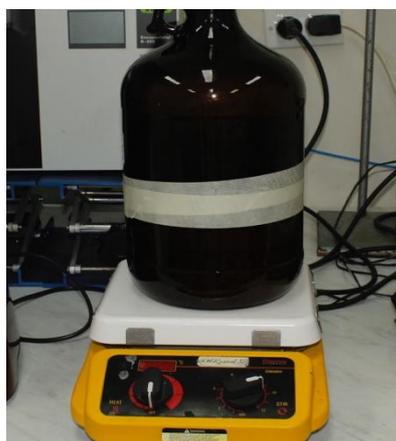
ANEXO 3



ANEXO 4



ANEXO 5

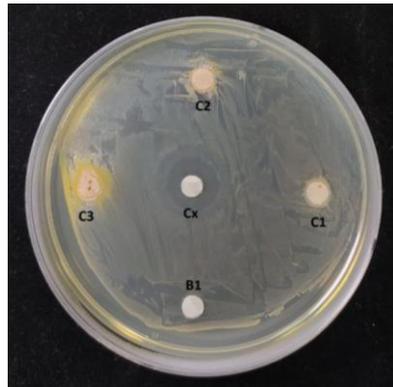
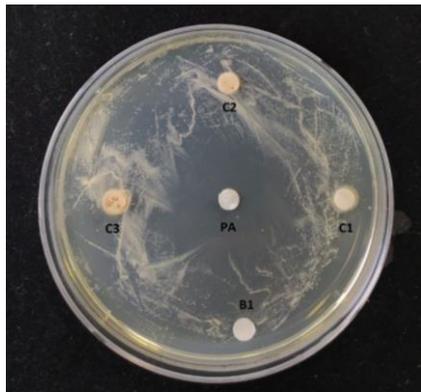




ANEXO 6

Candida albicans

Streptococcus mutans



ANEXO 7

Streptococcus mutans

Planta	Concentración del extracto en mg/ml	Replicaciones Diámetro del halo de inhibición(mm)										Control +	Control -	Promedio de diámetro de halos de inhibición	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Clorhexidina al 0.12%	DMSO		
Extracto etanólico de <i>Cyperus rotundus</i>	250														
	500														
	1000														

Candida albicans

Planta	Concentración del extracto en mg/ml	Replicaciones Diámetro del halo de inhibición(mm)										Control +	Control -	Promedio de diámetro de halos de inhibición	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Paramonoclorofenol Alcanforado	DMSO		
Extracto etanólico de <i>Cyperus rotundus</i>	250														
	500														
	1000														

CONSTANCIA

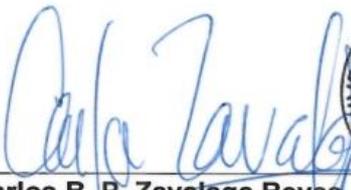
Por medio de la presente, dejo constancia que los señores:

- Angela Quispe Salcedo (investigador principal).
- Lourdes Rosa Chiok Ocaña (coinvestigador).
- Elba Estefanía Martínez Cadillo (coinvestigador).
- Victor Elmo García Miranda (coinvestigador).
- Gilmer Vera Maldonado (tesista - posgrado).
- Rosita Belén Bazán Aliaga (tesista - pregrado).

Resultaron ganadores del **Concurso de Proyectos de Investigación Docente “Fondo Semilla 2019”** con el proyecto: **“Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana de dos aceites esenciales extraídos de plantas medicinales peruanas frente a dos patógenos prevalentes en infecciones radiculares persistentes”**. Dicho concurso concede un fondo de hasta s/15 000 (quince mil soles) para la ejecución del proyecto de investigación.

Se expide el presente documento a solicitud de la parte interesada, para los fines que juzgue conveniente.

Lima, 28 de marzo de 2019




Carlos B. P. Zavalaga Reyes, PhD.
 Director General de Investigación,
 Desarrollo e Innovación
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



CONSTANCIA N° 035-CIEI-CIENTÍFICA-2020

El presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Científica del Sur (CIEI-CIENTÍFICA) da constancia que el proyecto de investigación, cuyos datos se registran a continuación, ha sido **aprobado** por el CIEI-CIENTÍFICA.

Código de registro: **492-2019-PRES**

Título: **Actividad inhibitoria del extracto etanólico del *Cyperus rotundus* procedente de la región de Cajamarca (provincia de Contumazá) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. Estudio in vitro**

Investigador(a): **Rosita Belén Bazán Aliaga**

La aprobación del proyecto de investigación implica que el documento presentado a evaluación cumple con los lineamientos de Universidad en materia de investigación y ética, los cuales se sustentan en la normativa internacional vigente.

En tal sentido, esta aprobación carecerá de valor si es que el proyecto de investigación arriba indicado es modificado de cualquier forma. Toda enmienda, añadido, eliminación o eventualidad (eventos adversos, etc.) posterior a la fecha de aprobación debe ser reportado al CIEI-CIENTÍFICA.

La vigencia de la aprobación de este documento es de dieciocho (18) meses (**hasta el 4 de agosto del 2021**), periodo en el que puede desarrollarse el proyecto. Cualquier trámite para su renovación deberá ser enviado antes del término de la vigencia de este documento, debiendo suspenderse todo desarrollo hasta que la renovación sea aprobada.

Villa El Salvador, 05 de febrero de 2020




Méd. Fernando M. Runzer Colmenares
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación