



EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Cuminum cyminum* SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175




IN VITRO ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF *Cuminum cyminum* ON *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Yuri Curo Valdivia ^{1,2*}, Yuri Curo Vallejos ³, Rosa Basauri Esteves ¹

¹ Facultad de Estomatología, Clínica Estomatológica - Universidad Nacional de Trujillo, Elías Aguirre 560, Moche, Perú.

² Facultad de Estomatología Roberto Beltrán, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Gral. Salaverry 2475 - San Isidro, Lima, Perú.

³ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n - Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

Yuri Curo Valdivia:  <https://orcid.org/0000-0003-4572-2712>
Yuri Curo Vallejos:  <https://orcid.org/0000-0002-9734-5173>
Rosa Basauri Esteves:  <https://orcid.org/0000-0001-5517-1702>

Artículo original

Recibido: 4 de agosto 2022

Aceptado: 26 de diciembre 2022

Resumen

La caries dental actualmente es una de las enfermedades con más alta prevalencia y foco de investigación en salud pública, uno de los principales organismos involucrados es el *Streptococcus mutans*. Ante ello el *Cuminum cyminum* (comino) presenta compuestos activos con propiedades antimicrobianas que sugieren su potencial para el tratamiento de la caries dental de manera menos tóxica que los productos comerciales actuales, los cuales pueden producir efectos secundarios. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *C. cyminum* a concentraciones del 5%, 10% y 20% con sus diluciones al 25%, 50% y 75% cada una, sobre una cepa de *S. mutans*. Se realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión de discos de Kirby Bauer y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria mediante el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Los resultados demostraron que la concentración del 20% del extracto etanólico diluido al 50% y 75% fue muy sensible, mientras que el extracto puro fue sumamente sensible contra *S. mutans*. La concentración mínima inhibitoria para inhibir toda la cepa de *S. mutans* ATCC 25175 fue la concentración del 20% diluida al 25%. Las concentraciones del 5% y 10% no inhibieron completamente la cepa de *S. mutans* ATCC 25175 en ninguna de sus diluciones. En conclusión, los extractos de comino mostraron un efecto antibacteriano in vitro sobre *S. mutans* ATCC 25175, siendo el extracto con una concentración del 20% el más efectivo y su dilución al 25% la concentración mínima inhibitoria de todas las diluciones evaluadas.

Palabras clave: agente antibacteriano, comino, in vitro, *Streptococcus mutans*

Abstract

Dental caries is currently one of the diseases with the highest prevalence and focus of research in public health, one of the main organisms involved is *Streptococcus mutans*. In this regard, *Cuminum cyminum* (cumin) has active compounds with antimicrobial properties that suggest its potential for the treatment of dental caries in a less toxic way than current commercial products, which can produce side effects. The objective of this study was to evaluate the in vitro antibacterial effect of *C. cyminum* ethanolic extract at concentrations of 5%, 10%, and 20% with their dilutions at 25%, 50%, and 75% each, on a strain of *S. mutans*. Susceptibility testing was performed using the Kirby Bauer disc diffusion method, and the Minimum Inhibitory Concentration was determined by colony-forming unit (CFU) counting. The results showed that the 20% concentration of ethanolic extract diluted at 50% and 75% was very sensitive, while the pure extract was extremely sensitive against *S. mutans*. The minimum inhibitory concentration to inhibit the entire *S. mutans* ATCC 25175 strain was the 20% concentration diluted at 25%. The 5% and 10% concentrations did not completely inhibit the *S. mutans* ATCC 25175 strain at any of their dilutions. In conclusion, cumin extracts showed an in vitro antibacterial effect on *S. mutans* ATCC 25175, with the 20% concentration extract being the most effective and its 25% dilution being the minimum inhibitory concentration of all the evaluated dilutions.

Keywords: antibacterial agent, cumin, in vitro, *Streptococcus mutans*

*Autor para correspondencia: mat2192@hotmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2022.42.02.11>

Citar como:

Curo, Y., Curo, Y., & Basauri, R. 2022. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Cuminum cyminum* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. REBIOL, 42(2): 167-175.



1. Introducción

La caries es una enfermedad dental de alta prevalencia y uno de los mayores problemas de salud pública. Los principales microorganismos involucrados en la caries son *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. y *Actinomyces* sp. (Joaquín et al., 2001; Palomer, 2006) El *S. mutans*, el principal involucrado, presenta diferentes características que son determinantes en su carcinogenicidad, entre éstas tenemos: la producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa, en especial los glucanos insolubles que son muy importantes en la colonización y mantenimiento de esta bacteria sobre el diente (Loesche, 1986). Posee elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y congregación; la producción y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que le permite obtener energía y producir ácido durante largos períodos de tiempo; además de un rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos, poder acidógeno, acidófilo y acidúrico, también, puede conseguir un pH crítico para la desmineralización del esmalte más rápidamente que otro microorganismo de la placa, iniciando de esta manera el proceso de la enfermedad (Shayegh et al., 2008; Golestannejad et al., 2015; Machiulskiene et al., 2020).

A pesar de que se han implementado métodos preventivos para reducir la prevalencia de la caries, muchos de estos métodos utilizan productos comerciales que pueden producir efectos secundarios (Escobar, 2004; Moreno & Lara, 2020). Sustancias como el gluconato de clorhexidina que son efectivas en la inhibición del crecimiento del *S. mutans*, pueden producir efectos tóxicos locales como tinción de dientes y obturaciones, pigmentación del dorso de la lengua y con menor frecuencia, descamación de la mucosa bucal, gusto amargo o modificación gustativa, sensación de quemadura, sequedad bucal e inflamación ocasional y transitoria de la parótida (Camejo, 1999; Herrera et al., 2001; Bascones, 2006). Por esta razón, se han realizado estudios que evalúan la actividad antibacteriana de plantas para encontrar alternativas menos tóxicas para la prevención y tratamiento de la caries dental (Díaz & Moromi, 2005; Perez, 2013; Mathur et al., 2018).

La fitoterapia o terapia empírica con plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades ha planteado la necesidad de estudiarlas en el marco del rigor científico (Díaz & Moromi, 2005; Golestannejad et al., 2015; Mathur et al., 2018; Gonzales-Orbegoso, 2021). Se han descubierto principios activos de naturaleza antimicrobiana y antifúngica en diversas plantas, incluyendo el *Cuminum cyminum* (comino) la cual, debido a su presencia de compuestos activos como aldehído cumínico, terpenos, flavonoides, derivados del luteolol y apigenol, presentan propiedades antimicrobianas que sugieren su potencial para el tratamiento de la caries dental (De et al., 2003; Shayegh et al., 2008; Golestannejad et al., 2015; Wongkattiya et al., 2019; Tanhaeian et al., 2020).

Este estudio se centra en evaluar el potencial antibacteriano del *C. cyminum*, planta cuyos estudios realizados en diversos países han demostrado su potencial para presentar actividad antibacteriana en una amplia gama de bacterias (De et al., 2003; Pai et al. 2010; Rea-Varela, 2011). El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de *C. cyminum* sobre una cepa de *S. mutans* para el control de la caries dental.

2. Materiales y Métodos

El presente estudio con diseño experimental "In Vitro" de tipo transversal fue llevado a cabo en los laboratorios de Farmacia y Microbiología-Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. Se analizó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *C. cyminum* en concentraciones al 5%, 10% y 20% con sus diluciones al 25%, 50% y 75%, sobre la bacteria *S. mutans*. Para la ejecución, se tuvo en cuenta los principios de bioseguridad del ambiente del trabajo (U.S. Department of Health and Human Services, 2017) y fue aprobada finalmente por el comité permanente de investigación de la Facultad de Estomatología de la Universidad Nacional de Trujillo.

La población de estudio estuvo conformada por un total de 195 placas Petri sembradas con *S. mutans* ATCC 25175: Para la prueba de susceptibilidad se utilizaron 39 placas distribuidas en 3 placas por dilución de cada concentración de *C. cyminum*, incluyendo las concentraciones puras y 3 placas adicionales como control. Para determinar la concentración mínima inhibitoria se utilizaron 156 placas distribuidas en 12 placas por dilución de cada concentración de *C. cyminum* incluyendo las concentraciones puras y 12 placas adicionales como control.

Para el cálculo del número de observaciones, se asumió las exigencias del 90% de confianza ($\alpha=0,10$ $Z=1,64$), una potencia de la prueba del 80% ($\beta= 0,20$; $Z=0,84$) y un cociente de DE/d=1,00; obteniéndose un total de 12 observaciones por dilución de cada concentración del extracto etanólico de *C. cyminum*.

Se estudiaron las placas Petri utilizando el medio de cultivo adecuado y extracto etanólico en su concentración y dilución correspondientes. Se midieron los halos de inhibición formados para determinar la susceptibilidad del extracto contra el *S. mutans* ATCC 25175, y se estudió el crecimiento bacteriano de cada dilución y concentración para determinar la concentración mínima inhibitoria. Las placas Petri que presentaron algún tipo de contaminación después de la incubación fueron descartadas.

Obtención del extracto etanólico de *Cuminum cyminum*

Los frutos de *C. cyminum* fueron obtenidos en un mercado conocido de la ciudad de Trujillo, Perú. Se pesó 5g, 10g y 20g del fruto triturado, posteriormente se vertió cada pesaje en un matraz de 250 ml. de capacidad. Los matraces se humectaron con etanol de 50° por 60 segundos. Luego, se vertió etanol de 50° a los matraces hasta completar 100mL, obteniéndose extractos del fruto triturado de *C. cyminum* al 5%, 10% y 20%. Se dispensaron en diferentes envases sellados y se rotuló cada sustancia, dejando en maceración por 8 días, con agitación cada 4 horas. Pasado el tiempo establecido, se filtró cada uno utilizando una bomba al vacío. El filtrado se dejó reposar en refrigeración por 3 días, observando que no haya precipitado. Finalmente se envasaron los tres extractos etanólicos en frascos de color ámbar estériles y se rotularon nuevamente.

Obtención de las diluciones del extracto etanólico de *Cuminum cyminum*

Se prepararon 3 diluciones al 75%, 50% y 25% respectivamente, de los tres extractos etanólicos de *C. cyminum* al 5%, 10% y 20% utilizando etanol de 50° como diluyente; obteniendo así, un total de 9 diluciones pertenecientes a los subgrupos de estudio. Dichas diluciones se conservaron a 4°C para el posterior estudio bacteriológico (Fig. 1).



Figura 1. Extractos etanólicos de *Cuminum cyminum* y sus diluciones al 25%, 50% y 75%.

Obtención, preparación y sembrado de la cepa de estudio

La cepa *S. mutans* ATCC 25175 fue obtenida del cepario del Laboratorio de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. Esta fue cultivada en tubos de ensayo con tapa rosca conteniendo el medio Soya tripticasa, incubándose a 37°C con el fin de obtener colonias jóvenes. Se hizo el sembrado en placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton, utilizando un hisopo

embebido de la cepa cultivada distribuyéndolo uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 30 grados por 10 veces aproximadamente. Las placas recién sembradas fueron colocadas dentro de una estufa a 37°C en micro anaerobiosis durante 24 a 48 horas en jarra Gas-Pak.

Prueba de sensibilidad

Para la determinación del efecto antibacteriano se utilizó el método de difusión en discos de Kirby y Bauer (Herrera, 1999; Rojas et al., 2005). Se prepararon discos de papel de filtro estériles de 5 mm de diámetro, los cuales fueron sumergidos dentro de 1ml de cada dilución de los extractos de *C. cyminum*, luego con una aguja estéril éstos fueron colocados sobre los cultivos de *S. mutans* ATCC 25175 en placas Petri con agar Mueller Hinton previamente preparados. De la misma forma se procedió con los extractos al 100% y en las placas destinadas al grupo control donde se utilizó Etanol de 50° (Fig. 2). Posteriormente las placas se incubaron a 37°C en micro anaerobiosis utilizando la Jarra Gas-Pack. La lectura se llevó a cabo a las 24 horas, luego se midieron en milímetros los diámetros de los halos de susceptibilidad de cada muestra, incluyendo el área del disco de papel de filtro, con una regla milimetrada y registrando cada medición. Las lecturas de cada halo fueron registradas en una ficha de recolección de datos donde se consignaba cada dilución y extracto correspondiente con el número de observaciones a medir. La medición se determinó siguiendo la escala de Duraffourd (Duraffourd et al. 1983; Rojas et al., 2005), que es utilizada para determinar cualitativamente si existió efecto inhibitorio in vitro, consignándose que si el diámetro de los halos era menor a 8 mm el efecto sería nulo, mientras que si el diámetro fuera entre 8 a 14 mm tendría sensibilidad, si estuviera entre 15 mm y 20 mm sería muy sensible y si el diámetro fuera mayor a 20 mm este sería sumamente sensible.

Concentración mínima inhibitoria

Se determinó por el método de diluciones en tubos (Herrera, 1999; Rojas et al., 2005), para lo cual se utilizaron las 9 diluciones obtenidas para la prueba con la bacteria preparada previamente, las cuales se colocaron en tubos de ensayo rotulados según el subgrupo al que pertenecen luego, se colocó 0,1 ml de la cepa diluida en tioglicolato en cada uno de los tubos, agitándolos para uniformizarlos. Los tubos fueron colocados en la Jarra Gas-Pack, utilizando el método de la vela, por el cual se obtuvo un ambiente aproximado de 5 a 10 % de CO₂ por 24 horas; posteriormente se colocaron las jarras en la estufa a 37 °C por 24 horas. Del mismo modo se procedió para los extractos al 100% y el grupo control. Para determinar las cuentas viables, se sembró 0,1 ml de solución de cada uno de los tubos en placas Petri con siembra de la cepa estudiada, utilizando el asa de Drigalsky para dispersar la muestra, dichas placas fueron colocadas en la Jarra Gas-Pack por el método

de la vela. Después de 24 horas de incubación a 37 °C se procedió a la observación del crecimiento bacteriano mediante el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), considerando la acción inhibitoria a la concentración en la cual no se observaron el crecimiento de UFC siendo esta "efectiva" mientras que las demás se les consideró "no efectivas" (Herrera, 1999; Rojas et al., 2005).

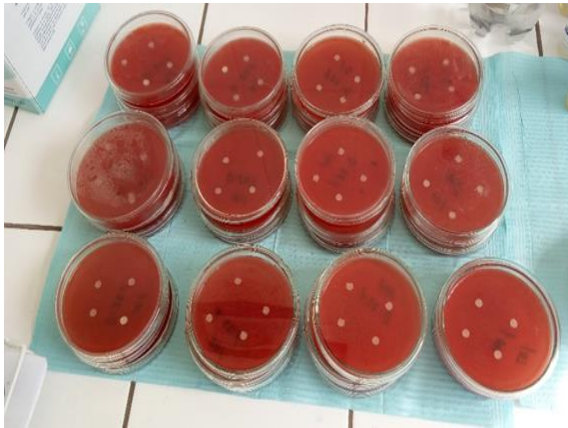


Figura 2. Placas Petri con discos estériles embebidos a la concentración de 5%, 10% y 20% de extracto etanólico de *Cuminum cyminum* a las diluciones de 25%, 50% y 75 %.

3. Resultados

Las concentraciones del extracto etanólico de *C. cyminum* en sus concentraciones al 5% y 10% fueron sensibles frente al *S. mutans* ATCC 25175 con promedios de halo de inhibición de $9,52 \pm 2,10$ mm y $11,93 \pm 3,04$ respectivamente, mientras que la concentración al 20% resultó muy sensible con un

Análisis estadístico

Los datos consignados en las correspondientes fichas de recolección de datos fueron procesados de manera automatizada gracias al paquete estadístico SPSS-22 para luego presentar los resultados en cuadros estadísticos de contingencia. Dentro del análisis estadístico inferencial, para la prueba de susceptibilidad se hizo uso de la prueba F del análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente al azar con dos factores, la concentración del extracto y la dilución para cada concentración, considerando que existe diferencia estadística significativa si la probabilidad de equivocarse es menor al 5% ($p < 0,05$) y la prueba de Duncan la cual compara parejas de combinaciones. Para determinar la significancia estadística en las concentraciones mínimas inhibitorias se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para poder complementar el análisis se utilizó la Prueba Mann-Whitney ajustado al Test de Tukey para la comparación de pares de grupo cuando los datos son no paramétricos.

promedio de $15,95 \pm 4,25$ mm. Al comparar simultáneamente todas las concentraciones mediante la prueba F de ANOVA, se encontró una diferencia estadística altamente significativa ($p < 0,01$) y realizando el test post hoc de Duncan para comparar parejas de concentraciones se confirmó las diferencias estadísticas entre cada concentración (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Cuminum cyminum* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, evaluado en función de la concentración y sus diámetros promedio del halo de inhibición

| Indicador | Concentraciones | | | |
|--------------------------|-------------------|------------------------|------------------|------------------|
| | Etanol 50° | 5% | 10% | 20% |
| Diámetro de Halo | Sensibilidad Nula | Sensible | Sensible | Muy Sensible |
| $\bar{x} \pm DE$ (mm) | $5,00 \pm 0,00$ | $9,52 \pm 2,10$ | $11,93 \pm 3,04$ | $15,95 \pm 4,25$ |
| Prueba F* | | F = 305,16 p < 0,01 | | |
| Duncan** | a | b | c | d |

*: Prueba F de ANOVA que compara simultáneamente todas las concentraciones

** : Prueba post hoc de Duncan que compara parejas de concentraciones. Las concentraciones con la misma letra no difieren estadísticamente.

Al evaluar los promedios de los halos de cada dilución por concentración, se encontró que los extractos al 5%, a excepción de la dilución al 25% que presentaba sensibilidad nula, en todas sus demás diluciones y los extractos al 10% diluidos al 75%, 50% y 25% mostraban tener sensibilidad a diferencia del control que fue Etanol al 50° el cual tuvo sensibilidad nula (promedio de halo $5,00 \pm 0,00$ mm), sin embargo, el extracto al 10% puro mostró ser muy sensible con un promedio de halo de $16,67 \pm 2,27$ mm. Asimismo, el promedio de los halos del extracto al 20% diluido al 25% resultó ser sensible, mientras que la dilución al 50% y 75% mostraron ser muy sensibles con un promedio de $15,42 \pm 0,67$ mm y $15,04 \pm 0,54$ mm respectivamente. Por otro lado, el extracto al 20% puro demostró ser sumamente sensible al contar con un promedio de $22,08 \pm 2,87$ mm. Al realizarse la prueba F de ANOVA se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los promedios encontrados, mientras que al realizar el test post hoc de Duncan se encontró que no existían diferencias entre los promedios del extracto puro al 5% con las diluciones al 75%, 50% y

25% del extracto etanólico al 10%, mientras que el promedio de los halos de este extracto en su forma pura (100%) era diferente significativamente que los demás extractos, así mismo el extracto al 20% en su forma pura fue diferente estadísticamente a los otros extractos y sus diluciones ($p < 0,01$) (Tabla 2). En relación a la concentración mínima inhibitoria, los promedios de las concentraciones de los extractos etanólicos al 5%, 10% y 20% fueron de $286,6 \pm 262,5$ UFC, $286,6 \pm 262,5$ UFC y $0,00 \pm 0,00$ UFC respectivamente, siendo esta última concentración efectiva al no encontrarse unidades formadoras de colonia en las placas Petri, mientras que el control por Etanol a 50° presentó $2495 \pm 666,8$ UFC. Al realizar la prueba estadística de Kruskal-Wallis que compara simultáneamente todas las concentraciones se encontró diferencias estadísticamente significativas y utilizando el test post hoc de la prueba Mann-Whitney ajustado al test de Tukey demostró que la concentración de UFC en cada extracto es significativamente diferente (Tabla 3).

Tabla 2. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Cuminum cyminum* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, evaluado en función de cada concentración con su dilución y sus diámetros promedio del halo de inhibición

| % Concentraciones | | % Diluciones | $\bar{x} \pm DE$ (mm) | Prueba F* | Duncan** |
|-------------------|--------------------|--------------|-----------------------|------------------------|----------|
| Etanol 50° | Sensibilidad Nula | 0 | $5,00 \pm 0,00$ | F = 144,98 p < 0,01 | a |
| 5 | Sensibilidad Nula | 25 | $7,12 \pm 0,64$ | | b |
| | Sensible | 50 | $8,42 \pm 0,95$ | | c |
| | Sensible | 75 | $11,75 \pm 1,42$ | | f |
| | Sensible | 100 | $10,79 \pm 0,89$ | | d e f |
| 10 | Sensible | 25 | $9,88 \pm 0,74$ | | d |
| | Sensible | 50 | $10,50 \pm 0,67$ | | d e |
| | Sensible | 75 | $10,67 \pm 0,54$ | | d e f |
| | Muy Sensible | 100 | $16,67 \pm 2,27$ | | h |
| 20 | Sensible | 25 | $11,25 \pm 1,41$ | | e f |
| | Muy Sensible | 50 | $15,42 \pm 0,67$ | | g |
| | Muy Sensible | 75 | $15,04 \pm 0,54$ | | g |
| | Sumamente Sensible | 100 | $22,08 \pm 2,87$ | | i |

*: Prueba F de ANOVA que compara simultáneamente todas las combinaciones

** : Prueba post hoc de Duncan que compara parejas de combinaciones. Las combinaciones con la misma letra no difieren estadísticamente

Al evaluar las concentraciones de los extractos de *C. cyminum* por sus diluciones específicas, se demostró que las concentraciones de 5% y 10% no inhiben por completo la cepa de *S. mutans* ATCC 25175. El extracto etanólico al 5% obtuvo un promedio de UFC del *S. mutans* ATCC 2517 el cual fue al 25% de $448,8 \pm 270,8$ UFC, al 50% de $348,8 \pm 346,5$ UFC, al 75% de $248,8 \pm 114,5$ UFC y al 100% (extracto puro) de $100,0 \pm 123,9$ UFC. El extracto etanólico al 10% obtuvo un promedio de UFC del *S. mutans* el cual fue al 25% de $25,00 \pm 47,15$ UFC, al 50% de $13,75 \pm 43,12$ UFC, al 75% de $13,75 \pm 43,12$ UFC y al 100% (extracto puro) de $13,75 \pm 43,12$ UFC. El extracto etanólico al 20% obtuvo un promedio de UFC del *S. mutans* el cual fue en todas

sus diluciones y extracto puro de $0,00 \pm 0,00$ UFC, así mismo la prueba Kruskal Wallis y la prueba de Mann Whitney ajustado al test de Tukey demostraron que existía diferencia significativamente estadística ($p < 0,01$) entre la concentración al 5% y sus diluciones con las concentraciones al 10% y 20% con sus respectivas diluciones y que entre ellas no hubo diferencia significativamente estadística. Sin embargo, la concentración mínima para inhibir toda la cepa de *S. mutans* ATCC 2517 fue la dilución al 25% del extracto al 20% de *C. cyminum* al ser la primera muestra en no mostrar crecimiento bacteriano (UFC) (Tabla 4).

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro mediante UFC según concentraciones de extracto etanólico de *Cuminum cyminum* sobre *Streptococcus mutans* ATC 2517507

| Indicador | Concentraciones | | | |
|------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| | Etanol 50° | 5% | 10% | 20% |
| N° UFC | No efectiva | No efectiva | No efectiva | Efectiva |
| $\bar{x} \pm DE$ (UFC) | $2495,0 \pm 666,8$ | $286,6 \pm 262,5$ | $14,68 \pm 37,83$ | $0,00 \pm 0,00$ |
| Prueba K-W* | K-W = 113,43 | | p < 0,01 | |
| Prueba M-W** | a | b | c | d |

*: Prueba Kruskal-Wallis que compara simultáneamente todas las concentraciones

** : Prueba Mann-Whitney ajustado al Test de Tukey que compara parejas de concentraciones. Las parejas de concentraciones con la misma letra no difieren estadísticamente.

Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria in vitro mediante UFC según combinación de concentraciones y diluciones de extracto etanólico de *Cuminum cyminum* sobre *Streptococcus mutans* ATC 2517507

| % Concentraciones | | % Diluciones | $\bar{x} \pm DE$ (UFC) | Prueba K-W* | Prueba M-W** | |
|-------------------|-------------|--------------|------------------------|------------------------|-------------------|----|
| Etanol 50° | No efectiva | 0 | $2495 \pm 666,8$ | K-W=119,31 p < 0,01 | a | |
| | 5 | No efectiva | 25 | | $448,8 \pm 270,8$ | a |
| | | No efectiva | 50 | | $348,8 \pm 346,5$ | ab |
| | | No efectiva | 75 | | $248,8 \pm 114,5$ | ab |
| | | No efectiva | 100 | | $100,0 \pm 123,9$ | b |
| 10 | No efectiva | 25 | $25,00 \pm 47,15$ | | d | |
| | No efectiva | 50 | $13,75 \pm 43,12$ | | d | |
| | No efectiva | 75 | $18,75 \pm 41,02$ | | d | |
| | No efectiva | 100 | $1,25 \pm 4,33$ | | d | |
| 20 | Efectiva | 25 | $0,00 \pm 0,00$ | | d | |
| | Efectiva | 50 | $0,00 \pm 0,00$ | | d | |
| | Efectiva | 75 | $0,00 \pm 0,00$ | | d | |
| | Efectiva | 100 | $0,00 \pm 0,00$ | | d | |

*: Prueba Kruskal-Wallis que compara simultáneamente todas las combinaciones

** : Prueba Mann-Whitney ajustado al Test de Tukey que compara parejas de combinaciones. Las parejas de combinaciones con la misma letra no difieren estadísticamente.

4. Discusión

Se ha demostrado que muchas plantas contienen principios activos con propiedades antimicrobianas útiles en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades (Liu et al., 2017). En el ámbito de la odontología, estos principios activos se han utilizado en tratamientos preventivos y curativos en forma de enjuagues, pastas dentales y cremas, entre otros. Además, varios estudios han evaluado la actividad antimicrobiana de plantas medicinales específicas, como la *C. cyminum* y otras, y han encontrado resultados prometedores en la inhibición del crecimiento de microorganismos causantes de enfermedades dentales (Kaushik et al., 2016; Tanhaeian et al., 2020). El presente estudio "in vitro" buscó evaluar el efecto antibacteriano de tres extractos etanólicos de *C. cyminum* con concentraciones de 5%, 10% y 20% sobre una cepa estándar de *S. mutans* ATCC 25175. En el estudio se encontró que todos los extractos y diluciones de *C. cyminum* presentaron actividad antibacteriana siendo el pico más alto el extracto al 20% puro donde su diámetro de halo de inhibición fue de 22,08 mm, el cual demuestra que el extracto es sumamente sensible; esto demuestra que, a mayor concentración del extracto mayor es la medida de halo de inhibición y, por consiguiente, mayor es la susceptibilidad bacteriana sobre el crecimiento de *S. mutans*. Además, el extracto etanólico de 20% diluido al 25% presentó la concentración mínima inhibitoria, ya que no se encontraron UFC en las placas Petri estudiadas a partir de esta combinación, lo que sugiere que la inhibición fue efectiva. Sin embargo, se observó algún efecto inhibitorio en todas las concentraciones evaluadas en comparación con el control, ya que el promedio de UFC de todas las muestras fue menor a 500 UFC, mientras que el control, representado por etanol a 50°, tuvo un promedio de 2495 UFC.

Se ha informado en la literatura científica que el principal componente del *C. cyminum* con efecto antibacteriano es el cuminaldehído, el cual se puede extraer a través de métodos como el extracto etanólico y el aceite esencial. Según estudios, el cuminaldehído presenta actividad inhibitoria contra diversas bacterias grampositivas y gramnegativas, así como contra hongos y levaduras (Abbaszadegan et al., 2016; Kaushik et al., 2016; Liu et al., 2017; Tanhaeian et al., 2020). Dentro de este estudio, se sugiere que el extracto etanólico de *C. cyminum* posee propiedades antibacterianas debido a la presencia de cuminaldehído; además, se plantea la necesidad de investigaciones futuras para identificar los demás componentes activos del *C. cyminum* y su contribución al efecto antibacteriano a través de sus mecanismos de acción.

En el trabajo realizado por Shayegh et al. (2008), se tomaron extractos de aceites esenciales provenientes de los frutos de *C. cyminum* y *Mentha piperita*, estos demostraron que tenían eficacia altamente significativa ($p < 0,01$) contra cepas de *S. mutans* y *S. pyogenes*; además, los experimentos in vivo realizados en voluntarios hombres y mujeres que se cepillaron con pastas de dientes mezclados con estos aceites

esenciales indicaron que las concentraciones más bajas de los aceites, eran significativamente más altas ($p < 0,001$) y efectivas durante el curso del estudio en comparación al uso de productos con clorhexidina. Dentro de este estudio se concluye que estos aceites esenciales pueden ser una alternativa muy eficaz para prevenir la formación de biofilm, corroborando los resultados de esta investigación.

El trabajo realizado por Golestannejad et al. (2015), también hizo uso de aceites esenciales, los cuales fueron *Eucalyptus caesia*, *C. cyminum* y *Satureja hortensis* L. en el cual los resultados de este estudio demostraron que los tres aceites esenciales poseen actividad antibacteriana contra *S. mutans*. Según la aceptabilidad de estos aceites esenciales, se podrían utilizar para el tratamiento de afecciones por *S. mutans*, pero previamente tendrían que pasar por pruebas toxicológicas y ensayos clínicos.

Dentro de este estudio el efecto antibacteriano "in vitro" del *C. cyminum* sobre *S. mutans* ATCC 25175, es similar al que se ha obtenido en otras investigaciones sobre otras especies bacterianas e incluso el mismo *S. mutans*, a pesar de haberse utilizado aceite esencial en dichas investigaciones pero afirmando que el compuesto que produce este efecto antibacteriano es el cuminaldehído y este se puede extraer tanto por aceite esencial como por extracto etanólico debido a sus radicales que presenta su estructura (Abbaszadegan et al., 2016; Wongkattiyai et al., 2019). Lo que hace referir que el fruto de *C. cyminum* posee los componentes capaces para poder tener efecto antibacteriano ya sea en presentaciones como aceites esenciales o como extractos etanólicos, los cuales pueden ser usados en el campo de la prevención, siendo este tipo de investigaciones necesarias para proporcionar otras alternativas de tratamientos preventivos a nivel de salud general y en especial de salud oral, a la vez que estas alternativas resultan ser más económicas y saludables, dando a conocer de una manera científica a la población sobre las propiedades medicinales de esta planta.

Una de las limitaciones de este estudio fue que no se contó con una calibración intra-examinador que permita garantizar la consistencia y precisión de los datos recogidos. También, al ser un estudio "in vitro" es difícil poder extrapolar los resultados hacia futuros estudios "in vivo", debido a que pueden existir diversos factores que generen una variación en el efecto antibacteriano producido en la persona. Asimismo, es importante tener en cuenta que la actividad antibacteriana puede variar significativamente entre diferentes cepas de una misma especie bacteriana, por lo que los resultados de este estudio con una sola cepa no se pueden extrapolar a otras cepas de la misma especie o a otras especies bacterianas. Para mejorar los estudios futuros, se sugiere evaluar múltiples cepas bacterianas, incluir cepas resistentes, evaluar interacciones con otras sustancias, realizar pruebas de toxicidad, investigar mecanismos de acción y, por último, realizar estudios "in vivo". A pesar de ello, este estudio nos puede dar un marco de referencia para que sea posible la realización de próximos estudios que permitan resolver estos inconvenientes.

5. Conclusiones

El estudio evaluó el efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de comino (*Cuminum cyminum*) sobre la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175. En general, todos los extractos etanólicos presentaron efecto antibacteriano sobre esta bacteria. El extracto al 5% presentó sensibilidad en todas sus diluciones excepto en su dilución al 25% la cual fue nula, mientras que el extracto al 10% presentó sensibilidad en las diluciones al 25%, 50% y 75%, y fue muy sensible cuando fue evaluado al 100%. El extracto al 20% fue sensible en la dilución al 25%, muy sensible en la dilución al 50% y 75%, y sumamente sensible al 100%. Además, se encontró que la concentración mínima inhibitoria in vitro del extracto de comino sobre *S. mutans* ATCC 25175 fue la del extracto de 20% al 25% diluido. En resumen, los extractos de comino evaluados mostraron efecto antibacteriano in vitro sobre *S. mutans* ATCC 25175, siendo el extracto al 20% el más efectivo en las diluciones evaluadas.

6. Agradecimientos

Al profesor Luis Estrada Alva por su apoyo en el análisis estadístico de esta investigación, a la Dra. Elva Mejía Delgado por su apoyo en el procesamiento de las muestras en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo y a la Q.F. Katye Valdivia Oré por el apoyo con la logística de esta investigación y por su inestimable colaboración en la gestión de los materiales y recursos necesarios para llevarla a cabo.

7. Contribución de autores

Yuri Curo Valdivia: Concepción y el diseño del estudio, análisis y la interpretación de los datos

Yuri Curo Vallejos: Adquisición de los datos y revisión crítica del contenido intelectual.

Rosa Basauri Esteves: Revisión crítica del contenido intelectual y aprobación definitiva de la versión

8. Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés

9. Referencias Bibliográficas

Abbaszadegan, A., Gholami, A., Ghahramani, Y., Ghareghan, R., Ghareghan, M., Kazemi, A., Iraj, A., & Ghasemi, Y. (2016). Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Cuminum cyminum* as an Intracanal Medicament Compared to Chlorhexidine Gel. *Iran Endod J*, 11(1), 44-50.

Bascones, A., & Morante, S. (2006). Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia*, 18(1), 21-29.

Camejo, M. (1999). Sensibilidad in vitro de *Streptococcus mutans* a Sanguinaria, Compuesto fenólico y Clorhexidina. *Acta Odontol Venez*, 37(2), 33-7.

De, M., De, A., Mukhopadhyay, R., Banerjee, A., & Miro, M. (2003). Antimicrobial activity of *Cuminum cyminum* L. *Ars Pharmaceutica*, 44(3), 257-269.

Díaz, K., & Moromi, H. (2005). Determinación antibacteriana in vitro de *Mentostachys mollis* (Muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina*, 8(2), 3-5.

Durafford, C., & Lapraz, J. (1983). Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia.

Escobar, F. (2004). *Odontología Pediátrica*. Amolca.

Golestannejad, Z., Mohammadi, E., Motamedi, A., Gavanji, S., Fallah, N., Bagherie, S., Farzane, G., Safaripour, M., Vally, M., Mohammadi, M., & Bakhtari, A. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some herbal essential oils against *Streptococcus mutans*. *Advanced Herbal Medicine*, 1(3), 1-8.

Gonzales-Orbegoso, B. (2021). Efecto antibacteriano In Vitro del extracto Etanólico de Zingiber Officinale (Kion) frente a la Clorhexidina al 2% sobre cepas de Streptococcus Mutans Atcc 25175, Trujillo, año 2019. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista] Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Perú.

Herrera, D., Roldán, S., Santacruz, I., O'Connor, A., & Sanz-Alonso, M. (2001). Actividad antimicrobiana en saliva de cuatro colutorios con clorhexidina. *Periodoncia*, 11, 193-202.

Herrera, M. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 34, 33-41.

Joaquín, F. & Canseco, J. (2001). Caries dental. La enfermedad oculta. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 58(10), 673-6.

Kaushik, M., Reddy, P., Sharma, R., Udameshi, P., Mehra, N., & Marwaha, A. (2016). The Effect of Coconut Oil pulling on Streptococcus mutans Count in Saliva in Comparison with Chlorhexidine Mouthwash. *J Contemp Dent Pract*, 17(1), 38-41.

Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C. N., Tang, G. Y., & Li, H. B. (2017). Antibacterial and antifungal activities of spices. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1283.

Loesche, W. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*, 50, 353-80.

Machiulskiene, V., Campus, G., Carvalho, J., Dige, I., Ekstrand, K., Jablonski-Momeni, A., Maltz, M., Manton, D., Martignon, S., Martinez-Mier, E., Pitts, N., Schulte, A., Splieth, C., Andaló, L., Ferreira, A., & Nyvad, B. (2020). Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Research*, 54(1), 7-14.

Mathur, A., Gopalakrishnan, D., Mehta, V., Rizwan, S., Shetiya, S., & Bagwe, S. (2018). Efficacy of green tea-based mouthwashes on dental plaque and gingival inflammation: A systematic review and meta-analysis. *Indian Journal of Dental Research*, 29(2), 225-232.

Moreno, G., & Lara, L. (2020). Caries dental: de la placa ecológica a las decisiones clínicas. *Universidad Odontológica Moreno Abello*, G. 39.

Pai, M. B., Prashant, G. M., Murlikrishna, K. S., Shivakumar, K. M., & Chandu, G. N. (2010). Antifungal efficacy of Punica granatum, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 21, 334-336.

Palomer, L. (2006). Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. *Rev Chil Pediatr*, 77(1), 56-60.

Perez, S. (2013). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Stevia rebaudiana sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el grado de Bachiller en estomatología, Universidad Nacional de Trujillo, Perú].

Rea-Varela, V. (2011). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del Aceite Esencial de Comino (*Cuminum cyminum*) como Potencial

Bioconservador en la Carne de Trucha. [Tesis de grado para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador].

- Rojas, J. J., García, A. M., & López, A. J. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 4(2), 28-32.
- Shayegh, S., Rasooli, I., Taghizadeh, M., & AlipoorAstaneh, S. D. (2008). Phytotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque. *Natural Product Research*, 22(5), 428-439.
- Tanhaeian, A., Pourgonabadi, S., Akbari, M., & Mohammadipour, H. S. (2020). The effective and safe method for preventing and treating bacteria-induced dental diseases by herbal plants and a recombinant peptide. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 12(6), e523-e532.
- U.S. Department of Health and Human Services. (2017). *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (5th ed.). U.S. Government Printing Office.
- Wongkattiya, N., Sanguanserm Sri, P., Fraser, I. H., & Sanguanserm Sri, D. (2019). Antibacterial activity of cuminaldehyde on food-borne pathogens, the bioactive component of essential oil from *Cuminum cyminum* L. collected in Thailand. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 16(4), 20180195.