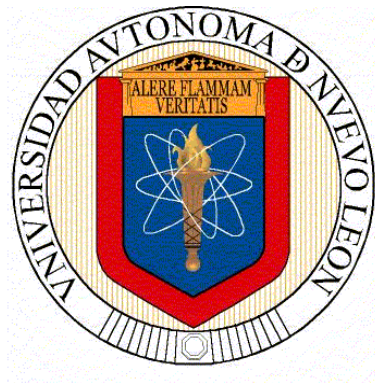


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



TESIS

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y ANTIHEMOLITICO
DE EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES FRENTE A
BACTERIAS CAUSANTES DE CARIES DENTAL.**

POR

FRIDA LILIANA MALDONADO RAMÍREZ.

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE ODONTOPEDIATRÍA**

NOVIEMBRE, 2025

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría.

POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y ANTIHEMOLITICO DE EXTRACTOS DE
PLANTAS MEDICINALES FRENTE A MICROORGANISMOS CAUSANTES DE CARIES
DENTAL.

FRIDA LILIANA MALDONADO RAMÍREZ.

Comité de examen de tesis.

Presidente.

Secretario.

Vocal.

Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría.

POTENCIAL ANTIBACTERIANO Y ANTIHEMOLITICO DE EXTRACTOS DE
PLANTAS MEDICINALES FRENTE A BACTERIAS CAUSANTES DE CARIES DENTAL.



TESISTA.

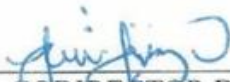
FRIDA LILIANA MALDONADO RAMÍREZ.

Comité de Tesis.



DIRECTOR DE TESIS.

OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS.



CODIRECTOR DE TESIS.

SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL.



ASESOR METODOLÓGICO.

LAURA ELENA VILLARREAL GARCIA.



DIRECTOR EXTERNO.

JOEL HORACIO ELIZONDO LUÉVANO.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo, la cual hizo posible el desarrollo de este proyecto de investigación.

A la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Dra. María Argelia Akemi Nakagoshi Cepeda, por abrirme las puertas y brindarme los conocimientos, la formación académica y las herramientas necesarias para mi desarrollo profesional.

A la Facultad de Agronomía y la Facultad de Ciencias Biológicas, por su invaluable colaboración y apoyo en la realización de este proyecto, aportando recursos y espacios que fueron fundamentales para el desarrollo de la investigación.

Al Posgrado de Odontopediatria de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por ser el espacio académico y clínico donde consolidé mis conocimientos y habilidades profesionales, así como por brindarme la oportunidad de crecer como odontopediatra.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios, por estar conmigo siempre, por bendecirme, cuidarme, darme salud, fuerza y por permitirme alcanzar esta meta tan importante en mi vida.

A mis padres Liliana Ramírez Castellanos y Javier Omar Maldonado Vega, por apoyarme en todo, por su amor incondicional, su paciencia y dedicación. Este logro también es suyo, porque sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

A mi hermano Javier Omar Maldonado Ramírez, por su apoyo y compañía en este camino, por motivarme en los momentos difíciles y por estar siempre presente con palabras de aliento.

A mi novio por caminar a mi lado en este recorrido lleno de retos y aprendizajes. Gracias por tu amor, tu confianza en mí y por nunca soltar mi mano, incluso cuando el cansancio y las dudas aparecían.

A mi asesora, Dra. Osvelia Esmeralda Rodríguez Luis, por su orientación, paciencia y dedicación en cada etapa de este trabajo, quien me brindó no solo orientación en la investigación, sino también confianza en mí misma.

A mi director externo, Dr. Joel Horacio Elizondo Luévano, por su apoyo y orientación durante el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. Marcela Montes Villarreal y la Dra. Hortencia Quintanilla Arreozola, coordinadoras del posgrado, por su compromiso y dedicación durante estos dos años de formación.

A todos mis maestros del posgrado, quienes con dedicación y entusiasmo me transmitieron no solo sus conocimientos, sino también valores y enseñanzas que llevaré conmigo más allá del ámbito académico. Su apoyo y ejemplo fueron fundamentales en este camino.

TABLA DE CONTENIDO.

Sección.

AGRADECIMIENTOS.....	4
LISTA DE TABLAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE GRAFICAS.....	11
NOMENCLATURA.....	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. HIPÓTESIS.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo general.....	18
3.2 Objetivos específicos.....	18
4. ANTECEDENTES.....	19
4.1 Caries dental.....	19
4.1.1 Caries de la infancia temprana	20
4.2 Herbolaria.....	21
4.2.1 Plantas medicinales	21
4.2.2 Grupos funcionales.....	22
4.2.3 <i>Cymbopogon citratus</i>	22
4.2.4 <i>Justicia spicigera</i>	23
4.3 Microbiota oral en el paciente pediátrico.....	24
4.3.1 Bacterias orales	25
4.3.2 <i>Streptococcus mutans</i>	26
4.3.3 <i>Streptococcus sobrinus</i>	26
4.3.4 <i>Streptococcus gordonii</i>	27
4.3.5 Taxonomía bacteriana.	28

4.4 Efecto antibacteriano.....	28
4.5 Productos actuales para el control de caries.....	29
4.6 Porcentaje de inhibición relativa.....	29
4.7 Hemolisis.....	30
4.8 Propiedades farmacológicas reportadas	30
4.8.1 <i>Cymbopogon citratus</i>	30
4.8.2 <i>Justicia spicigera</i>	31
5. MÉTODOS.....	32
5.1 Identificación taxonómica de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	32
5.2 Obtención de los extractos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	32
5.3 Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	33
5.4 Identificación morfológica y de Gram de las especies a estudio.....	34
5.5 Efecto inhibitorio de los extractos metanólicos y acuosos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i> contra las bacterias <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> y <i>Streptococcus gordonii</i> (ATCC) mediante la técnica de Kirby-Bauer y difusión en agar de pozo.....	35
5.5.1 Ensayo de Kirby-Bauer	35
5.5.2 Ensayo por difusión en agar en pozo	36
5.6 Identificación del porcentaje de inhibición relativa de los extractos metanólicos y acuosos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i> sobre las bacterias analizadas.....	37
5.7 Ensayo de hemolisis sobre eritrocitos humanos de los extractos metanólicos y acuosos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	38
5.8 Análisis de los resultados.....	40
6. RESULTADOS	41
6.1 Caracterización taxonómica de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	41

6.2 Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	41
6.3 Efecto inhibitorio de los extractos metanólicos y acuosos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i> contra las bacterias <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> y <i>Streptococcus gordonii</i> (ATCC) mediante la técnica de Kirby-Bauer y difusión en agar de pozo.....	42
6.4 Actividad hemolítica de los extractos acuosos y metanólicos de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	48
7. DISCUSIÓN.....	52
8. CONCLUSIÓN.....	55
9. REFERENCIAS	56

LISTA DE TABLAS.

Tabla.	Página.
Tabla 1. Taxonomía de <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> y <i>Streptococcus gordonii</i>	28
Tabla 2. Pruebas químicas	33
Tabla 3. Interpretación de porcentaje de efecto hemolítico.....	40
Tabla 4. Taxonomía de <i>Cymbopogon citratus</i> y <i>Justicia spicigera</i>	41
Tabla 5. Resultados de las pruebas fitoquímicas	41
Tabla 6. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto metanólico de <i>Cymbopogon citratus</i> contra <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i> (ATCC)	43
Tabla 7. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto acuoso de <i>Cymbopogon citratus</i> contra <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i> (ATCC)	44
Tabla 8. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto metanólico de <i>Justicia spicigera</i> contra <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i> (ATCC).....	46
Tabla 9. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto acuoso de <i>Justicia spicigera</i> contra <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i> (ATCC).....	47
Tabla 10. Ensayo del porcentaje de hemólisis de <i>Cymbopogon citratus</i> acuoso.	49
Tabla 11. Ensayo del porcentaje de hemólisis de <i>Cymbopogon citratus</i> metanólico, <i>Justicia spicigera</i> acuoso y metanólico.....	49

LISTA DE FIGURAS.

Figura.	Página.
Figura 1. <i>Cymbopogon citratus</i>	23
Figura 2. <i>Justicia spicigera</i>	24
Figura 3. Proceso para la obtención de extractos.....	32
Figura 4. Proceso de Tinción de Gram	34
Figura 5. Procedimiento para la técnica Kirby-Bauer	36
Figura 6. Procedimiento para técnica de difusión en agar con pozo	37
Figura 7. Fórmula de porcentaje de inhibición relativa.....	37
Figura 8. Distribución del ensayo de efecto hemolítico en microplaca	39
Figura 9. Fórmula de porcentaje de hemólisis.....	39
Figura 10. Identificación morfológica mediante tinción de Gram de las especies bacterianas en estudio.....	42

LISTA DE GRAFICAS.

Grafica.	Página.
Grafica 1. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto metanólico de <i>Cymbopogon citratus</i> frente a <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i>	43
Grafica 2. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto acuoso de <i>Cymbopogon citratus</i> frente a <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i>	45
Grafica 3. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto metanólico de <i>Justicia spicigera</i> frente a <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i>	46
Grafica 4. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto acuoso de <i>Justicia spicigera</i> frente a <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> y <i>S. gordonii</i>	48
Grafica 5. Los datos se muestran como media $\pm \sigma$ del porcentaje de hemólisis causado por el extracto acuoso de <i>Cymbopogon citratus</i>	50
Grafica 6. Los datos se muestran como media $\pm \sigma$ del porcentaje de hemólisis causado por el extracto metanólico de <i>Justicia spicigera</i> y el extracto acuoso de <i>Justicia spicigera</i>	51

NOMENCLATURA.

gr.	Gramos.
IR.	Inhibición relativa.
μL .	Microlitro.
μg .	Microgramo.
mg.	Miligramos.
ml.	Mililitro.
mm.	Milímetro.
nm.	Nanómetro
PBS	Solución salina amortiguada con fosfatos.
rpm.	Repeticiones por minuto.
σ .	Desviación estándar.
$\bar{x}$.	Media.

TESISTA: FRIDA LILIANA MALDONADO RAMÍREZ.
DIRECTOR DE TESIS: OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS.
CODIRECTOR DE TESIS: SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL.
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES
FRENTE A MICROORGANISMOS CAUSANTES DE CARIES DENTAL.**

RESUMEN.

INTRODUCCIÓN: La caries dental es una de las enfermedades bucales más comunes y prevalentes a nivel mundial, afectando a personas de todas las edades, su atención tardía trae como consecuencia la pérdida prematura de los dientes. **OBJETIVO:** El presente trabajo evaluó el potencial antibacteriano de extractos de plantas medicinales frente a microorganismos causantes de caries dental y su capacidad hemolítica en eritrocitos humanos. **METODOLOGÍA:** Se obtuvieron los extractos metanólico y acuoso de las plantas *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*, mediante el método Soxhlet, posteriormente se realizó el análisis fitoquímico preliminar mediante pruebas colorimétricas, siguiendo el protocolo de Martínez A. (2020). Se analizó la actividad antimicrobiana de los extractos mediante el ensayo de Kirby-Bauer y difusión de agar en pozo, se evaluaron distintas concentraciones sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii* (ATCC) y se determinó la capacidad de hemólisis sobre eritrocitos humanos siguiendo el protocolo de Álvarez J. (2024). **RESULTADOS:** Las pruebas fitoquímicas confirmaron la presencia de metabolitos secundarios en *Cymbopogon citratus* (carbohidratos, cumarinas, flavonoides y esteroides) y en *Justicia spicigera* (carbohidratos, cumarinas, quinonas y taninos). Los extractos metanólicos de *C. citratus* tuvieron la mayor actividad antibacteriana, con un 81.25 % de inhibición frente a *S. mutans*, seguido de *S. sobrinus* 70.58 % y *S. gordonii* 53.75 %, por otro lado, para *J. spicigera* fueron de 59.37%, 58.82% y 56.25% respectivamente. Los extractos acuosos presentaron inhibición moderada entre 59.37% y 33.12%. En las pruebas de hemólisis in vitro, los valores fueron bajos, lo que indica un perfil de seguridad favorable en eritrocitos humanos. **CONCLUSIONES:** Los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* demostraron actividad antibacteriana frente a *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii* (ATCC), destacando el extracto metanólico de *C. citratus* con la mayor eficacia. Las pruebas de hemólisis in vitro revelaron baja citotoxicidad en eritrocitos humanos. En conjunto, los resultados respaldan el potencial de ambas especies como alternativas naturales en la prevención de la caries dental.

Palabras clave: *Cymbopogon*, *Acantáceas*, Hemólisis, Fitoquímicos, Caries dental.

TESISTA: FRIDA LILIANA MALDONADO RAMÍREZ.
DIRECTOR DE TESIS: OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS.
CODIRECTOR DE TESIS: SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL.
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ANTIBACTERIAL AND ANTIHEMOLYTIC POTENTIAL OF MEDICINAL PLANT
EXTRACTS AGAINST BACTERIA CAUSING DENTAL CARIES.

ABSTRACT.

INTRODUCTION: Dental caries is one of the most common and prevalent oral diseases worldwide, affecting individuals of all ages; delayed treatment results in premature tooth loss. **OBJECTIVE:** This study evaluated the antibacterial potential of medicinal plant extracts against microorganisms responsible for dental caries and their hemolytic capacity in human erythrocytes. **METHODOLOGY:** Methanolic and aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* and *Justicia spicigera* were obtained using the Soxhlet method. Subsequently, preliminary phytochemical analysis was performed through colorimetric tests following the protocol of Martínez A. (2020). The antimicrobial activity of the extracts was analyzed using the Kirby–Bauer assay and agar well diffusion method. Different concentrations were evaluated against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, and *Streptococcus gordonii* (ATCC), and hemolytic capacity on human erythrocytes was determined following the protocol of Álvarez J. (2024). **RESULTS:** Phytochemical tests confirmed the presence of secondary metabolites in *Cymbopogon citratus* (carbohydrates, coumarins, flavonoids, and sterols) and in *Justicia spicigera* (carbohydrates, coumarins, quinones, and tannins). Methanolic extracts of *C. citratus* showed the highest antibacterial activity, with 81.25% inhibition against *S. mutans*, followed by *S. sobrinus* 70.58% and *S. gordonii* 53.75%. For *J. spicigera*, inhibition values were 59.37%, 58.82%, and 56.25%, respectively. Aqueous extracts showed moderate inhibition ranging from 59.37% to 33.12%. In vitro hemolysis assays revealed low values, indicating a favorable safety profile in human erythrocytes. **CONCLUSIONS:** Methanolic and aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* and *Justicia spicigera* demonstrated antibacterial activity against *S. mutans*, *S. sobrinus*, and *S. gordonii* (ATCC), with the methanolic extract of *C. citratus* showing the greatest efficacy. In vitro hemolysis tests revealed low cytotoxicity in human erythrocytes. Overall, the results support the potential of both species as natural alternatives in the prevention of dental caries. **Keywords:** *Cymbopogon*, *Acanthaceae*, Hemolysis, Phytochemicals, Dental Caries.

1.- INTRODUCCIÓN.

La caries dental es una de las enfermedades más comunes a nivel mundial, con una prevalencia del 60.7% en adultos y del 49% en niños, en México, su prevalencia alcanza hasta el 90%. Es una enfermedad de origen microbiano que afecta a los dientes, siendo el resultado de múltiples factores, la cual conlleva a la pérdida gradual de minerales.

Entre los principales microorganismos que participan en esta enfermedad se reporta el género de *Streptococcus*, los cuales metabolizan los azúcares de la dieta para producir ácido láctico u otros ácidos orgánicos asociados a la formación de las lesiones cariosas.

Los tratamientos convencionales para la caries dental están basados en agentes antimicrobianos y fluorados que han mostrado eficacia, pero también limitaciones relacionadas con efectos secundarios y asociados con la accesibilidad en poblaciones vulnerables.

La herbolaria es una de las formas de medicina tradicional más antigua, la cual es utilizada en diversas culturas para la prevención y tratamiento de enfermedades. Desde tiempos antiguos, el uso de plantas ha constituido la base de la medicina tradicional en México, costumbre que ha pasado de generación en generación. Actualmente, diversos estudios clínicos han demostrado la efectividad antimicrobiana de compuestos presentes en las plantas que promueven su estudio para el desarrollo de alternativas de tratamiento para la caries dental. Entre los más mencionados se encuentran los esteroides, alcaloides y flavonoides, debido a sus propiedades biológicas estudiadas. Sin embargo, aunque se reconocen sus beneficios en la medicina popular, existe escasa evidencia científica que respalde su efectividad y seguridad frente a enfermedades orales. Plantas como *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* han sido empleadas tradicionalmente por sus propiedades antimicrobianas, pero pocos estudios han evaluado su acción específica contra bacterias causantes de caries dental ni su seguridad biológica en eritrocitos humanos.

Debido a que la caries dental es una de las enfermedades bucales más comunes y prevalentes a nivel mundial, se hace necesario buscar alternativas que fortalezcan su prevención y tratamiento. Una opción prometedora es la incorporación de plantas medicinales, las cuales contienen grupos funcionales con efecto antimicrobiano capaces de interferir con la formación y desarrollo del biofilm dental. De esta manera, los extractos vegetales podrían representar una alternativa natural, accesible y culturalmente aceptada frente a los desafíos actuales en el manejo de la caries dental. ¿Cuál es el potencial antibacteriano de los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia*

spicigera frente a bacterias asociadas a la caries dental y cuál es su efecto hemolítico en eritrocitos humanos?

Se busca evaluar y confirmar el potencial antibacteriano de plantas medicinales contra los microorganismos responsables de la caries dental, lo que podría proporcionar una base sólida para el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos más naturales, seguros y efectivos en la prevención y tratamiento de esta enfermedad bucal tan extendida. Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a la medicina tradicional y herbolaria como un recurso valioso para la salud pública, alentando la realización de estudios que garanticen su eficacia, seguridad y calidad. De este modo, la presente investigación no solo aporta evidencia científica en el área odontológica, sino que también contribuye a la valorización y aprovechamiento de la biodiversidad vegetal, generando un impacto potencial en la prevención de la caries dental y en la promoción de la salud bucal.

Teniendo como objetivo general evaluar el potencial antibacteriano de extractos de plantas medicinales frente a microorganismos causantes de caries dental y determinar su capacidad de hemólisis sobre eritrocitos humanos. Además, se buscó identificar la taxonomía de las especies empleadas, analizar los principales grupos químicos presentes en los extractos y determinar el efecto inhibitorio antimicrobiano contra *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii* (ATCC).

2.- HIPOTESIS.

Los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* presentan actividad inhibitoria del crecimiento de bacterias causantes de caries y con bajo efecto hemolítico sobre eritrocitos humanos.

3.- OBJETIVOS.

3.1- Objetivo general.

Evaluar el potencial antibacteriano de extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* frente a microorganismos causantes de caries dental y su capacidad de hemólisis sobre eritrocitos humanos.

3.2- Objetivos específicos.

- Describir la taxonomía de las plantas empleadas mediante el voucher de identificación taxonómica.
- Analizar los principales grupos químicos presentes en los extractos metanólicos y acuosos obtenidos de las plantas *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* mediante el análisis cualitativo por pruebas colorimétricas.
- Determinar el efecto inhibitorio de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* contra las bacterias *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii* (ATCC) mediante la técnica de Kirby-Bauer y difusión en agar de pozo.
- Identificar el porcentaje de inhibición relativa de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* sobre las bacterias analizadas.
- Analizar la capacidad de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* para inducir la hemólisis sobre los eritrocitos humanos.

4.- ANTECEDENTES.

4.1 Caries dental.

Según Nigel Pitts et al (2017) “La caries dental constituye un proceso multifactorial y dinámico, originado por la acción de biopelículas y favorecido por el consumo de azúcares, que ocasiona episodios alternados de desmineralización y remineralización en los tejidos duros del diente.”

La etiología de la caries dental es por medio de la interacción de cuatro elementos principales: los microorganismos presentes en la cavidad oral, el ambiente bucal, las características propias del huésped y el factor tiempo (Zhang et al., 2022). Una ingesta elevada y frecuente de carbohidratos favorece el crecimiento y la persistencia de especies bacterianas acidogénicas y acidófilas en la placa dental. En este sentido, la enfermedad se entiende como el resultado de un proceso de disbiosis dentro de la biopelícula adherida a la superficie del esmalte, que altera el equilibrio entre desmineralización y remineralización (Chen et al., 2020).

Es un proceso vinculado a la placa dental la cual comienza con la formación de una película protectora acelular generada por la saliva, que recubre todas las superficies mineralizadas de la boca (Engel et al., 2020). Los microorganismos se adhieren a esta película y forman una biopelícula que aumenta de tamaño con el tiempo, evolucionando hacia la creación de una placa dental (Sterzenbach et al., 2020). Esta placa presenta una capa superficial aeróbica y una capa profunda anaeróbica cerca del esmalte dental. Los principales microorganismos que se adhieren a esta película son *Streptococcus*, los cuales metabolizan los azúcares de la dieta para producir ácido láctico u otros ácidos orgánicos (Mazurel, et al., 2025). Estos ácidos alteran el equilibrio de solubilidad de la hidroxiapatita, favoreciendo la disolución de los tejidos dentales expuestos y, como resultado, provocando la desmineralización (Roberts et al., 2022). Los estudios epidemiológicos sugieren que *S. mutans* es el microorganismo predominante y que su presencia tiene un impacto significativo en el riesgo de caries, incluso más que el consumo de azúcar y la falta de higiene bucal (Babaekhou et al., 2020).

La desmineralización constituye el proceso central en la pérdida de tejido mineralizado, (Roberts et al., 2022) la fase inicial de desmineralización se conoce como manchas blancas, debido a la coloración blanca que aparece en el esmalte dental como resultado de la acción ácida de las bacterias cariogénicas presentes en la saliva (Patano et al., 2023). Cuando la desmineralización avanza al punto en que la lesión cariosa alcanza la dentina, las bacterias ya no dependen de la dieta para obtener nutrientes, ya que se alimentan del tejido que están degradando.

Un diagnóstico preciso constituye la base fundamental para establecer un adecuado plan de tratamiento. Este puede realizarse mediante diferentes métodos: visuales, empleando un espejo dental y una fuente de luz adecuada, táctiles, utilizando sondas con punta redondeada en lugar de exploradores afilados, ya que estas ocasionan menor daño al momento de sondear las superficies dentarias y radiográficos, tanto en formato digital como convencional, en los cuales las radiografías de aleta de mordida resultan útiles para la detección de caries interproximales, mientras que las periapicales permiten valorar otras zonas específicas (Warreth et al., 2023; Al Saffan 2023). Es indispensable que, previo a la aplicación de estos métodos, la superficie dental se encuentre libre de placa dentobacteriana y completamente seca (Xia et al., 2025).

4.1.1 Caries de la infancia temprana.

La caries de primera infancia (ECC) es definida como la presencia de una o más superficies cariadas, perdida u obturada (debido a caries), en cualquier diente primario de un niño menor de 6 años, (Pitts et al., 2019) esta enfermedad ocurre en los dientes temporales debido a una disbiosis de la microbiota oral, es decir, que hay un desequilibrio (Zou et al. 2022). La Academia Estadunidense de Odontología Pediátrica (AAPD) define la caries temprana de la infancia en su forma severa (S-ECC) por la presencia de cualquier lesión cariosa en superficies lisas en niños menores de tres años. En el grupo de tres a cinco años, se diagnostica cuando existe al menos una superficie lisa cavitada, ausente por caries u obturada en los incisivos superiores temporales, o cuando el índice de superficies cariadas, perdidas u obturadas es igual o superior a cuatro a los 3 años, cinco a los 4 años o seis a los 5 años.

La aparición de la ECC se encuentra influenciada por una combinación de factores biológicos, dietéticos y sociales. Entre ellos destacan la elevada concentración de *Streptococcus mutans* en la cavidad oral (Thang et al., 2021), la exposición temprana a azúcares antes del primer año de vida (Patel et al., 2025) y la ingesta frecuente de alimentos ultra procesados como galletas, bebidas azucaradas y sopas instantáneas (De Souza et al., 2021). Asimismo, aspectos relacionados con el entorno familiar, el nivel educativo y socioeconómico de los padres, junto con su grado de conocimiento en salud bucal, incrementan la vulnerabilidad del niño a desarrollar la enfermedad (Thang et al., 2021). A estos factores se suman los defectos del esmalte dental, los cuales crean condiciones favorables para la adhesión bacteriana y el inicio del proceso carioso (Anil et al., 2017).

Antes de la erupción dental es importante limpiar las encías y tejidos blandos orales con una gasa húmeda a los bebés después de cada comida y una vez que erupcione el primer diente deciduo, el tutor deberá cepillarlo dos veces al día, utilizando pasta dental con flúor, la cantidad que se debe considerar es una cantidad pequeña o del tamaño de la mitad de un arroz crudo. (Pitts et al., 2019) (Cheng et al, 2019) La Academia Estadounidense de Odontología Pediátrica (AAPD) junto con la Asociación Dental Americana (ADA) sugieren que la primera visita odontológica del niño se realice en el momento de la erupción del primer diente, lo cual ocurre alrededor de los seis meses de edad. Posteriormente, se recomienda mantener controles periódicos cada tres a seis meses, con el propósito de identificar oportunamente hábitos orales, alteraciones dentales, maloclusiones o la presencia de caries. Asimismo, acudir de manera temprana al dentista favorece la adaptación del niño al entorno clínico, contribuyendo a reducir niveles de ansiedad, miedo y estrés asociados a la atención odontológica (Zou et al., 2022).

4.2 Herbolaria.

Se definen como cualquier producto derivado de plantas que se utiliza para preservar o recuperar la salud (Hawks et al., 2021). La Herbolaria posee propiedades terapéuticas, teniendo la capacidad de actuar como antioxidante, antiinflamatorio, agentes antitumorales, antimicrobianas, anticancerígenas y cicatrizantes (Malcangi et al., 2025; Ansari et al., 2025). Una de las ventajas de los medicamentos herbolarios es que no genera resistencia a los microorganismos (Vaou et al., 2021).

4.2.1 Plantas medicinales.

La OMS la define como “el conjunto del conocimiento, habilidades y prácticas, fundamentado en teorías, creencias y experiencias indígenas de diversas culturas, empleado para el mantenimiento de la salud en la prevención y tratamiento de enfermedades físicas o mentales”. Las plantas medicinales fomentan efectos positivos, posiblemente debido a la abundancia y calidad de compuestos bioactivos que contienen. Algunos de los metabolitos presentes en las plantas medicinales son: los flavonoides, alcaloides, terpenoides (Wu., et al 2023). En México, se emplean ampliamente hierbas medicinales para abordar una variedad de condiciones de salud, y su efectividad está relacionada con factores como la dosis, la frecuencia de uso y el estado fisiológico del individuo (Sansores et al., 2022).

4.2.2 Grupos funcionales.

Las plantas representan una destacada fuente de compuestos bioactivos de origen natural, que presentan una amplia variedad de características estructurales y biológicas, manifestando una serie de mecanismos de acción (Ansari et al., 2025).

Algunos de los compuestos bioactivos más comunes en las plantas incluyen son los flavonoides las cuales son efectivas contra bacterias Grampositivas y Gramnegativas, son eficaces en la cicatrización de heridas, mejoran la memoria, tienen actividad antioxidante, hepatoprotectora, anticancerígena (Bittner et al., 2021; Roy et al., 2022) y da protección contra enfermedades cardiovasculares (Ullah et al., 2020).

Los fenoles son antioxidantes naturales presentes en numerosas plantas. Constituyen una parte inofensiva y natural de la alimentación humana (Rana et al., 2022). Se ha comprobado que un incremento en su consumo está vinculado a la mejora de la salud cardiovascular, a beneficios para la salud cerebral a largo plazo y a la capacidad de potenciar la función cognitiva. (Kennedy, 2019; Potì F et al., 2019.).

Los taninos poseen propiedades antioxidantes y ayudan a la prevención de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y en la osteoporosis (Fabbrini et al., 2022).

Las cumarinas cuentan con efectos antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios, además reguladores del crecimiento y agentes fungistáticos poseen actividades anticoagulantes, antitrombóticos, vasodilatadores y anticancerígenos (Küpeli et al., 2020). Y el ácido cinámico que tiene acción contra bacterias Gram positivas y negativas (Bittner et al., 2021).

4.2.3 *Cymbopogon citratus*.

La especie conocida como limoncillo es una hierba de gran tamaño y rápido crecimiento. Se caracteriza por presentar hojas que emergen de rizomas anillados con escasas ramificaciones. Su principal distintivo es la formación de tallos engrosados en la base, los cuales contribuyen al aumento progresivo de la planta hasta superar los 2 metros de altura y alcanzar aproximadamente 1 metro de diámetro. Las hojas, de un tono verde azulado, se reconocen por su aroma cítrico característico, semejante al del limón (Silva & Bárbara, 2022). Esta planta tiene su origen en Sri Lanka y el sur de la India, y su presencia se extiende ampliamente en áreas de clima tropical en los continentes americano y asiático, así como en zonas de clima templado en Europa (Da Ressurreição et al., 2022).

El limoncillo posee un amplio espectro de propiedades terapéuticas de gran relevancia. Entre ellas destacan sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios, asociados principalmente a la presencia de taninos (Simões et al., 2020). Asimismo, su alto contenido de compuestos bioactivos, como citral, geraniol y limoneno, le confiere una notable acción antimicrobiana. Además, diversos estudios han documentado su potencial antiviral, anticancerígeno, antifúngico y antimicótico (Boudechicha et al., 2023).

En la medicina tradicional, tanto las hojas como la planta completa se emplean para reducir el estrés mental y aliviar dolores estomacales, así como para tratar otros trastornos digestivos como vómitos, indigestión y diarrea. Para estos fines, se prepara una decocción de las hojas que se administra por vía oral (Carlini et al., 1986). Además, en medicina tradicional se utiliza para retención de orina, tos, gripe, dolor de cabeza, fiebre, y como remedio para detener la hemorragia vaginal, así como para reducir la presión arterial y los niveles de colesterol (Silva & Bárbara, 2022).

Figura 1. *Cymbopogon citratus*



4.2.4 *Justicia spicigera*.

Conocido también como muicle, pertenece a la familia Acanthaceae y originario de México, es un arbusto perenne característico de climas cálidos, que se distingue por presentar flores tubulares de tonalidad anaranjada (Anaya et al., 2018; Del Carmen et al., 2013). Sus hojas son pecioladas, con presencia de cistolitos y márgenes foliares generalmente enteros. Las inflorescencias suelen disponerse en espigas o panículas, siendo poco frecuente la aparición de flores solitarias, ya sean terminales o axilares, además, las brácteas y bractéolas destacan por ser imbricadas y notorias (Ortiz et al., 2012). Desde el punto de vista fitoquímico, en esta especie se han identificado

compuestos de relevancia biológica, entre ellos ácidos fenólicos con actividad antioxidante, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores y triterpenoides (Anaya et al., 2018). Estas sustancias confieren al muicle diversas propiedades farmacológicas, entre las que destacan efectos antiinflamatorios, antipiréticos, analgésicos, ansiolíticos y antimicrobianos (De la Cruz et al., 2022). Tradicionalmente, ha sido empleado en la medicina popular para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, como diarrea y disentería, y estudios recientes también le atribuyen potencial con actividad anticancerígena (Ángeles et al., 2021).

Figura 2. *Justicia spicigera*



4.3 Microbiota oral en el paciente pediátrico.

Constituye un conjunto de comunidades microbianas (simbióticas, comensales y patógenas) que colonizan el organismo humano (D'Agostino et al., 2022).

Durante la vida intrauterina, la cavidad oral del feto permanece libre de microorganismos, sin embargo, tras el nacimiento se encuentra expuesta al entorno y comienza a ser colonizada, principalmente por bacterias transmitidas a través del canal de parto materno (Xu et al., 2022). Los primeros colonizadores son los estreptococos, en particular *Streptococcus mitis*, y desde etapas tempranas también se identifican *S. infantis*, *S. pneumoniae* y *S. oralis*. No obstante, su predominio disminuye con la erupción de los dientes deciduos, momento en el que se incorporan nuevos géneros bacterianos que enriquecen la composición microbiana (Negroni, 2010; Dzidic et al., 2018).

En los bebés desdentados, la colonización microbiana se limita a superficies blandas como la mucosa oral y la lengua. En esta etapa, los estreptococos representan el grupo predominante, aunque también se detectan géneros como *Rothia*, *Haemophilus*, *Alloprevotella*, *Veillonella*,

Granulicatella y el hongo oportunista *Candida albicans* (Yama et al., 2024). Con la erupción de los primeros dientes (incisivos centrales inferiores), la microbiota oral se compone principalmente de *Streptococcus*, *Rothia* y *Haemophilus*, los cuales representan alrededor del 70% de la comunidad bacteriana y participan activamente en la formación inicial de la placa supragingival (Xu et al., 2022). La erupción de los incisivos superiores e inferiores favorece la incorporación de microorganismos exógenos procedentes del ambiente, incluidos aquellos presentes en el agua, el suelo, los alimentos (plantas, carnes y lácteos), el contacto con mascotas y los transportados por el aire. Sin embargo, la colonización de estas bacterias suele ser transitoria y tiende a disminuir con el tiempo (Xiao et al., 2020). Entre los factores moduladores destaca la alimentación, conforme los niños adquieren la capacidad fisiológica para masticar alimentos sólidos, se amplía la diversidad de su dieta, lo que introduce nuevas especies bacterianas en la cavidad oral y, al mismo tiempo, aporta nutrientes adicionales que estas bacterias utilizan en su metabolismo. Dichos elementos contribuyen de manera significativa al incremento y diversificación del microbioma oral pediátrico (Azevedo et al., 2023).

4.3.1 Bacterias orales.

Son microorganismos que habitan naturalmente en la cavidad oral, la mayoría de estos son cocos y bacilos, grampositivos y gramnegativos (Negroni, M., 2010). Algunas de las bacterias orales más comunes incluyen:

Streptococcus mutans: Es una de las bacterias más conocidas ya menudo se asocia con la formación de caries dentales, reside principalmente en la biopelícula que se forma en las superficies dentales en la cual produce ácidos que desmineralizan el esmalte dental (Lemos et al., 2019).

Porphyromonas gingivalis: Esta bacteria se relaciona con la enfermedad periodontal o enfermedad de las encías y puede causar inflamación e infección de las encías (Xu et al., 2020). Según Socransky et al., (1998) forma parte del complejo rojo como uno de los principales patógenos de la enfermedad periodontal.

Prevotella: Algunas de sus especies participan en los procesos inflamatorios de la boca, incluyendo la enfermedad periodontal, las caries dentales y las infecciones endodónticas (Könönen et al., 2022).

Streptococcus salivarius: Es una de las especies bacterianas predominantes en la cavidad oral y se ha caracterizado por su función protectora frente a diversos patógenos orales, incluyendo *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Streptococcus mutans* (Vesty et al., 2020).

Veillonella: Constituye uno de los primeros colonizadores de la cavidad oral. Sus diferentes especies desempeñan un papel relevante en las fases iniciales y en la progresión de las enfermedades periodontales, ya que facilitan la adhesión de *Porphyromonas gingivalis*, además, estas bacterias favorecen la fijación de *Streptococcus mutans* al biofilm dental (Olate et al., 2025).

4.3.2 *Streptococcus mutans*.

Es una bacteria del tipo Grampositiva, según J. Clarke (1924) son células de forma ovalada, aeróbicas y heterogéneas. (Negroni, M., 2010) Su habitat es la cavidad bucal humana, específicamente la placa dental, una biopelícula de múltiples especies que se forma en las superficies duras del diente (Lemos et al., 2019), pero también puede ser encontrado en fauces (Negroni, M., 2010).

Posee la capacidad de inducir la caries dental gracias a su habilidad para adherirse a las superficies dentarias, producir ácidos y mantener resistencia en condiciones de bajo pH (Chan et al., 2025). La adhesión inicial le permite colonizar la cavidad oral y establecer un biofilm. Dentro de este, los compuestos extracelulares producidos por la bacteria (tales como polisacáridos, ADN extracelular, proteínas y ácidos lipoteicoicos) constituyen elementos esenciales para la organización estructural del biofilm y resultan determinantes en su potencial cariogénico (Zhang et al., 2021).

El factor de virulencia más relevante es la enzima glucosiltransferasa, considerada la proteína predominante de la especie. Esta enzima emplea la sacarosa como sustrato para sintetizar polisacáridos extracelulares, lo cual favorece de manera directa la formación y consolidación del biofilm dental, desempeñando un papel clave en la patogénesis de la caries (Cui et al., 2022).

4.3.3 *Streptococcus sobrinus*.

Bacteria grampositiva que se encuentra en ambientes anaeróbicos y está relacionada con la presencia de caries dental en niños. *S. sobrinus* se asocia con *S. mutans*, lo que aumenta tanto la incidencia como la gravedad de las caries dentales, su hábitat es en la cavidad oral (Tanabe et al., 2021).

Esta especie bacteriana se caracteriza por su elevada capacidad acidogénica y por presentar una notable tolerancia a entornos ácidos. Su principal mecanismo de virulencia radica en la acción

de la enzima glucosiltransferasa, la cual emplea la sacarosa como sustrato para sintetizar glucanos solubles e insolubles. Estos polímeros modifican la composición de la matriz extracelular del biofilm bacteriano, favoreciendo tanto la adhesión de las bacterias a las superficies dentarias como la acumulación y consolidación de biopelículas sobre el esmalte (Babaeekhou et al., 2020; Tanabe et al., 2021; Conrads et al., 2014).

4.3.4 *Streptococcus gordonii*.

Es una bacteria Gram positiva y no esporulada (Kim et al., 2017). Se clasifica como anaerobia facultativa, lo que le permite desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (Loo et al., 2000). Se reconoce como un patógeno oportunista asociado a infecciones locales y sistémicas, entre las que destacan la periodontitis apical y la endocarditis infecciosa (Cheng et al., 2019). Asimismo, constituye una de las bacterias colonizadoras tempranas de los tejidos del huésped. Su capacidad de invadir conductos radiculares y posteriormente acceder al torrente sanguíneo le facilita establecer interacciones con múltiples tipos celulares, tanto del sistema inmune como de tejidos no inmunitarios (Park et al., 2020).

Sintetiza diversas proteínas asociadas a su pared celular, entre ellas adhesinas de superficie como SspA, SspB y CbdA, así como glicoproteínas ricas en serina del tipo SRR, representadas por GspB y Hsa (Jakubovics et al., 2005). Dichas moléculas favorecen su adhesión a distintos tipos de células sanguíneas lo que puede desencadenar respuestas inmunitarias agudas en el huésped. Al mismo tiempo, al ser uno de los colonizadores tempranos de la superficie dental, esta especie bacteriana presenta la capacidad de interactuar y agruparse con otros microorganismos orales como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Tannerella forsythia*, lo cual contribuye al establecimiento de biofilms complejos y al desarrollo de periodontitis crónica (Ślęzak et al., 2020; Mohanty et al., 2019). Además, se reconoce como una bacteria comensal presente habitualmente en la piel, las superficies mucosas, la cavidad oral (especialmente en la biopelícula supragingival madura) y el intestino. No obstante, también puede encontrarse en ecosistemas ambientales como el agua, el suelo, las plantas y ciertos alimentos (Park et al., 2020).

4.3.5 Taxonomía bacteriana.

Tabla 1. Taxonomía de *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii*. (Gao et al., 2022;Negroni, M., 2010;Abranches et al., 2018)

Dominio	Bacteria	Bacteria	Bacteria
Reino	Bacteria	Bacteria	Bacteria
Filo	Firmicutes	Firmicutes	Firmicutes
Clase	Bacilli	Bacilli	Bacilli
Orden	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcaceae</i>
Genero	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>
Especie	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>

4.4 Efecto antibacteriano.

El efecto antibacteriano se define como la propiedad que poseen ciertas sustancias, agentes o tratamientos para impedir la proliferación bacteriana o provocar su destrucción (Gaynes et al., 2017). Dentro de estas sustancias destacan los antibióticos, cuyo descubrimiento se remonta a 1929, cuando Alexander Fleming identificó la penicilina. Estos compuestos, considerados moléculas bioactivas de bajo peso molecular, se han empleado de manera extensa en la investigación clínica y farmacológica para el control de infecciones bacterianas, contribuyendo de forma notable a mejorar la salud humana y a disminuir las tasas de mortalidad a nivel global (Uddin et al., 2021; Qiu et al., 2020).

Los antisépticos y desinfectantes constituyen agentes empleados para disminuir o eliminar la carga bacteriana en superficies y objetos. Dentro de ellos destacan el hipoclorito de sodio y la clorhexidina, esta última se caracteriza por presentar una toxicidad considerablemente menor en comparación con el hipoclorito (Röhner et al., 2020). Cuando se utiliza en altas concentraciones, la clorhexidina provoca la destrucción de las bacterias, mientras que en dosis más bajas únicamente inhibe su multiplicación (Ruksakiet et al., 2020). Diversos alimentos y compuestos naturales poseen propiedades antibacterianas, entre ellos destacan el ajo y la miel (Ait et al., 2019). En el caso de la miel, su efecto antimicrobiano se debe a la acción combinada de varios componentes, como su alto contenido de azúcares, compuestos fenólicos, peróxido de hidrógeno,

sustancias del tipo 1,2-dicarbonilo y defensinas de abeja (Ogwu et al., 2025). Estos elementos, presentes en distintas proporciones, actúan de manera sinérgica y confieren a la miel una notable eficacia frente a múltiples microorganismos, incluidas cepas bacterianas multirresistentes (Almasaudi, 2021). Por su parte, en el ajo la principal molécula responsable de su actividad antibacteriana es la alicina, cuyo mecanismo se basa en la interacción química con enzimas que contienen grupos tiol (Batiha et al., 2020; Cocom et al., 2025).

4.5 Productos actuales para el control de caries.

- Clorhexidina: En odontología, la clorhexidina es reconocida como el agente quimioterapéutico más eficaz, considerado el estándar de referencia para la reducción de *Streptococcus mutans* y de la biopelícula oral (Raszewski et al., 2019; Poppolo Deus & Ouanounou, 2022). Actualmente, se encuentra disponible en distintas presentaciones, como enjuagues bucales, geles y barnices. La dosis óptima recomendada se sitúa entre 18 y 20 mg por aplicación, lo que garantiza un adecuado efecto antimicrobiano al tiempo que disminuye la probabilidad de efectos adversos (Dumitriu et al., 2023). Sin embargo, su uso prolongado puede ocasionar reacciones indeseables a nivel local, entre las que destacan la alteración transitoria del sentido del gusto y la pigmentación extrínseca de los dientes (Marrelli et al., 2015). Estas manchas, de tonalidad marrón, tienden a acumularse en dientes, lengua y prótesis, lo que puede afectar negativamente la adherencia del paciente al tratamiento (James et al., 2017). Además, estudios in vitro han demostrado que la clorhexidina posee actividad citotóxica sobre células humanas, pudiendo inducir procesos de apoptosis y necrosis celular (Cunha et al., 2024).

- Fluoruro: El principal mecanismo de acción del fluoruro consiste en reducir el pH crítico al que el esmalte dental comienza a desmineralizarse. Los iones fluoruro, al encontrarse en forma libre, se integran en los cristales de hidroxiapatita, confiriéndoles mayor estabilidad y resistencia frente a la disolución en ambientes ácidos, además de facilitar los procesos de remineralización cuando el pH se restablece a valores normales (Simmer et al., 2020; Nassar et al., 2023). Asimismo, el fluoruro inhibe parcialmente el metabolismo de la glucosa en las bacterias orales, lo que se traduce en una menor producción de ácido, una reducción de la acidogénesis y una limitación en el crecimiento de especies acidúricas dentro de la biopelícula dental (Latimer et al., 2015; Selvaraj et al., 2020; Zhang et al., 2022).

4.6 Porcentaje de inhibición relativa.

Constituye un criterio empleado para estimar cuánto se reduce un proceso en comparación con el control experimental. En este sentido, una acción antibacteriana se interpreta como alta o significativa cuando el nivel de inhibición supera el 70%, se considera moderada si se encuentra entre el 50 y el 70% y se clasifica como baja cuando es inferior al 50% (Ramírez & Díaz, 2007).

4.7 Hemolisis.

Se define como la desintegración anormal de los eritrocitos, ya sea originada como un trastorno primario o como consecuencia secundaria de otra condición (Siddon et al., 2019). Constituye una prueba fundamental de toxicidad biológica, ampliamente empleada para valorar la actividad de extractos o productos naturales, ya que ofrece ventajas como rapidez, reproducibilidad y bajo costo (Elizondo et al., 2024).

4.8 Propiedades farmacológicas reportadas.

4.8.1 *Cymbopogon citratus*.

Maybodi et al. (2025) emplearon aceite puro de *Cymbopogon citratus* como aromaterapia, observando que contribuye a reducir la ansiedad, la presión arterial, la frecuencia cardíaca, el dolor corporal y las infecciones respiratorias. De Andrade et al. (2023) utilizaron hojas de *Cymbopogon citratus* para elaborar un aceite al 5%, aplicado directamente sobre la piel con el propósito de evaluar sus propiedades antiinflamatorias, registrando una disminución en el enrojecimiento, el edema y la pérdida de agua epidérmica. Por su parte, Gao et al. (2020) analizaron in vitro la efectividad del aceite esencial de limoncillo y de su componente bioactivo, el citral, frente a biopelículas constituidas por *Staphylococcus aureus* y *Candida*, demostrando que ambos presentan un potencial prometedor en la inhibición de biopelículas polimicrobianas.

De manera complementaria, Khosakueng et al. (2024) evaluaron siete aceites esenciales, entre ellos *Cymbopogon citratus*, con el objetivo de determinar su actividad antibiofilm frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermidis*. Los resultados mostraron una inhibición significativa en la formación de biopelículas en todas las cepas bacterianas analizadas. Finalmente, De Lima et al. (2024) emplearon aceites esenciales de *Cymbopogon citratus* y *Pelargonium graveolens*, adquiridos comercialmente y verificados mediante cromatografía, para evaluar su actividad antimicrobiana sinérgica mediante el método de microdilución en caldo frente a *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. Dichos

autores observaron que la combinación de ambos aceites fue tan eficaz como la clorhexidina al 0.12%, y que el aceite de *Cymbopogon citratus* por sí solo presentó un efecto comparable a este antiséptico.

4.8.2 *Justicia spicigera*.

La planta *Justicia spicigera* ha sido objeto de diversas investigaciones que respaldan sus propiedades terapéuticas y tradicionales. Murillo et al. (2024) recolectaron hojas de *Justicia spicigera* y prepararon un extracto mediante maceración con etanol. Posteriormente, llevaron a cabo un estudio en ratas con el objetivo de evaluar su efecto sobre el estrés oxidativo. El tratamiento consistió en la administración oral de 100 mg/kg del extracto durante 30 días. Como resultado, se observó una disminución significativa en los niveles de glucosa, triglicéridos y lípidos totales, además de una mejora en el equilibrio del perfil hepático. Gonzalez et al., (2017) utilizaron la hoja de *Justicia spicigera* y se preparo el extracto con la técnica soxhlet utilizando agua, utilizo ratones para medir la actividad anticonvulsivante del extracto en distintas dosis (30, 100 y 1000 mg/kg) observando efectos anticonvulsivos debido a que retrasó el inicio de las convulsiones y redujo la frecuencia de convulsiones.

García et al. (2019) elaboraron un extracto acuoso a partir de hojas de *Justicia spicigera* con el objetivo de evaluar su efecto ansiolítico en ratas, para ello, emplearon la prueba del laberinto en cruz elevado, utilizando diazepam como control positivo. Los resultados indicaron que una dosis de 12 mg/kg del extracto produjo efectos ansiolíticos significativos. Bernardo et al. (2019) emplearon hojas secas de *Justicia spicigera* para obtener un extracto acuoso, con el cual evaluaron su actividad antimicrobiana frente a bacterias (*Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*) y hongos (*Colletotrichum* sp., *Fusarium solani*, *Alternaria alternata* y *Macrophomina phaseolina*) asociados a la transmisión por alimentos. Los resultados evidenciaron una notable capacidad antimicrobiana y acción antifúngica.

5.- METODOLOGÍA.

Todos los ensayos se realizaron por triplicado, evaluando la reproducibilidad de los datos en tres repeticiones independientes. Los resultados obtenidos en los ensayos experimentales se compararon con el control negativo (solvente) y con el control positivo (clorhexidina al 0.12%).

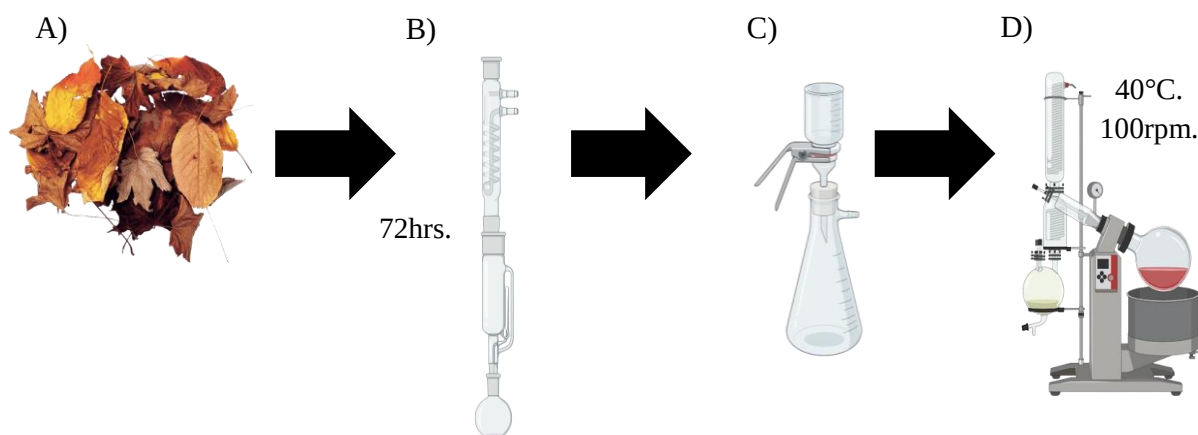
5.1 Identificación taxonómica de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Una muestra botánica de cada especie recolectada se entregó en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL donde fueron analizadas y comparadas con ejemplares de referencia para la entrega de la taxonomía y un voucher de identificación para cada espécimen.

5.2 Obtención de los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Para la obtención de los extractos se emplearon de cada planta 100g de hojas secas pulverizadas, las cuales se sometieron a extracción con 1.0 L de metanol absoluto mediante el método Soxhlet durante 72 horas. Los extractos crudos obtenidos fueron filtrados y posteriormente concentrados en un rotavapor Yamato RE200 a 100 rpm y 40 °C en baño maría (Figura 3). Se colocaron en frascos oscuros y se almacenaron en refrigeración a 4°C para su posterior uso en las pruebas biológicas (Elizondo et al., 2024).

Figura 3. Proceso para la obtención de extractos. A) Recolección y secado del material vegetal. B) Extracción por Soxhlet. C) Filtración del extracto. D) Concentración en rotavapor.



5.3 Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Para la realización del análisis fitoquímico cualitativo de cada extracto obtenido, se empleó una muestra y se preparó una solución madre con metanol, siguiendo el procedimiento descrito en la Tabla 2. Se analizaron los resultados obtenidos de manera cualitativa, se observó la tonalidad obtenida para cada prueba, se marcó con cruces indicando la presencia de grupos alcaloides, carbohidratos, cumarinas, insaturaciones, flavonoides, quinonas, compuestos fenólicos, esteroides y terpenos (Martínez Delgado, et al 2018).

Tabla 2. Pruebas químicas (Taechakulwanijya et al., 2016; Fuentes et al., 2022; Ashraf et al., 2022; Shah et al., 2015).

Prueba química	Metodología	Grupos químicos	Color de resultado positivo
Dragendorff	Se disolvió 1 mg del extracto en 2 mL de metanol y se le añadieron cuatro gotas de yoduro de bismuto y potasio.	Alcaloides.	Naranja o marrón rojizo.
Molish	A 1 mg de extracto se añadió 1% de alfa-naftol en etanol y posteriormente se incorporaron 2 mL de ácido sulfúrico.	Carbohidratos.	Purpura.
Hidróxido de sodio	2mg de extracto se disolvió en 2ml de metanol, para proceder a añadir gotas de NaOH al 10 %.	Cumarinas.	Amarillo el cual se debe desvanecer.
Lieberman Burchard	1 mg del extracto en 2 ml de cloroformo, se añaden unas gotas de ácido sulfúrico.	Esteroides y terpenos.	Anillo rojo.
Cloruro férrico	Se disuelve 1mg del extracto con 2mL de metanol y se añaden 4 gotas de cloruro férrico.	Taninos.	Azul oscuro o verde negruzco.
Shinoda	Se disuelve 1 mg del extracto en 2 mL de ácido sulfúrico	Flavonoides.	Amarilla.
Bicarbonato de sodio	En un tubo de ensayo se añaden 2 ml del extracto y 10 ml de agua destilada y se agitan.	Saponinas.	Espuma.
Bornträger	Colocar 5-10 mg del extracto, junto con 0.2 mL de etanol y 0.4 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5%.	Quinonas.	Algún color y se registra el espectro ultravioleta al 5%.

5.4 Identificación morfológica y de Gram de las especies a estudio.

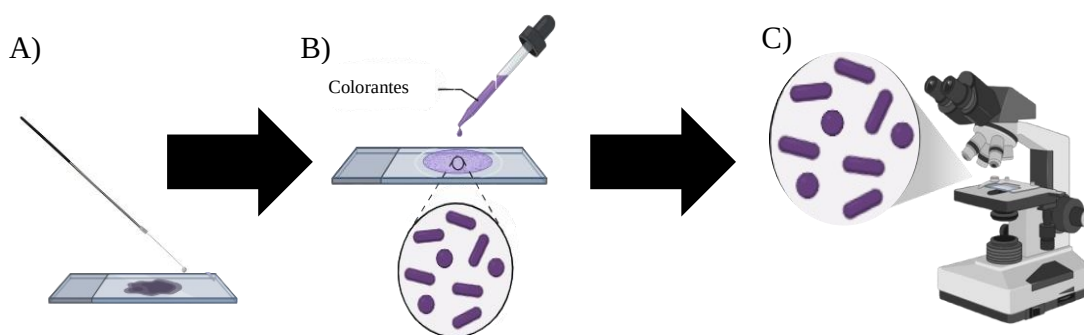
Se emplearon las bacterias asociadas con caries dental *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii* (ATCC) las cuales fueron proporcionadas por el laboratorio de microbiología de la facultad de Odontología de la UANL.

Se realizó la identificación morfológica de cada una de las especies analizadas en este estudio, *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii* (ATCC) mediante la tinción de Gram (Figura 4).

Inicialmente, las cepas fueron activadas en cabina de flujo laminar mediante la inoculación de 100 µL de *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii* en 1 mL de Caldo Soya Trypticaseína, posteriormente se depositaron en tubos Eppendorf sellados con papel Parafilm y se incubaron a 37 °C por un periodo de 24 h. A continuación se obtuvo un asa de inóculo de la cepa de cada una de las bacterias previamente activada, fue sembrada en Agar Trypticaseína Soya utilizando la técnica de aislamiento por estría en tres zonas, esterilizando el asa entre cada una, y se incubó a 37 °C durante 48 h.

Seguidamente se tomó una muestra para cada bacteria y se colocó en un portaobjetos, se fijó con calor y posteriormente se colocó el colorante cristal violeta, se dejó actuar por 1 minuto, se enjuago para quitar el exceso, se secó por contacto, después siguiendo el mismo procedimiento se colocó yodo Gram, alcohol acetona por 2 segundos, y finalmente una gota de safranina, se dejó 1 minuto, se enjuago y se pasó a observar la morfología, agrupación y tinción en el microscopio (Tripathi N, et al., 2023).

Figura 4. Proceso de Tinción de Gram. A) Preparación del frotis bacteriano. B) Aplicación de los colorantes. C) Observación microscópica.



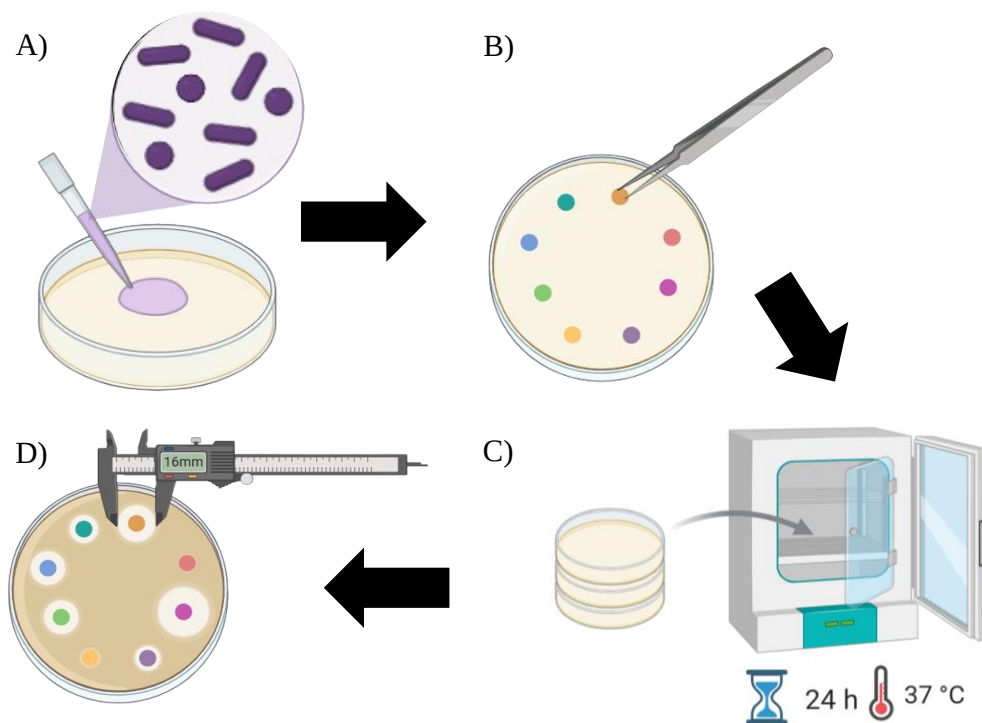
5.5 Efecto inhibitorio de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* contra las bacterias *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii* (ATCC) mediante la técnica de Kirby-Bauer y difusión en agar de pozo.

Se realizó la preparación de los medios de cultivo, se empleó Agar Trypticaseína Soya. Se colocó en una parrilla de calentamiento y agitación durante 15 minutos para disolver los componentes. Una vez terminados los 15 minutos se colocó un tapón de algodón y encima de este aluminio para llevarlo a esterilizar. Una vez estéril se repartió en placas de Petri estériles y se dejaron en reposo para que solidifique (Neun et al., 2020).

5.5.1 Ensayo de Kirby-Bauer.

Se preparó un inóculo ajustado a una turbidez de 0.5 McFarland a partir de colonias bacterianas frescas. La suspensión obtenida se distribuyó de manera uniforme sobre placas de agar, en las cuales se colocaron discos de papel impregnados con extractos de *Justicia spicigera* y *Cymbopogon citratus* en diferentes concentraciones (50, 15, 10, 5, 2.5 y 1.25 mg/mL). Como control negativo se empleó el solvente y, como control positivo, una solución de clorhexidina al 0.12%. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas, permitiendo la formación y posterior observación de los halos de inhibición (Figura 5). Cada extracto fue evaluado en tres réplicas biológicas, y los resultados se expresaron como el promedio del diámetro de las zonas de inhibición (mm) acompañado de su desviación estándar (Bauer et al., 1966, More et al., 2022).

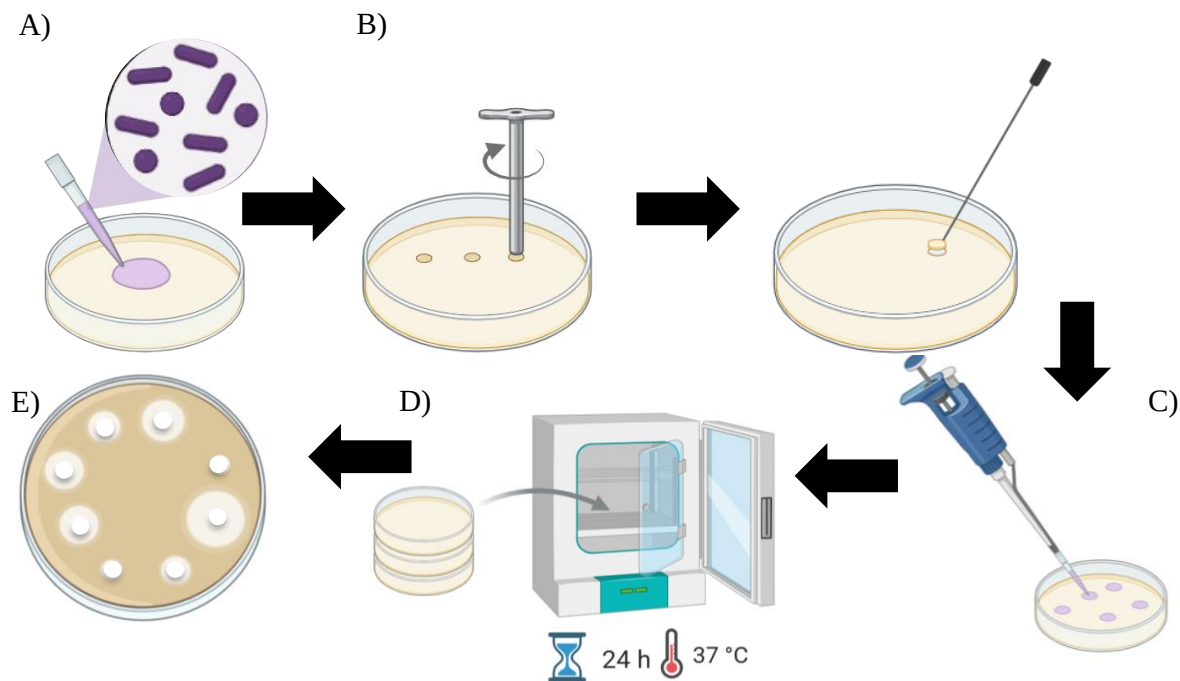
Figura 5. Procedimiento para el ensayo de Kirby-Bauer. A) Siembra de la bacteria en el medio de cultivo. B) Colocación de los discos impregnados con el extracto. C) Incubación de las placas. D) Medición de los halos de inhibición.



5.5.2 Ensayo por difusión en agar en pozo.

Se preparó un inóculo ajustado a una turbidez de 0.5 en la escala de McFarland a partir de colonias bacterianas frescas. La suspensión obtenida se distribuyó de manera uniforme sobre la superficie de placas de agar. En cada placa se realizaron tres pozos de 6 mm de diámetro, los cuales fueron rellenados con 20 μ L de distintas concentraciones de los extractos de *Justicia spicigera* y *Cymbopogon citratus* (50, 15, 10, 5, 2.5 y 1.25 mg/mL). Finalmente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas para evaluar la formación de zonas de inhibición como se observa en la figura 6 (Balouiri et al., 2016; Arage et al., 2022).

Figura 6. Procedimiento para la técnica difusión en agar en pozo. A) Siembra de la bacteria en el medio de cultivo. B) Perforación de pozos en el agar. C) Colocación del extracto en cada pozo. D) Incubación de las placas. E) Medición de los halos de inhibición.



5.6 Identificación del porcentaje de inhibición relativa de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* sobre las bacterias analizadas.

Se calculo el porcentaje de inhibición relativa de cada extracto mediante la división de la media del diámetro del halo de inhibición entre el diámetro correspondiente al control positivo, multiplicando el resultado por 100. Figura 7 (Masood et al., 2021).

Figura 7. Fórmula de porcentaje de inhibición relativa.

$$\% \text{ inhibición relativa} = \frac{\text{Media diámetro halo de la inhibición}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

5.7 Ensayo de hemólisis sobre eritrocitos humanos de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Se realizó el ensayo hemolítico mediante la determinación del grado de hemólisis en una suspensión de eritrocitos humanos provenientes de donadores sanos con grupo sanguíneo O Rh (+). La sangre se obtuvo mediante venopunción y fue recolectada en tubos que contenían un agente anticoagulante. El estudio con eritrocitos humanos se llevó a cabo conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012. El procedimiento experimental se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Álvarez Sandoval (2024).

Se pesaron 50 mg de los extractos acuosos y metanólicos de *Justicia spicigera* y *Cymbopogon citratus*, los cuales se disolvieron en 1 mL del solvente correspondiente.

Para el tratamiento experimental, se tomaron 250 μ L de paquete globular y se distribuyeron en seis tubos Eppendorf de 2 mL. En cada tubo se añadieron volúmenes de PBS que variaron entre 950 y 975 μ L, con el fin de obtener un gradiente de concentración. Posteriormente, se incorporaron los extractos en volúmenes decrecientes, desde 50 μ L hasta 25 μ L, de acuerdo con el diseño experimental (Figura 8 A).

En el blanco, se colocaron 250 μ L de PBS en seis tubos Eppendorf de 2 mL., a los cuales se adicionaron entre 950 y 997 μ L de PBS. A continuación, se agregaron volúmenes decrecientes de extracto (50 hasta 25 μ L), con el propósito de descartar interferencias del solvente en la medición (Figura 8 B).

Para el control positivo, se prepararon dos series:

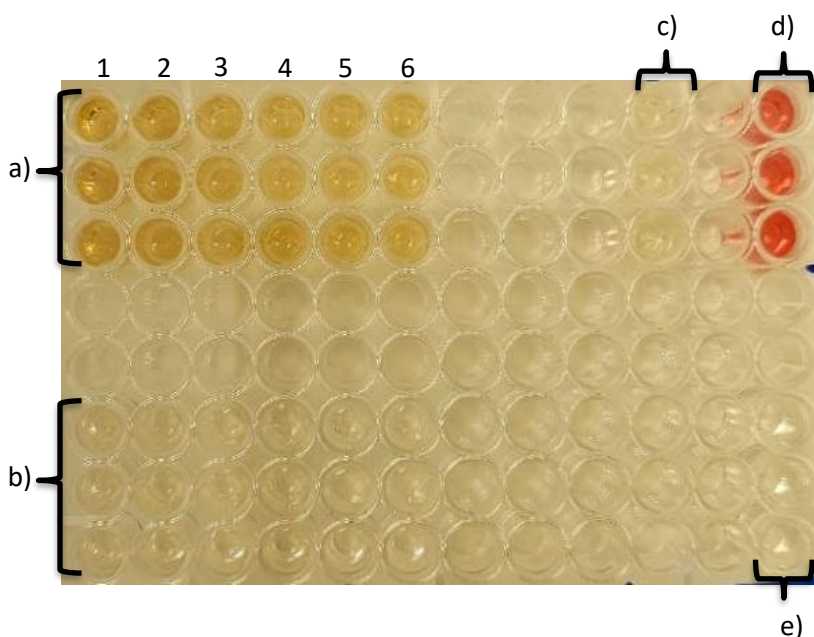
- En un tubo Eppendorf de 2 mL. se mezclaron 250 μ L de paquete globular con 1000 μ L de agua destilada (Figura 8 D).
- Y en otro tubo, se combinaron 250 μ L de paquete globular con 1000 μ L de solvente, con el fin de evaluar la lisis total inducida por ambos medios (Figura 8 C).

Finalmente, en el control negativo, se tomaron 250 μ L de paquete globular y se añadió a un tubo Eppendorf de 2 mL, complementados con 1000 μ L de PBS (Figura 8 E).

Tras añadir el PBS, el paquete globular y los tratamientos correspondientes, las muestras se incubaron durante 30 minutos a 37 °C en condiciones protegidas de la luz. Posteriormente,

los tubos cónicos se centrifugaron a 13,000 rpm durante 5 minutos a 4 °C. Al finalizar el proceso, se tomaron 100 µL de cada muestra y se transfirieron a una microplaca de 96 pocillos, donde se determinó el porcentaje de hemólisis mediante lecturas espectrofotométricas a una longitud de onda de 550 nm.

Figura 8. *Distribución del ensayo de efecto hemolítico en microplaca.* a) Tratamiento. b) Blanco. c)Control positivo con solvente. d) Control positivo con agua destilada. e)Control negativo.



Para realizar el cálculo del porcentaje de hemólisis en los eritrocitos humanos se aplicó la fórmula de Elizondo et al. (2025). El porcentaje de hemólisis se determinó mediante la diferencia entre la densidad óptica del tratamiento y el control negativo a 550 nm, dividida entre la diferencia correspondiente al control positivo y el control negativo, multiplicando el resultado final por 100 (Figura 9).

Figura 9. *Fórmula de porcentaje de hemolisis.*

$$\% \text{ Hemolisis} = \frac{D_{0550} \text{ Tratamiento} - D_{0550} \text{ Control negativo}}{D_{0550} \text{ Control Positivo} - D_{0550} \text{ Control negativo}} \times 100$$

El análisis de los resultados obtenidos se realizó de acuerdo con lo establecido en el protocolo descrito por Neun et al. (2020), con la interpretación del porcentaje de hemólisis en las muestras siguiendo la clasificación en relación con los valores obtenidos (Tabla3).

Tabla 3. *Interpretación de porcentaje de efecto hemolítico.*

Valor	Efecto hemolítico
<2 %	No hemolítico
2- 5%	Ligeramente hemolítico
>5%	Hemolítico

5.8 Análisis de los resultados.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico con el propósito de establecer diferencias significativas entre los tratamientos en función de la inhibición bacteriana y el porcentaje de hemólisis, mediante el análisis de ANOVA de 1 vía complementado con una prueba post hoc de comparación de medias de Tukey. La concentración inhibitoria y el porcentaje de hemólisis sobre los eritrocitos humanos se determinó con la prueba estadística de Probit, con un intervalo de confianza del 95% utilizando el software SPSS, versión 22.0 (SPSS, Inc.). Las diferencias se consideraron significativas a $P < 0.05$.

6.- RESULTADOS.

6.1 Caracterización taxonómica de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Se corroboró el género, especie y familia de cada muestra recolectada, se le asignó los números de folio correspondientes garantizando su calidad y autenticidad mediante la entrega de un voucher de identificación (Tabla 4).

Tabla 4. Taxonomía de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

No. de folio	Género	Especie	Familia
30644	<i>Cymbopogon</i>	<i>Citratus</i>	Poaceae
30649	<i>Justicia</i>	<i>Spicigera</i>	Acanthaceae

6.2 Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

Los resultados obtenidos mediante las pruebas fitoquímicas identificaron respuesta positiva para las pruebas carbohidratos, cumarinas, flavonoides y esteroides en el extracto de *Cymbopogon citratus*. Por otro lado, el extracto de *Justicia spicigera* dio positivo para carbohidratos, cumarinas, quinonas y taninos.

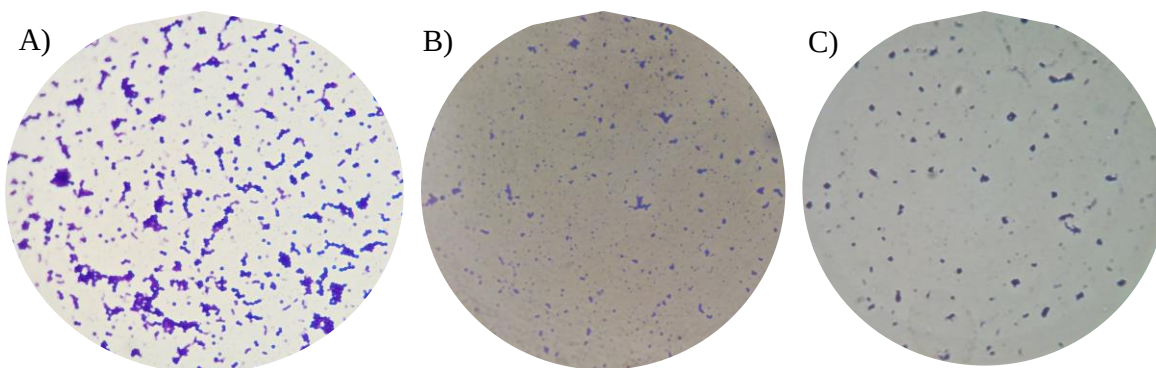
Tabla 5. Resultados de las pruebas fitoquímicas. (+) signo positivo: presencia de grupos químicos, (-) signo negativo: ausencia de grupos químicos.

Grupo químico	Planta	
	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Justicia spicigera</i>
Alcaloides	-	-
Carbohidratos	+	+
Cumarinas	+	+
Flavonoides	+	-
Quinonas	-	+
Saponinas	-	-
Sesquiterpeno-lactonas	-	-
Esteroides	+	-
Taninos	-	+

6.3 Efecto inhibitorio de los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* contra las bacterias *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii* (ATCC) mediante la técnica de Kirby-Bauer y difusión en agar de pozo.

Las tinciones de Gram confirmaron que las cepas de *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii* se encontraban libres de contaminación y mostraron la morfología característica de cocos Gram positivos (Figura 8).

Figura 10. Identificación morfológica mediante tinción de Gram de las especies bacterianas en estudio. A) *S. sobrinus*, B) *S. mutans* y C) *S. gordonii*.



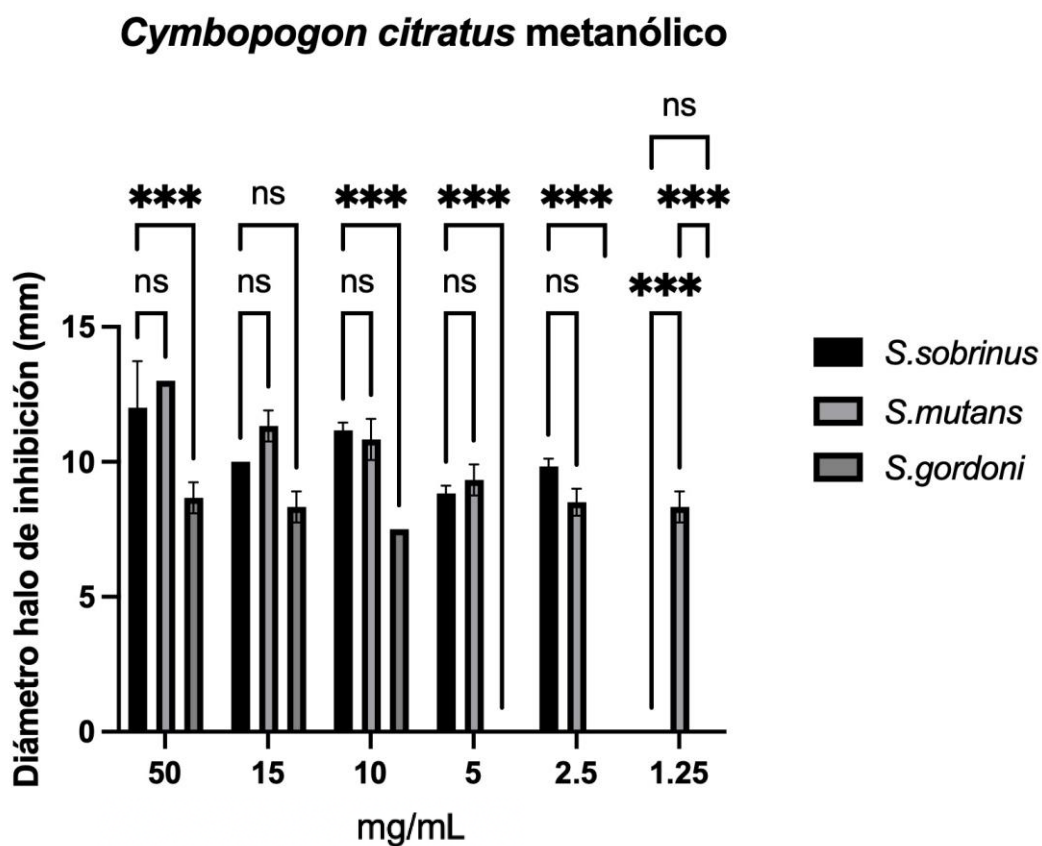
Se efectuó la medición de los halos de inhibición del crecimiento de las bacterias a estudio, posteriormente, se calcularon la media y la desviación estándar de cada tratamiento y se determinó el porcentaje de inhibición relativa.

Cymbopogon citratus presentó capacidad inhibitoria, contra las bacterias a estudio. El extracto metanólico indicó halos de inhibición, para *S. mutans*, la inhibición fue más evidente, alcanzó valores máximos de 13 mm a 50 mg/mL, equivalente a un 81.25% de inhibición relativa, mientras que en *S. sobrinus* el valor más alto fue de 12 mm 70.58% y en *S. gordonii* de 9 mm 53.75%. A medida que disminuyó la concentración, se observó una reducción progresiva en el diámetro de los halos y en el porcentaje de inhibición (Tabla 6). El análisis estadístico reveló diferencias altamente significativas entre las especies bacterianas tratadas, siendo *S. sobrinus* la más susceptible al extracto, mientras que *S. mutans* y *S. gordonii* mostraron respuestas similares sin diferencias significativas (Grafica 1).

Tabla 6. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* contra *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii* (ATCC). $\bar{x}$ = Promedio. σ = Desviación estándar. IR=Inhibición relativa. C+ = Control positivo. C- = Control negativo.

Conc. mg/mL	<i>S. sobrinus</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. mutans</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. gordonii</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.
	1	2	3			1	2	3			1	2	3		
50	14	11	11	12 $\pm$ 1.73	70.58	13	13	13	13 $\pm$ 0	81.25	9	9	8	8.6 $\pm$ 0.58	53.75
15	10	10	10	10 $\pm$ 0	58.82	12	11	11	11.3 $\pm$ 0.57	70.62	8	8	9	8.3 $\pm$ 0.57	51.87
10	11	11	11.5	11.11 $\pm$ 0.28	65.29	11	11.5	10	10.8 $\pm$ 0.76	67.5	7.5	7.5	7.5	7.5 $\pm$ 0	46.87
5	9	9	8.5	8.8 $\pm$ 0.28	52.76	9	10	9	9.3 $\pm$ 0.57	58.12	0	0	0	0	0
2.5	10	10	9.5	9.8 $\pm$ 0.29	57.4	9	8.5	8	8.5 $\pm$ 0.5	53.12	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0	9	8	8	8.3 $\pm$ 0.57	51.87	0	0	0	0	0
C+	17	17	17	17 $\pm$ 0	-	16	16	16	16 $\pm$ 0	-	16	16	16	16 $\pm$ 0	-
C-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	.	0	0	0	0	-

Grafica 1. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* frente a *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii*. Los datos se presentan como media $\pm \sigma$.

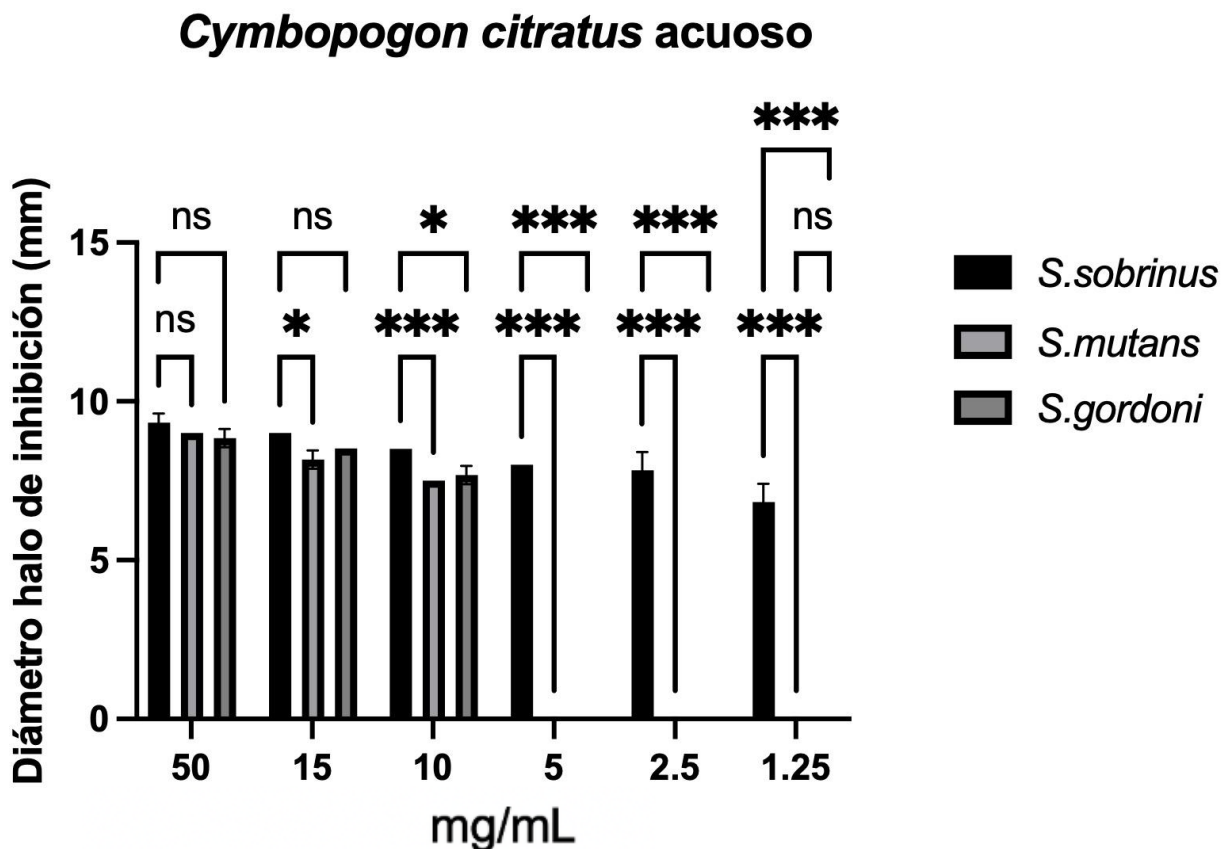


El extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* mostró de igual forma actividad inhibitoria, aunque con valores menores en comparación con el extracto metanólico, destacando un halo máximo de 9.3 mm para *S. sobrinus* y 9 mm para *S. mutans*, lo que corresponde a porcentajes de inhibición de 54.70% y 56.25%, respectivamente. En *S. gordonii* la inhibición fue más discreta de 55% en la concentración mayor (Tabla 6). El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre las bacterias tratadas. *S. sobrinus* mostró una inhibición significativamente mayor en comparación con *S. mutans* y *S. gordonii*, mientras que entre estas últimas no se encontraron diferencias significativas (Grafica 2).

Tabla 7. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* contra *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii* (ATCC). $\bar{x}$ = Promedio. σ = Desviación estándar. IR= Inhibición relativa. C+ = Control positivo. C- = Control negativo.

Conc. mg/mL	<i>S. sobrinus</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. mutans</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. gordonii</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.
	1	2	3			1	2	3			1	2	3		
50	9	9.5	9.5	9.3±0.23	54.70	9	9	9	9±0	56.25	9	9	8.5	8.8±0.23	55
15	9	9	9	9±0	52.94	8.5	8	8	8.1±0.23	50.62	8.5	8.5	8.5	8.5±0	53.12
10	8.5	8.5	8.5	8.5±0	50	7.5	7.5	7.5	7.5±0	46.87	8	7.5	7.5	7.6±0.23	47.5
5	8	8	8	8±0	47.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.5	7.5	7.5	8.5	7.8±0.47	45.88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.25	6.5	7.5	6.5	6.8±0.47	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C+	17	17	17	17±0	-	16	16	16	16±0	-	16	16	16	16±0	-
C-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-

Grafica 2. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* frente a *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii*. Los datos se presentan como media $\pm \sigma$.

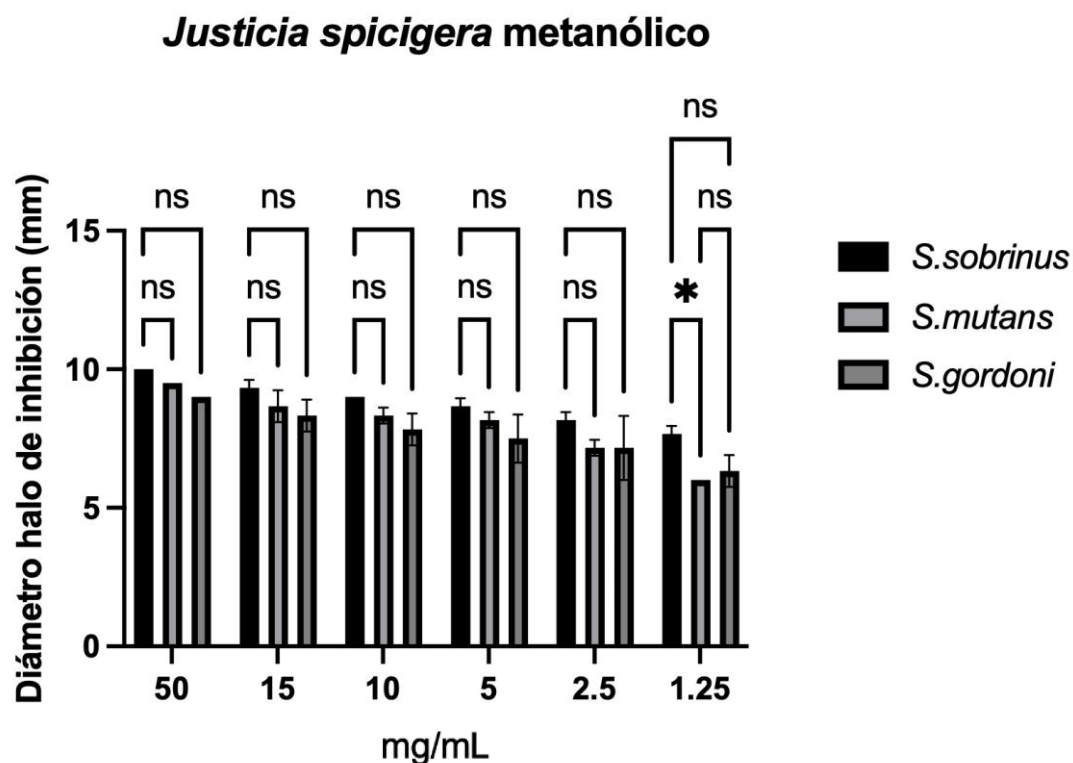


En cuanto a *Justicia spicigera*, tanto el extracto metanólico como el acuoso demostró actividad frente a las tres bacterias. El extracto metanólico inhibió de manera más consistente a *S. mutans* con 9.6 mm, 60% de inhibición a 50 mg/mL, seguido de *S. sobrinus* con 9.3 mm, 54.70% y *S. gordonii* con 8.3 mm, 51.87% (Tabla 7). El extracto acuoso, en cambio, mostró halos de menor tamaño, con valores cercanos a 8–9 mm en concentraciones altas, y porcentajes de inhibición de entre 50–55% (Tabla 8). En análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre las especies bacterianas en la mayoría de los tratamientos, salvo a 1.25 mg/mL, donde se evidenció una diferencia leve entre *S. mutans* y *S. gordonii* Grafica 3).

Tabla 8. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto metanólico de *Justicia spicigera* contra *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii* (ATCC). $\bar{x}$ = Promedio. σ = Desviación estándar. IR=Inhibición relativa. C+ = Control positivo. C- = Control negativo.

Conc. mg/mL	<i>S. sobrinus</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	%	IR.	<i>S. mutans</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	%	IR.	<i>S. gordonii</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	%	IR.
	1	2	3				1	2	3				1	2	3			
50	10	10	10	10 $\pm$ 0	58.82		9.5	9.5	9.5	9.5 $\pm$ 0	59.37		9	9	9	9 $\pm$ 0	56.25	
15	9.5	9.5	9	9.3 $\pm$ 0.23	54.70		9	9	8	8.6 $\pm$ 0.47	53.75		9	8	8	8.3 $\pm$ 0.23	51.87	
10	9	9	9	9 $\pm$ 0	52.94		8	8.5	8.5	8.3 $\pm$ 0.23	51.87		8.5	7.5	7.5	7.8 $\pm$ 0.23	48.75	
5	8.5	9	8.5	8.6 $\pm$ 0.23	50.58		8	8	8.5	8.1 $\pm$ 0.23	50.62		7	7	8.5	7.5 $\pm$ 0	46.87	
2.5	8	8	8.5	8.1 $\pm$ 0.23	47.64		7	7.5	7	7.1 $\pm$ 0.23	44.37		6.5	8.5	6.5	7.1 $\pm$ 0.23	44.37	
1.25	7.5	7.5	8	7.6 $\pm$ 0.23	44.70		6	6	6	6 $\pm$ 0	37.5		6	6	7	6.3 $\pm$ 0.23	39.37	
C+	17	17	17	17 $\pm$ 0	-		16	16	16	16 $\pm$ 0	-		16	16	16	16 $\pm$ 0	-	
C-	0	0	0	0	-		0	0	0	0	-		0	0	0	0	-	

Grafica 3. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto metanólico de *Justicia spicigera* frente a *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii*. Los datos se presentan como media $\pm \sigma$.

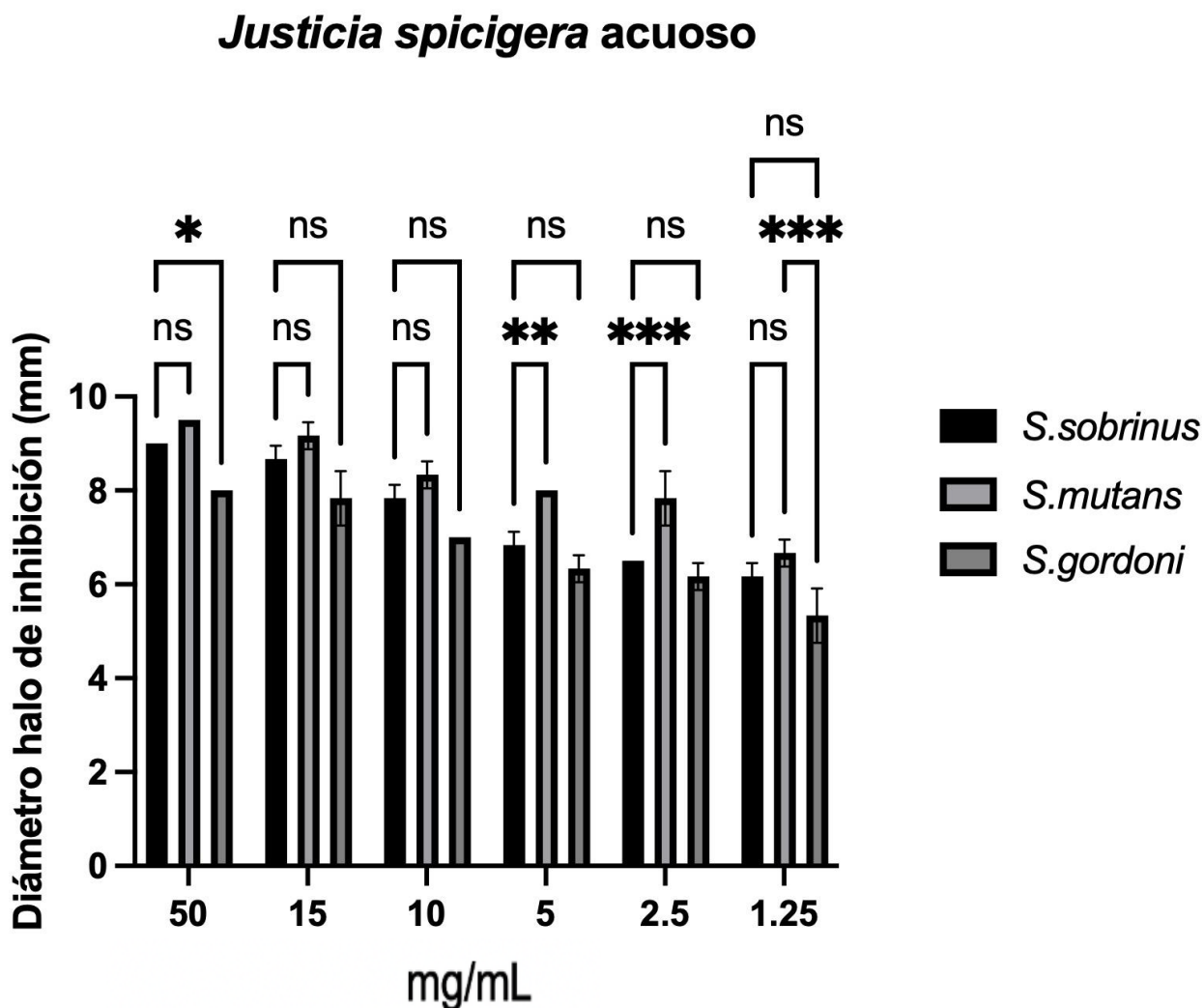


El análisis estadístico reveló diferencias significativas entre las especies bacterianas, siendo *S. sobrinus* la más sensible al extracto acuoso, en contraste con *S. mutans* y *S. gordonii*, que no presentaron diferencias significativas entre sí (Grafica 4).

Tabla 9. Diámetro medio de halos de inhibición y porcentaje de inhibición del extracto acuoso de *Justicia spicigera* contra *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii* (ATCC). $\bar{x}$ = Promedio. σ = Desviación estándar. IR=Inhibición relativa. C+ = Control positivo. C- = Control negativo.

Conc. mg/mL	<i>S. sobrinus</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. mutans</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.	<i>S. gordonii</i>			$\bar{x} \pm \sigma$	% IR.
	1	2	3			1	2	3			1	2	3		
50	9	9	9	9±0	52.94	9.5	9.5	9.5	9.5±0	59.37	8	8	8	8±0	50
15	9	8.5	8.5	8.6±0.23	50.58	9	9	9.5	9.1±0.23	56.87	7.5	8.5	7.5	7.8±0.47	48.78
10	8	8	7.5	7.8±0.23	45.88	8	8.5	8.5	8.3±0.23	51.87	7	7	7	7±0	43.75
5	7	7	6.5	6.8±0.23	40	8	8	8	8±0	50	6.5	6.5	6	6.3±0.23	39.37
2.5	6.5	6.5	6.5	6.5±0	38.23	7.5	7.5	8.5	7.8±0.47	48.75	6	6	6.5	6.1±0.23	38.12
1.25	6	6	6.5	6.1±0.23	35.88	6.5	6.5	7	6.6±0.23	41.25	5	5	6	5.3±0.47	33.12
C+	17	17	17	17±0	-	16	16	16	16±0	-	16	16	16	16±0	-
C-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-

Grafica 4. Diámetro promedio del halo de inhibición producido por el extracto acuoso de *Justicia spicigera* frente a *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. gordonii*. Los datos se presentan como media $\pm \sigma$.



6.4 Actividad hemolítica de los extractos acuosos y metanólicos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera*.

En la prueba de hemólisis in vitro, los extractos evaluados presentaron valores bajos de actividad hemolítica en eritrocitos humanos. El extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* mostró porcentajes de hemólisis que oscilaron entre 3.15 y 11.03 % en el rango de concentraciones de 20 a 800 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 10). En contraste, el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* registró un valor de 89.25% a la concentración de 800 $\mu\text{g/mL}$. Por su parte, los extractos de *Justicia spicigera* evidenciaron una actividad hemolítica mínima. El extracto acuoso presentó un 12.17%

de hemólisis a 800 µg/mL, mientras que el extracto metanólico alcanzó un valor de 5.75% en la misma concentración (Tabla 11).

Tabla 10. Ensayo del porcentaje de hemólisis de *Cymbopogon citratus* acuoso.

Concentración (µg/mL)	̄x porcentaje de hemólisis ± σ.
	<i>Cymbopogon citratus</i> acuoso.
800	11.033±0.81
240	9.44±0.66
160	5.74±0.38
80	3.56±0.26
40	3.47±0.28
20	3.15±0.57

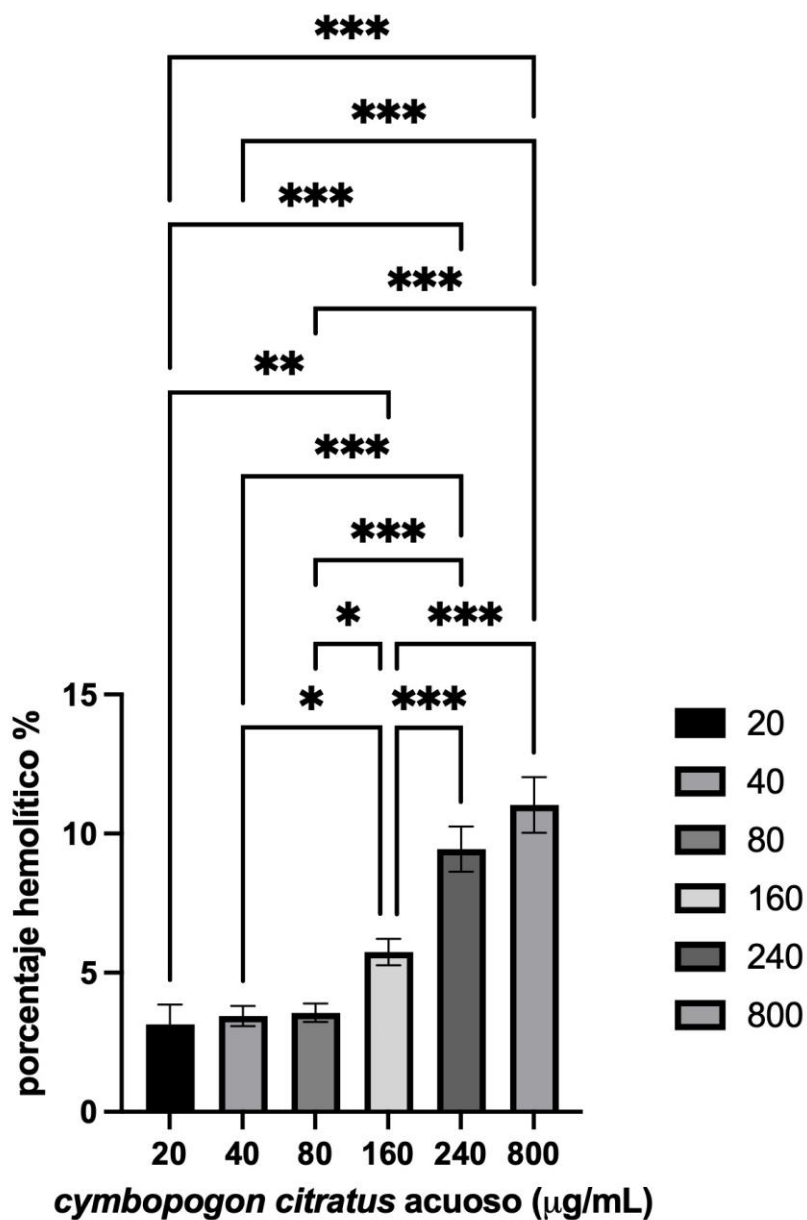
Tabla 11. Ensayo del porcentaje de hemólisis de *Cymbopogon citratus* metanólico, *Justicia spicigera* metanólico y acuoso.

Concentración (µg/mL)	̄x porcentaje de hemólisis ± σ.		
	<i>Cymbopogon citratus</i> metanólico.	<i>Justicia spicigera</i> acuoso.	<i>Justicia spicigera</i> metanólico.
1,000	89.25±7.88	12.17±7.01	5.75±0.056
80	46.22±1.02	6.17±0.25	4.01±0.079
40	4.38±0.20	5.87±0.22	3.31±0.0075
20	3.17±0.02	5.66±0.14	3.10±0.28

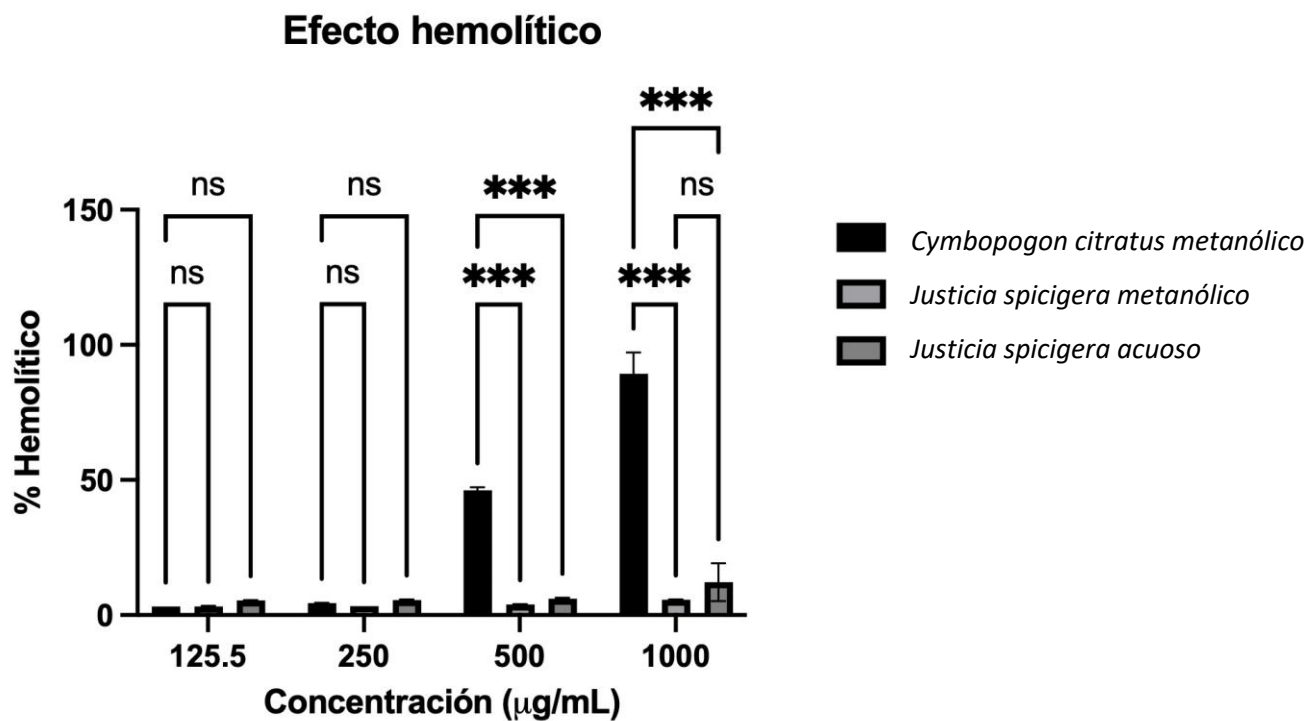
El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre la mayoría de las concentraciones del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus*. No obstante, incluso en las concentraciones más elevadas, los valores obtenidos se ubicaron dentro del rango considerado como no hemolítico (Grafica 5). El extracto metanólico como el acuoso de *Justicia spicigera* mostraron porcentajes de hemólisis mínimos en todas las concentraciones evaluadas, sin diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Por su parte, el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* presentó un incremento progresivo en la hemólisis conforme aumentó la concentración, alcanzando 46.22% y 89.25% a 500 y 1000 µg/mL, respectivamente. No obstante, el IC50 reveló

un valor de 606.82 $\mu\text{g/mL}$, lo que establece que se requieren concentraciones elevadas para inducir un 50% de hemólisis, clasificándolo como no hemolítico (Grafica 5).

Grafica 5. Porcentaje de hemólisis causado por el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus*. Los datos se muestran como media $\pm \sigma$.



Grafica 6. Porcentaje de hemólisis causado por el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* y el extracto acuoso de *Justicia spicigera*. Los datos se muestran como media $\pm \sigma$.



7.- DISCUSIÓN.

Los extractos metanólicos y acuosos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* mostraron actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus gordonii*, siendo más potente el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus*, que alcanzó hasta un 81.25% de inhibición frente a *Streptococcus mutans*. Por otro lado, las pruebas de hemólisis in vitro revelaron que ambos extractos presentaron baja citotoxicidad en eritrocitos humanos, con valores menores al 12% de hemólisis en las concentraciones evaluadas, lo que indica un perfil de seguridad favorable.

En nuestro estudio, empleamos el análisis fitoquímico para identificar los principales conjuntos de metabolitos presentes en las plantas analizadas, siguiendo el enfoque de Vasconcelos et al. (2022) con *Myrcia vittoriana tropical* y de Da Silva et al. (2023) con *Talisia esculenta*.

En el presente protocolo de investigación, utilizamos la técnica de Kirby-Bauer para analizar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Justicia spicigera* y *Cymbopogon citratus*. Este método ha sido ampliamente adoptado en estudios previos, lo que respalda su validez y reproducibilidad. Por ejemplo, por More et al. (2022), Shivakumar et al. (2022) y Nadeem et al. (2022) emplearon esta técnica para evaluar la actividad antimicrobiana de diversas plantas, confirmando su capacidad para identificar compuestos antimicrobianos eficaces.

La difusión en agar por pozo ha demostrado ser una herramienta ampliamente utilizada en la investigación microbiológica debido a su simplicidad, bajo costo y rapidez de ejecución. Estas características la convierten en una técnica apropiada para la evaluación preliminar de la actividad antibacteriana de extractos vegetales. Diversos autores han respaldado su aplicación en este contexto, por ejemplo, Manandhar et al. (2019) emplearon esta metodología para determinar la eficacia antimicrobiana de diferentes plantas medicinales, mientras que Hossain et al. (2022) la señalaron como un procedimiento confiable en la valoración de productos naturales.

Para evaluar el porcentaje de hemólisis inducido por *Justicia spicigera* y *Cymbopogon citratus*, se emplearon eritrocitos humanos, siguiendo un método previamente utilizado en diversos estudios, como los de Elizondo et al. (2024), Khalili et al. (2014) y Boussoulaim et al. (2022), en los cuales se demostró su efectividad.

Las propiedades antibacterianas observadas en *Cymbopogon citratus* se asocian con la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, taninos y saponinas. Este resultado coincide con lo reportado en estudios fitoquímicos previos realizados por Ugochi et al. (2025), Cortes et al. (2023) y Kiani et al. (2022), quienes señalaron que dichos compuestos contribuyen

de manera significativa a la actividad antimicrobiana de la planta. De manera complementaria, Rodríguez et al. (2023) llevaron a cabo un análisis fitoquímico in vitro del extracto de *Justicia spicigera*, en el cual se identificaron carbohidratos, cumarinas, quinonas y taninos coincidiendo con nuestros resultados.

Los hallazgos obtenidos en este estudio coinciden con investigaciones previas que han demostrado la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* contra *Streptococcus mutans*. Pallavi et al. (2024) analizaron el impacto de diversos extractos vegetales sobre *S. mutans*, destacando la capacidad de *Cymbopogon citratus* para inhibir la formación de biopelículas y la adherencia bacteriana. Este hallazgo es de gran relevancia, ya que la adhesión inicial de *S. mutans* a superficies dentales es un paso clave sobre la formación de biofilm bacteriano y en la progresión de la caries. Asimismo, Sugiaman et al. (2024) investigaron el uso de nano emulsiones de extracto de *Cymbopogon citratus* en resinas acrílicas, demostrando su capacidad como agente antibiofilm. En comparación con estos estudios, nuestros resultados refuerzan la actividad antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* contra *S. mutans*, pero también evidencian su efecto sobre otras especies estreptocócicas, como *S. sobrinus* y *S. gordonii*, ampliando su espectro de acción en el microbioma oral.

Hasta el momento, no se habían realizado estudios que evaluaran específicamente la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus*, ni del extracto acuoso y metanólico de *Justicia spicigera* frente a *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* y *S. gordonii*. Sin embargo, en la investigación realizada por Erhabor et al. (2019) se reportó actividad significativa del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* contra *Staphylococcus saprophyticus*, con halos de inhibición de hasta 21.33mm. Este hallazgo confirma el potencial antibacteriano del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* frente a bacterias Grampositivas, lo que refuerza la importancia de continuar explorando su eficacia frente a especies orales estreptocócicas de relevancia clínica. Mientras que en el extracto metanólico de *Justicia spicigera* se ha observado actividad antibacteriana contra diversas bacterias, como *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* según De La Cruz et al. (2022) y Astro et al. (2022).

Elizondo et al. (2022) reportaron que el extracto metanólico de *Cymbopogon citratus* presentó actividad hemolítica, aunque dentro de rangos considerados seguros. De manera complementaria, Mendes et al. (2022) señalaron que las fracciones de acetato de etilo y cloroformo de esta especie ejercieron hemólisis sobre células sanguíneas humanas y provocaron alteraciones en la membrana eritrocitaria a concentraciones elevadas. En concordancia con nuestros hallazgos, Hussain et al. (2023) observaron que los extractos etanólico y acuoso generaron un porcentaje de

hemólisis muy bajo (2.02–4.90 %) en eritrocitos humanos, lo que respalda su potencial seguridad para aplicaciones en humanos, sin embargo, dicho estudio no especifica la concentración utilizada en los ensayos. Elizondo et al. (2024) reportaron que los extractos acuoso y metanólico de *Justicia spicigera* no presentaron actividad hemolítica incluso a concentraciones elevadas (1 mg/mL), hallazgo que resulta consistente con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

8.- CONCLUSION.

Los resultados obtenidos permiten aceptar la hipótesis planteada, ya que los extractos de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* mostraron actividad inhibitoria frente a bacterias asociadas al desarrollo de caries dental, sin evidenciar hemólisis significativa en eritrocitos humanos en valores probados.

En conjunto, estos hallazgos respaldan el potencial de *Cymbopogon citratus* y *Justicia spicigera* como fuentes de compuestos bioactivos con actividad antibacteriana frente a bacterias causantes de caries dental, proponiéndolos como candidatos para el desarrollo de alternativas naturales en la prevención y control de la caries dental.

9. REFERENCIAS.

- Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S. R., Chakraborty, B., Wen, Z. T., Richards, V. P., Brady, L. J., & Lemos, J. A. (2018). Biology of Oral Streptococci. *Microbiology Spectrum*, 6(5).
- Ait Abderrahim, L., Taïbi, K., Ait Abderrahim, N., Boussaid, M., Rios-Navarro, C., & Ruiz-Saurí, A. (2019). Euphorbia honey and garlic: Biological activity and burn wound recovery. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 45(7), 1695–1706.
- Al Saffan A. D. (2023). Current Approaches to Diagnosis of Early Proximal Carious Lesion: A Literature Review. *Cureus*, 15(8), e43489.
- Alvarez Sandoval, J. (2024). Determinación de la actividad antineoplásica in vitro de los extractos metanólicos de *Sechium edule* (Jacq.)(Swartz) var. *nigrum spinosum* y *Vernonia greggii* nanoencapsulado sobre células tumorales humanas (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- American Academy of Pediatric Dentistry. (2024). Policy on early childhood caries (ECC): Consequences and preventive strategies. En *The reference manual of pediatric dentistry* (pp. 89–92). American Academy of Pediatric Dentistry.
- Anaya-Esparza, L. M., Ramos-Aguirre, D., Zamora-Gasga, V. M., Yahia, E., & Montalvo-González, E. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Justicia spicigera* leaves. *Food science and biotechnology*, 27(4), 1093–1102.
- Ángeles-López, G. E., González-Trujano, M. E., Rodríguez, R., Déciga-Campos, M., Brindis, F., & Ventura-Martínez, R. (2021). Gastrointestinal activity of *Justicia spicigera* Schltdl. in experimental models. *Natural product research*, 35(11), 1847–1851.
- Anil, S., & Anand, P. S. (2017). Early Childhood Caries: Prevalence, Risk Factors, and Prevention. *Frontiers in pediatrics*, 5, 157.
- Ansari, P., Reberio, A. D., Ansari, N. J., Kumar, S., Khan, J. T., Chowdhury, S., Abd El-Mordy, F. M., Hannan, J. M. A., Flatt, P. R., Abdel-Wahab, Y. H. A., & Seidel, V. (2025). Therapeutic Potential of Medicinal Plants and Their Phytoconstituents in Diabetes, Cancer, Infections, Cardiovascular Diseases, Inflammation and Gastrointestinal Disorders. *Biomedicines*, 13(2), 454.
- Arage, M., Eguale, T., & Giday, M. (2022). Evaluation of Antibacterial Activity and Acute Toxicity of Methanol Extracts of *Artemisia absinthium*, *Datura stramonium*, and *Solanum anguivi*. *Infection and drug resistance*, 15, 1267–1276.

- Ashraf, S., Sayeed, S. A., Ali, R., Vohra, F., Ahmed, N., & Alam, M. K. (2022). Assessment of Potential Benefits of Functional Food Characteristics of Beetroot Energy Drink and Flavored Milk. *BioMed research international*, 2022, 1971018.
- Castro-Muñoz, R., León-Becerril, E. y García-Depraet, O. (2022). Más allá de la exploración de la mucílago (*Justicia spicigera*): Revisión de sus propiedades biológicas, moléculas bioactivas y química de materiales. *Procesos*, 10 (5), 1035.
- Azevedo, M. J., Garcia, A., Costa, C. F. F. A., Ferreira, A. F., Falcão-Pires, I., Brandt, B. W., Ramalho, C., Zaura, E., & Sampaio-Maia, B. (2023). The contribution of maternal factors to the oral microbiota of the child: Influence from early life and clinical relevance. *The Japanese dental science review*, 59, 191–202.
- Babaeekhou, L., Mehrizi, A. A., & Ghane, M. (2020). *Streptococcus mutans*, sugar consumption, and oral hygiene: Which one has more effect on decayed, missing, and filled teeth (DMFT) score in Iranian adults?. *Dental research journal*, 17(2), 134–141.
- Badria, F. A., & Zidan, O. A. (2004). Natural products for dental caries prevention. *Journal of medicinal food*, 7(3), 381–384.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71–79.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493–496.
- Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, F. (2019). Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de microbiología*, 51(2), 103–109.
- Bittner Fialová, S., Rendecková, K., Mučaji, P., Nagy, M., & Slobodníková, L. (2021). Antibacterial Activity of Medicinal Plants and Their Constituents in the Context of Skin and Wound Infections, Considering European Legislation and Folk Medicine-A Review. *International journal of molecular sciences*, 22(19), 10746.
- Boudechicha, A., Aouf, A., Farouk, A., Ali, H. S., Elkhadragey, M. F., Yehia, H. M., & Badr, A. N. (2023). Microfluidizing Technique Application for Algerian *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Effects Enhanced Volatile Content, Antimicrobial, and Anti-Mycotoxigenic Properties. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(14), 5367.

- Boussoulalim, N., Trabsa, H., Krache, I., Ouhida, S., Arrar, L., & Baghiani, A. (2022). In vitro Anti-hemolytic Effect, in vivo Anti-inflammatory and in vitro Anti-oxidant Activity of *Anchusa azurea* Mill. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*, 21(1), 24–33.
- Carlini, E. A., Contar J de, D. P., Silva-Filho, A. R., da Silveira-Filho, N. G., Frochtengarten, M. L., & Bueno, O. F. (1986). Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *Journal of ethnopharmacology*, 17(1), 37–64.
- Chan, V., Holcomb, T., Kaspar, J. R., & Shields, R. C. (2025). Characterization of MreCD in *Streptococcus mutans*. *Journal of oral microbiology*, 17(1), 2487643.
- Chen, X., Daliri, E. B., Kim, N., Kim, J. R., Yoo, D., & Oh, D. H. (2020). Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(7), 569.
- Cheng, J. K., Faniyan, A., Chan Yuen, J., Myers, T., Fleck, M., Burgess, J., Williams, K., Wijeratne, R., Webster, R., Cox, J., & Ng, M. W. (2019). Changes in Oral Health Behaviors Associated With a Nursing Intervention in Primary Care. *Global pediatric health*, 6, 2333794X19845923.
- Cocom, L. M., Wang, H. C., Tseng, K. C., & Chu, Y. L. (2025). The Antimicrobial and Antioxidant Properties of Raw, Aged, and Fermented Garlic: Influence of Processing Methods. *Food science & nutrition*, 13(8), e70743.
- Conrads, G., de Soet, J. J., Song, L., Henne, K., Sztajer, H., Wagner-Döbler, I., & Zeng, A. P. (2014). Comparing the cariogenic species *Streptococcus sobrinus* and *S. mutans* on whole genome level. *Journal of oral microbiology*, 6, 26189.
- Cortes-Torres, A. G., López-Castillo, G. N., Marín-Torres, J. L., Portillo-Reyes, R., Luna, F., Baca, B. E., Sandoval-Ramírez, J., & Carrasco-Carballo, A. (2023). *Cymbopogon citratus* Essential Oil: Extraction, GC-MS, Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity, and In Silico Molecular Docking for Protein Targets Related to CNS. *Current issues in molecular biology*, 45(6), 5164–5179.
- Cui, G., Li, P., Wu, R., & Lin, H. (2022). *Streptococcus mutans* membrane vesicles inhibit the biofilm formation of *Streptococcus gordonii* and *Streptococcus sanguinis*. *AMB Express*, 12(1), 154.
- Cunha, G., D'Angieri Saugo, G., Gabrielli, M. A. C., Barbeiro, C. O., de Almeida, L. Y., Bufalino, A., & Pereira-Filho, V. A. (2024). Cytotoxicity evaluation of Chlorhexidine and Blue®M applied to a human gingival fibroblast (HGF-1) and keratinocytes (NOK-SI): In vitro study. *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*, 125(12 Suppl 2), 101923.

- da Silva Cordeiro, M. L., de Queiroz Aquino-Martins, V. G., da Silva, A. P., Naliato, G. F. S., Silveira, E. R., Theodoro, R. C., da Santos, D. Y. A. C., Rocha, H. A. O., & Scortecchi, K. C. (2023). Exploring the Antioxidant Potential of *Talisia esculenta* Using In Vitro and In Vivo Approaches. *Nutrients*, 15(17), 3855.
- Da Ressurreição, S., Pedreiro, S., Batista, M. T., & Figueirinha, A. (2022). Effect of Phenolic Compounds from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Leaves on Micellar Solubility of Cholesterol. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(21), 7338.
- D'Agostino, S., Ferrara, E., Valentini, G., Stoica, S. A., & Dolci, M. (2022). Exploring Oral Microbiome in Healthy Infants and Children: A Systematic Review. *International journal of environmental research and public health*, 19(18), 11403.
- de Andrade, S. F., Rocha, C., Pinheiro, E. J., Pereira-Leite, C., Costa, M. d. C., & Monteiro Rodrigues, L. (2023). Revealing the Protective Effect of Topically Applied *Cymbopogon citratus* Essential Oil in Human Skin through A Contact Model. *Cosmetics*, 10(1), 29.
- de Lima, P. M. N., Pereira, T. C., de Carvalho, L. S., Dos Santos, L. F., Oliveira, C. E. R., Ramos, L. P., Marcucci, M. C., Abu Hasna, A., & de Oliveira, L. D. (2024). Antimicrobial and synergistic effects of lemongrass and geranium essential oils against *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida* spp. *World journal of critical care medicine*, 13(3), 92531.
- de Souza, M. S., Vaz, J. D. S., Martins-Silva, T., Bomfim, R. A., & Cascaes, A. M. (2021). Ultra-processed foods and early childhood caries in 0-3-year-olds enrolled at Primary Healthcare Centers in Southern Brazil. *Public health nutrition*, 24(11), 3322–3330.
- De La Cruz-Jiménez, L., Hernández-Torres, M. A., Monroy-García, I. N., Rivas-Morales, C., Verde-Star, M. J., Gonzalez-Villasana, V., & Viveros-Valdez, E. (2022). Biological Activities of Seven Medicinal Plants Used in Chiapas, Mexico. *Plants* (Basel, Switzerland), 11(14), 1790.
- Del Carmen Juárez-Vázquez, M., Josabad Alonso-Castro, A., & García-Carrancá, A. (2013). Kaempferitrin induces immunostimulatory effects in vitro. *Journal of ethnopharmacology*, 148(1), 337–340.
- Dumitriu, A. S., Păunică, S., Nicolae, X. A., Bodnar, D. C., Albu, Ș. D., Suciu, I., Ciongaru, D. N., & Giurgiu, M. C. (2023). The Effectiveness of the Association of Chlorhexidine with Mechanical Treatment of Peri-Implant Mucositis. *Healthcare* (Basel, Switzerland), 11(13), 1918.
- Dzidic, M., Collado, M. C., Abrahamsson, T., Artacho, A., Stensson, M., Jenmalm, M. C., & Mira, A. (2018). Oral microbiome development during childhood: an ecological succession

- influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. The ISME journal, 12(9), 2292–2306.
- Elizondo-Luevano, J. H., Verde-Star, J., González-Horta, A., Castro-Ríos, R., Hernández-García, M. E., & Chávez-Montes, A. (2020). In Vitro Effect of Methanolic Extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*. The Korean journal of parasitology, 58(2), 135–145.
- Elizondo-Luévano, J. H., Gomez-Flores, R., Verde-Star, M. J., Tamez-Guerra, P., Romo-Sáenz, C. I., Chávez-Montes, A., Rodríguez-Garza, N. E., & Quintanilla-Licea, R. (2022). In Vitro Cytotoxic Activity of Methanol Extracts of Selected Medicinal Plants Traditionally Used in Mexico against Human Hepatocellular Carcinoma. Plants (Basel, Switzerland), 11(21), 2862.
- Elizondo-Luevano, J. H., Quintanilla-Licea, R., Castillo-Hernández, S. L., Sánchez-García, E., Bautista-Villarreal, M., González-Meza, G. M., Gloria-Garza, M. A., Rodríguez-Luis, O. E., Kluz, M. I., & Kačániová, M. (2024). In Vitro Evaluation of Anti-Hemolytic and Cytotoxic Effects of Traditional Mexican Medicinal Plant Extracts on Human Erythrocytes and Cell Cultures. Life, 14(9), 1176.
- Engel, A. S., Kranz, H. T., Schneider, M., Tietze, J. P., Piwowarczyk, A., Kuzius, T., Arnold, W., & Naumova, E. A. (2020). Biofilm formation on different dental restorative materials in the oral cavity. BMC oral health, 20(1), 162.
- Erhabor, J. O., Erhabor, R. C., & Ldu, M. (2019). In vitro antibacterial and cytogenotoxicological properties of the aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) leaf. African health sciences, 19(2), 2056–2067.
- Fabbrini, M., D'Amico, F., Barone, M., Conti, G., Mengoli, M., Brigidi, P., & Turrone, S. (2022). Polyphenol and Tannin Nutraceuticals and Their Metabolites: How the Human Gut Microbiota Influences Their Properties. Biomolecules, 12(7), 875.
- Fuentes, E., Granado, C., Moreno, C., Fernández, R., Hernández, J., & Palacios, M. (2022). Perfil proteico y de carbohidratos del veneno de la *Scolopendra gigantea*. Salus, 26(2), 9-17.
- Gao, S., Liu, G., Li, J., Chen, J., Li, L., Li, Z., Zhang, X., Zhang, S., Thorne, R. F., & Zhang, S. (2020). Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. Frontiers in cellular and infection microbiology, 10, 603858.
- Gao, H., Li, X., Chen, X., Hai, D., Wei, C., Zhang, L., & Li, P. (2022). The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes. Journal of microbiology and biotechnology, 32(10), 1226–1233.

- García-Ríos, R. I., Mora-Pérez, A., González-Torres, D., Carpio-Reyes, R. J., & Soria-Fregozo, C. (2019). Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 55, 9–13.
- Gaynes R. (2017). The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of Clinical Use. *Emerging Infectious Diseases*, 23(5), 849–853.
- Gloria-Garza, M. A., Reyna-Martínez, G. R., Jiménez-Salas, Z., Campos-Góngora, E., Kačániová, M., Aguirre-Cavazos, D. E., Bautista-Villarreal, M., Leos-Rivas, C., & Elizondo-Luevano, J. H. (2025). Medicinal Plants Against Dental Caries: Research and Application of Their Antibacterial Properties. *Plants*, 14(9), 1390.
- González-Trujano, M. E., Domínguez, F., Pérez-Ortega, G., Aguillón, M., Martínez-Vargas, D., Almazán-Alvarado, S., & Martínez, A. (2017). *Justicia spicigera* Schltdl. and kaempferitrin as potential anticonvulsant natural products. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 92, 240–248.
- Hawks, M. K., Crawford, P. F., 3rd, Moss, D. A., & Snyder, M. J. (2021). Integrative Medicine: Herbal Supplements. *FP essentials*, 505, 23–27.
- Hossain, M. L., Lim, L. Y., Hammer, K., Hettiarachchi, D., & Locher, C. (2022). A Review of Commonly Used Methodologies for Assessing the Antibacterial Activity of Honey and Honey Products. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(7), 975.
- Hussain, S., Javed, W., Tajammal, A., Khalid, M., Rasool, N., Riaz, M., Shahid, M., Ahmad, I., Muhammad, R., & Shah, S. A. A. (2023). Synergistic Antibacterial Screening of *Cymbopogon citratus* and *Azadirachta indica*: Phytochemical Profiling and Antioxidant and Hemolytic Activities. *ACS omega*, 8(19), 16600–16611.
- Jakubovics, N. S., Kerrigan, S. W., Nobbs, A. H., Strömberg, N., van Dolleweerd, C. J., Cox, D. M., Kelly, C. G., & Jenkinson, H. F. (2005). Functions of cell surface-anchored antigen I/II family and Hsa polypeptides in interactions of *Streptococcus gordonii* with host receptors. *Infection and immunity*, 73(10), 6629–6638.
- James, P., Worthington, H. V., Parnell, C., Harding, M., Lamont, T., Cheung, A., Whelton, H., & Riley, P. (2017). Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *The Cochrane database of systematic reviews*, 3(3), CD008676.
- Julsrigival, J., Sirisa-Ard, P., Julsrigival, S., & Akarchariya, N. (2021). Antiviral medicinal plants found in Lanna traditional medicine. *Chinese herbal medicines*, 13(4), 494–501.

- Khalili, M., Ebrahimzadeh, M. A., & Safdari, Y. (2014). Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 65(4), 399–406.
- Khosakueng, M., Taweechaisupapong, S., Boonyanugomol, W., Prapatpong, P., Wongkaewkhiaw, S., & Kanthawong, S. (2024). *Cymbopogon citratus* L. essential oil as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic-resistant bacteria isolated from chronic rhinosinusitis patients. *Biofouling*, 40(1), 26–39.
- Kennedy D. O. (2019). Phytochemicals for Improving Aspects of Cognitive Function and Psychological State Potentially Relevant to Sports Performance. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 49(Suppl 1), 39–58.
- Kiani, H. S., Ali, A., Zahra, S., Hassan, Z. U., Kubra, K. T., Azam, M., & Zahid, H. F. (2022). Phytochemical Composition and Pharmacological Potential of Lemongrass (*Cymbopogon*) and Impact on Gut Microbiota. *AppliedChem*, 2(4), 229-246.
- Kim, A. R., Ahn, K. B., Kim, H. Y., Seo, H. S., Kum, K. Y., Yun, C. H., & Han, S. H. (2017). *Streptococcus gordonii* lipoproteins induce IL-8 in human periodontal ligament cells. *Molecular immunology*, 91, 218–224.
- Könönen, E., Fteita, D., Gursoy, U. K., & Gursoy, M. (2022). *Prevotella* species as oral residents and infectious agents with potential impact on systemic conditions. *Journal of oral microbiology*, 14(1), 2079814.
- Küpel Akkol, E., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., & Capasso, R. (2020). Coumarins and Coumarin-Related Compounds in Pharmacotherapy of Cancer. *Cancers*, 12(7), 1959.
- Latimer, J., Munday, J. L., Buzza, K. M., Forbes, S., Sreenivasan, P. K., & McBain, A. J. (2015). Antibacterial and anti-biofilm activity of mouthrinses containing cetylpyridinium chloride and sodium fluoride. *BMC microbiology*, 15, 169.
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., ... & Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*, 7(1), 10-1128.
- Loo, C. Y., Corliss, D. A., & Ganeshkumar, N. (2000). *Streptococcus gordonii* biofilm formation: identification of genes that code for biofilm phenotypes. *Journal of bacteriology*, 182(5), 1374–1382.
- Malcangi, G., Inchingolo, A. M., Casamassima, L., Trilli, I., Ferrante, L., Inchingolo, F., Palermo, A., Inchingolo, A. D., & Dipalma, G. (2025). Effectiveness of Herbal Medicines with Anti-Inflammatory, Antimicrobial, and Antioxidant Properties in Improving Oral Health and Treating Gingivitis and Periodontitis: A Systematic Review. *Nutrients*, 17(5), 762.

- Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of tropical medicine*, 2019, 1895340.
- Martínez Delgado, A. J. (2018). Actividad antimicótica y citotóxica del aceite esencial de *Citrus paradisi* contra *Candida albicans* ATCC (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Masood, K., Yasmin, H., Batool, S., Ilyas, N., Nosheen, A., Naz, R., Khan, N., Nadeem Hassan, M., Aldhahrani, A., & Althobaiti, F. (2021). A strategy for mitigating avian colibacillosis disease using plant growth promoting rhizobacteria and green synthesized zinc oxide nanoparticles. *Saudi journal of biological sciences*, 28(9), 4957–4968.
- Marrelli, M., Amantea, M., & Tatullo, M. (2015). A comparative, randomized, controlled study on clinical efficacy and dental staining reduction of a mouthwash containing Chlorhexidine 0.20% and Anti Discoloration System (ADS). *Annali di stomatologia*, 6(2), 35–42.
- Márquez-Pérez, K., Zúñiga-López, C. M., Torres-Rosas, R., & Argueta-Figueroa, L. (2023). Prevalencia reportada de caries dental en niños y adolescentes mexicanos. *Revista Medica del IMSS*, 61(5).
- Maru, M., Teklemariam, Z., & Admassu, D. (2023). Magnitude, associated factors, and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial isolates among adult dental caries patients attending Hiwot Fana comprehensive specialized university hospital, Harar, Eastern Ethiopia. *PloS one*, 18(2), e0278829.
- Maybodi, F. R., Herandi, V., & Vaezpour, M. S. (2025). Effect of aromatherapy with lemongrass (*Cymbopogon citratus*) on the anxiety of patients undergoing scaling and root planning: a randomized clinical trial. *BMC complementary medicine and therapies*, 25(1), 100.
- Mazurel, D., Brandt, B. W., Boomsma, M., Crielaard, W., Lagerweij, M., Exterkate, R. A. M., & Deng, D. M. (2025). *Streptococcus mutans* and Caries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of dental research*, 104(6), 594–603.
- Mendes Hacke, A. C., D'Avila da Silva, F., Lima, D., Rebuglio Velloso, J. C., Teixeira Rocha, J. B., Marques, J. A., & Pereira, R. P. (2022). Cytotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf fractions, essential oil, citral, and geraniol in human leukocytes and erythrocytes. *Journal of ethnopharmacology*, 291, 115147.
- Mohanty, R., Asopa, S. J., Joseph, M. D., Singh, B., Rajguru, J. P., Saidath, K., & Sharma, U. (2019). Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *Journal of family medicine and primary care*, 8(11), 3480–3486.

- More, P. R., Zannella, C., Folliero, V., Foglia, F., Troisi, R., Vergara, A., Franci, G., De Filippis, A., & Galdiero, M. (2022). Antimicrobial Applications of Green Synthesized Bimetallic Nanoparticles from *Ocimum basilicum*. *Pharmaceutics*, 14(11), 2457.
- Moreno-Barrera, A., Morales-Ruiz, P., Ribas Pérez, D., Flores-Fraile, J., & Castaño-Seiquer, A. (2023). Analysis and Evaluation of Dental Caries in a Mexican Population: A Descriptive Transversal Study. *International journal of environmental research and public health*, 20(5), 3873.
- Murillo-Villicaña, M., Noriega-Cisneros, R., Peña-Montes, D. J., Huerta-Cervantes, M., Aguilera-Méndez, A., Cortés-Rojo, C., Salgado-Garciglia, R., Montoya-Pérez, R., Riveros-Rosas, H., & Saavedra-Molina, A. (2022). Antilipidemic and Hepatoprotective Effects of Ethanol Extract of *Justicia spicigera* in Streptozotocin Diabetic Rats. *Nutrients*, 14(9), 1946.
- Nadeem, A., Shahzad, H., Ahmed, B., Muntean, T., Waseem, M., & Tabassum, A. (2022). Phytochemical profiling of antimicrobial and potential antioxidant plant: *Nepeta cataria*. *Frontiers in plant science*, 13, 969316.
- Nassar, Y., & Brizuela, M. (2023). The Role of Fluoride on Caries Prevention. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Negróni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Ed. Médica Panamericana.
- Neun, B. W., Potter, T. M., & Dobrovolskaia, M. A. (2020). Detection of Bacterial Contamination Using Tryptic Soy Broth Agar Plates: Version 3. In *National Cancer Institute's Nanotechnology Characterization Laboratory Assay Cascade Protocols*. National Cancer Institute (US).
- Neun, B. W., Cedrone, E., & Dobrovolskaia, M. A. (2020, mayo). Análisis de las propiedades hemolíticas de las nanopartículas (Versión 4; Método NCL ITA-1). En *Nanotechnology Characterization Laboratory assay cascade protocols*. National Cancer Institute.
- Ogwu, M. C., & Izah, S. C. (2025). Honey as a Natural Antimicrobial. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 14(3), 255.
- Olate, P., Martínez, A., Sans-Serramitjana, E., Cortés, M., Díaz, R., Hernández, G., Paz, E. A., Sepúlveda, N., & Quiñones, J. (2025). The Infant Oral Microbiome: Developmental Dynamics, Modulating Factors, and Implications for Oral and Systemic Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(16), 7983.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014–2023. Organización Mundial de la Salud.

- Ortiz-Andrade, R., Cabañas-Wuan, A., Arana-Argáez, V. E., Alonso-Castro, A. J., Zapata-Bustos, R., Salazar-Olivo, L. A., Domínguez, F., Chávez, M., Carranza-Álvarez, C., & García-Carrancá, A. (2012). Antidiabetic effects of *Justicia spicigera* Schltdl (Acanthaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 455–462.
- Park, O.-J., Kwon, Y., Park, C., So, Y. J., Park, T. H., Jeong, S., Im, J., Yun, C.-H., & Han, S. H. (2020). *Streptococcus gordonii*: Pathogenesis and Host Response to Its Cell Wall Components. *Microorganisms*, 8(12), 1852.
- Patano, A., Malcangi, G., Sardano, R., Mastrodonato, A., Garofoli, G., Mancini, A., Inchingolo, A. D., Di Venere, D., Inchingolo, F., Dipalma, G., & Inchingolo, A. M. (2023). White Spots: Prevention in Orthodontics-Systematic Review of the Literature. *International journal of environmental research and public health*, 20(8), 5608.
- Patel, N. S., Mehta, M., Fu, Y., Desai, V., Lala, H. S., Parikh, H., Patel, M. M., & Thakor, U. B. (2025). A Review of Early Childhood Caries: Risk Factors, Management, and Policy Recommendations. *Cureus*, 17(5), e83767.
- Pallavi, P., Sahoo, P. P., Sen, S. K., & Raut, S. (2024). Comparative evaluation of anti-biofilm and anti-adherence potential of plant extracts against *Streptococcus mutans*: A therapeutic approach for oral health. *Microbial pathogenesis*, 188, 106514.
- Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., & Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17030.
- Pitts, N. B., Baez, R. J., Diaz-Guillory, C., Donly, K. J., Alberto Feldens, C., McGrath, C., Phantumvanit, P., Seow, W. K., Sharkov, N., Songpaisan, Y., Tinanoff, N., & Twetman, S. (2019). Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *Journal of dentistry for children* (Chicago, Ill.), 86(2), 72.
- Poppolo Deus, F., & Ouanounou, A. (2022). Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *International dental journal*, 72(3), 269–277.
- Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F., & Zanotti, I. (2019). Polyphenol Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Disorders: A Review and Meta-Analysis. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 351.
- Qiu, W., Zhou, Y., Li, Z., Huang, T., Xiao, Y., Cheng, L., Peng, X., Zhang, L., & Ren, B. (2020). Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. *BioMed research international*, 2020, 5658212.

- Ramirez, L. S., & Diaz, H. E. (2007). Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*Rumex conglomeratus*). *Scientia et Technica*, 13(33), 397-400.
- Rana, A., Samtiya, M., Dhewa, T., Mishra, V., & Aluko, R. E. (2022). Health benefits of polyphenols: A concise review. *Journal of food biochemistry*, 46(10), e14264.
- Raszewski, Z., Nowakowska-Toporowska, A., Weźgowiec, J., & Nowakowska, D. (2019). Design and characteristics of new experimental chlorhexidine dental gels with anti-staining properties. *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*, 28(7), 885–890.
- Rathee, M., & Sapra, A. (2023). Dental Caries. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Roberts, W. E., Mangum, J. E., & Schneider, P. M. (2022). Pathophysiology of Demineralization, Part I: Attrition, Erosion, Abfraction, and Noncarious Cervical Lesions. *Current osteoporosis reports*, 20(1), 90–105.
- Röhner, E., Jacob, B., Böhle, S., Rohe, S., Löffler, B., Matziolis, G., & Zippelius, T. (2020). Sodium hypochlorite is more effective than chlorhexidine for eradication of bacterial biofilm of staphylococci and *Pseudomonas aeruginosa*. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*, 28(12), 3912–3918.
- Rodríguez-Garza, N. E., Quintanilla-Licea, R., Romo-Sáenz, C. I., Elizondo-Luevano, J. H., Tamez-Guerra, P., Rodríguez-Padilla, C., & Gomez-Flores, R. (2023). In Vitro Biological Activity and Lymphoma Cell Growth Inhibition by Selected Mexican Medicinal Plants. *Life (Basel, Switzerland)*, 13(4), 958.
- Roy, A., Khan, A., Ahmad, I., Alghamdi, S., Rajab, B. S., Babalghith, A. O., Alshahrani, M. Y., Islam, S., & Islam, M. R. (2022). Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. *BioMed research international*, 2022, 5445291.
- Ruksakiet, K., Hanák, L., Farkas, N., Hegyi, P., Sadaeng, W., Czumbel, L. M., Sang-Ngoen, T., Garami, A., Mikó, A., Varga, G., & Lohinai, Z. (2020). Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of endodontics*, 46(8), 1032–1041.e7.
- Sansores-España, D., Pech-Aguilar, A. G., Cua-Pech, K. G., Medina-Vera, I., Guevara-Cruz, M., Gutiérrez-Solis, A. L., Reyes-García, J. G., & Avila-Nava, A. (2022). Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Management of Urolithiasis: A Review of Preclinical Evidence,

- Bioactive Compounds, and Molecular Mechanisms. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(6), 2008.
- Selvaraj, K., Bharath, N., Natarajan, R., Dinesh, S., Murugesan, S., & Selvaraj, S. (2020). Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Toothpastes Containing Probiotic and Neem as Primary Ingredient on Salivary *Streptococcus mutans* in Melmaruvathur Population: An In Vivo Study. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 12(Suppl 1), S595–S600.
- Shah, R. K., & Yadav, R. N. S. (2015). Qualitative phytochemical analysis and estimation of total phenols and flavonoids in leaf extract of *sarcochlamys pulcherrima* wedd. *Glob J Biosci Biotechnol*, 4(1), 81-4.
- Shivakumar, V. H., Tegginamani, A. S., & Zain, N. M. (2022). Antimicrobial efficiency of *Tinospora cordifolia* and *Ocimum tenuiflorum* against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 26(4), 470–475.
- Siddon, A. J., & Tormey, C. A. (2019). The chemical and laboratory investigation of hemolysis. *Advances in clinical chemistry*, 89, 215–258.
- Silva, H., & Bárbara, R. (2022). Exploring the Anti-Hypertensive Potential of Lemongrass-A Comprehensive Review. *Biology*, 11(10), 1382.
- Sterzenbach, T., Helbig, R., Hannig, C., & Hannig, M. (2020). Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. *Clinical oral investigations*, 24(12), 4237–4260.
- Simmer, J. P., Hardy, N. C., Chinoy, A. F., Bartlett, J. D., & Hu, J. C. (2020). How Fluoride Protects Dental Enamel from Demineralization. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 10(2), 134–141.
- Simões, D. M., Malheiros, J., Antunes, P. E., Figueirinha, A., Cotrim, M. D., & Fonseca, D. A. (2020). Vascular activity of infusion and fractions of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in human arteries. *Journal of ethnopharmacology*, 258, 112947.
- Ślęzak, P., Śmiga, M., Smalley, J. W., Siemińska, K., & Olczak, T. (2020). *Porphyromonas gingivalis* HmuY and *Streptococcus gordonii* GAPDH-Novel Heme Acquisition Strategy in the Oral Microbiome. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 4150.
- Sugiaman, V. K., Saputri, R. I., Naliani, S., Wibisono, J. A. V., Jeffrey, Demolsky, W. L., Widowati, W., & Novianto, A. (2024). Characterization of Lemongrass Extract (*Cymbopogon citratus*) Nanoemulsion and Its Application as an Antibiofilm Agent in Acrylic Resin. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 16(Suppl 3), S2715–S2717.

- Taechakulwanijya, N., Weerapreeyakul, N., Barusrux, S., & Siriamornpun, S. (2016). Apoptosis-inducing effects of jujube (Zǎo) seed extracts on human Jurkat leukemia T cells. *Chinese medicine*, 11, 15.
- Tanabe, G., Churei, H., Takeuchi, Y., Hayashi, K., Kanasaki, A., Yoshida, Y., Toma, J., Araie, Y., & Ueno, T. (2021). Antibacterial effect of a disinfectant spray for sports mouthguards on *Streptococcus sobrinus*. *Dental research journal*, 18, 59.
- Thang Le, V. N., Kim, J. G., Yang, Y. M., & Lee, D. W. (2021). Risk Factors for Early Childhood Caries: An Umbrella Review. *Pediatric dentistry*, 43(3), 176–194.
- Tripathi, N., Zubair, M., & Sapra, A. (2025). Gram Staining. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of infection and public health*, 14(12), 1750–1766.
- Ugochi, U. J., Obinna, A. C., Emeka, E. A., Oluchi, A. E., Makeri, D., Theophilus, P., & Agwu, E. (2025). Therapeutic potential of *Chromolaena odorata*, *Vernonia amygdalina*, and *Cymbopogon citratus* against pathogenic Bacteria. *Scientific reports*, 15(1), 217.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(22), 5243.
- Vasconcelos, L. C., Carrijo, T. T., Venancio, A. N., Alves, T. A., Tuler, A. C., Hollunder, R. K., Garbin, M. L., Menini, L., & Praça-Fontes, M. M. (2022). Phytochemical screening and phytocytotoxic effects of the tropical *Myrcia vittoriana* (Myrtaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 94(3), e20210820.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041.
- Vesty, A., Gear, K., Boutell, S., Taylor, M. W., Douglas, R. G., & Biswas, K. (2020). Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of oral probiotic *Streptococcus salivarius* M18 on head and neck cancer patients post-radiotherapy: a pilot study. *Scientific reports*, 10(1), 13201.
- Warreth A. (2023). Dental Caries and Its Management. *International journal of dentistry*, 2023, 9365845.

- Wu, T., Zhu, W., Chen, L., Jiang, T., Dong, Y., Wang, L., Tong, X., Zhou, H., Yu, X., Peng, Y., Wang, L., Xiao, Y., & Zhong, T. (2023). A review of natural plant extracts in beverages: Extraction process, nutritional function, and safety evaluation. *Food research international* (Ottawa, Ont.), 172, 113185.
- Xia, L., Zhou, C., Mei, P., Jin, Z., He, H., Wang, L., Bai, Y., Chen, L., Li, W., Wang, J., Hu, M., Song, J., Cao, Y., Liu, Y., Hou, B., Wei, X., Niu, L., Lu, H., Ma, W., Wang, P., Fang, B. (2025). Expert consensus on the prevention and treatment of enamel demineralization in orthodontic treatment. *International journal of oral science*, 17(1), 13.
- Xiao, J., Fiscella, K. A., & Gill, S. R. (2020). Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *International journal of oral science*, 12(1), 12.
- Xu, H., Tian, B., Shi, W., Tian, J., Wang, W., & Qin, M. (2022). Maturation of the oral microbiota during primary teeth eruption: a longitudinal, preliminary study. *Journal of oral microbiology*, 14(1), 2051352.
- Xu, W., Zhou, W., Wang, H., & Liang, S. (2020). Roles of *Porphyromonas gingivalis* and its virulence factors in periodontitis. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 120, 45–84.
- Yama, K., Morishima, S., Tsutsumi, K., Jo, R., Aita, Y., Inokuchi, T., Okuda, T., Watai, D., Ohara, K., Maruyama, M., Chikazawa, T., Iwamoto, T., Kakizawa, Y., & Oniki, T. (2024). Oral Microbiota Development in the First 60 Months: A Longitudinal Study. *Journal of dental research*, 103(12), 1249–1257.
- Zhang, J. S., Chu, C. H., & Yu, O. Y. (2022). Oral Microbiome and Dental Caries Development. *Dentistry journal*, 10(10), 184.
- Zhang, Q., Ma, Q., Wang, Y., Wu, H., & Zou, J. (2021). Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *International journal of oral science*, 13(1), 30.
- Zhang, Q., Guan, L., Guo, J., Chuan, A., Tong, J., Ban, J., Tian, T., Jiang, W., & Wang, S. (2022). Application of fluoride disturbs plaque microecology and promotes remineralization of enamel initial caries. *Journal of oral microbiology*, 14(1), 2105022.
- Zou, J., Du, Q., Ge, L., Wang, J., Wang, X., Li, Y., Song, G., Zhao, W., Chen, X., Jiang, B., Mei, Y., Huang, Y., Deng, S., Zhang, H., Li, Y., & Zhou, X. (2022). Expert consensus on early childhood caries management. *International journal of oral science*, 14(1), 35.