



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD
ESCUELA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS

Evaluación del efecto antiséptico del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* "menta" Frente al *Streptococcus mutans*

PRESENTADO POR

RUBÉN ENRIQUE HERBOZO RODRÍGUEZ

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

HUACHO - PERÚ

2015

DEDICATORIA

A dios, a mis padres y familia, quienes me brindan su incondicional apoyo en el logro de mis metas. En especial a mi madre, quien es el ejemplo de trabajo, dedicación, fuerza en mi vida y a mi padre que está en el cielo de donde me brinda su apoyo y protección.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la fuerza de seguir adelante en busca de mis metas y seguir mis sueños.

A la Universidad Alas Peruanas, por haberme permitido realizar mis estudios. A la Q.F. Dr. Magda torres Armas, la cual me asesoro por encargo de la universidad Alas Peruanas.

Dr. Mario Carhuapoma Yance docentes de la de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su apoyo se ha logrado terminar este trabajo con éxito.

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerte a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la Universidad Alas Peruanas por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

También me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado en mi para la formación como profesional.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

RESUMEN

Las causas de la halitosis y caries es la bacteria ***Streptococcus mutans***, por ello el uso de enjuagues bucales, con preferencia de origen vegetal como el caso de ***Mentha piperita***, cuyo aceite esencial es un excelente antiséptico. Es por ello, que el presente estudio fue determinar el efecto del enjuague bucal formulada con el aceite esencial de hoja de ***Mentha piperita***, en la bacteria ***Streptococcus mutans***. Se utilizó cepas ATCCF, obtenidos del Instituto Nacional de Salud, del Ministerio de Salud del Perú. Se empleó cuatro concentraciones del enjuague bucal formulado con el aceite esencial de ***Mentha piperita***: 5%, 15%, 30% y 35%. Además se determinó la marcha de solubilidad y marcha fitoquímica empleando reactivos específicos, grado reactivo. Los resultados nos sugieren el efecto de la actividad antibacteriana del aceite esencial de ***Mentha piperita*** en el enjuague bucal frente a la bacteria ***Streptococcus mutans***, la que mayor actividad presenta es de 30 y 35%, reduciendo la presencia de la bacteria cariogénica. Se logró determinar que la concentración mínima inhibitoria en el enjuague bucal del aceite esencial de las hojas de ***Mentha piperita*** en la bacteria ***Streptococcus mutans***, es al 5% del enjuague bucal. El aceite esencial de ***Mentha piperita*** es un antiséptico natural, un refrescante y saborizante, sus solubilidades se demostrado que son más solubles en compuestos apolares, dado que terpenos y fenilpropanos, y estas moléculas no son solubles en agua. Los compuestos que más destacan del extracto etanólico de la *Mentha piperita*, son los compuestos fenólicos y los compuestos aromáticos del aceite esencial. En conclusión, en el presente estudio se demostró la acción antimicrobiana in vitro del enjuague bucal con el aceite esencial de *Mentha piperita* frente a la bacteria ***Streptococcus mutans***.

PALABRAS CLAVE: ***Mentha piperita***, aceites esenciales, enjuague bucal, ***Streptococcus mutans***.

ABSTRACT

The reasons of the halitosis and caries is the bacterium ***Streptococcus mutans***, for it the use of mouthwashes, with preference of vegetable origin as the case of ***Mentha piperita***, whose essential oil is the excellent antiseptic one. It is for it, that the present study was to determine the effect of the mouthwash formulated with the essential oil of leaf of ***Mentha piperita***, in the bacterium ***Streptococcus mutans***. One used vine-stocks ATCCF, obtained of the National Institute of Health, of the Department of Health of Peru. One used four concentrations of the mouthwash formulated with the essential oil of ***Mentha piperita***: 5 %, 15 %, 30 % and 35 %. In addition there decided the march of solubility and march fitoquímica using specific reagents, degree I reactivate. The results suggest us the effect of the antibacterial activity of the essential oil of ***Mentha piperita*** in the mouthwash opposite to the bacterium ***Streptococcus mutans***, which major activity presents it is 30 and 35 %, reducing the presence of the bacterium cariogénica. It achieved to determine that the minimal inhibitory concentration in the mouthwash of the essential oil of the leaves of ***Mentha piperita*** in the bacterium ***Streptococcus mutans***, is to 5 % of the mouthwash. The essential oil of ***Mentha piperita*** is an antiseptic native, the refreshing one and saborizante, his solubilities demonstrated that are more soluble in compounds apolares, provided that terpenos and fenilpropanos, and these molecules are not soluble in water. The compounds that more stand out of the extract etanólico of the ***Mentha piperita***, are the phenolic compounds and the aromatic compounds of the essential oil. In conclusion, in the present study there was demonstrated the antimicrobial in vitro action of the mouthwash by the essential oil of ***Mentha piperita*** opposite to the bacterium ***Streptococcus mutans***.

KEY WORDS: ***Mentha piperita***, essential oils, mouthwash, ***Streptococcus mutans***.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INDICE	vii
INTRODUCCION	viii
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO	11
1.1. Descripción de la Realidad Problemática	11
1.2. Delimitación de la Investigación	14
1.3. Problemas	15
1.4. Objetivos	15
1.5. Hipótesis y Variables de la Investigación	16
1.6. Metodología de la Investigación	17
1.7. Justificación, importancia y limitaciones	22
CAPITULO II: MARCO TEORICO	24
2.1. Antecedentes de la Investigación	24
2.2. Bases teóricas	30
2.3. Definiciones básicas	61
CAPITULO III: ANALISIS E INTERPRETACIONES DE RESULTADOS	63
CONCLUSIONES	78
RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFIA	80
ANEXOS	86
MATRIZ DE CONSISTENCIA	100

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento por el hombre de las plantas medicinales consta en numerosos testimonios escritos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas.

La medicina tradicional practicada desde los albores de la humanidad a través de errores y aciertos fue utilizada en la prevención, diagnóstico y eliminación de desequilibrios físicos, mentales o sociales, obtenidas exclusivamente sobre la experiencia práctica y observación, empirismo transmitido a través de generaciones.

En la actualidad existe un reconocimiento del empleo de fuentes naturales de medicamentos y en especial de la fitoterapia, justificado en muchos casos por razones económicas, disminución de efectos tóxicos crónicos muy frecuentes en sustancias químicas puras, con una tendencia en los países desarrollados al retorno del empleo de productos naturales en el tratamiento de diversas afecciones; en lo que se destaca el importante papel de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en cuanto a la utilización de la fitoterapia dentro de los programas de salud de los distintos países, a través de la validación de efectos etnobotánicos adjudicados a las plantas durante la existencia de la humanidad.

La OMS apoya el uso de la medicina tradicional y alternativa cuando está demostrado el beneficio y la existencia de mínimo riesgo para el paciente. La medicina tradicional es la suma total de conocimientos, técnicas y procedimientos basados en las teorías, las creencias y las experiencias indígenas de diferentes culturas, sean o no explicables, utilizados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas y mentales. El uso a través del tiempo demostró la inocuidad y la eficacia de la medicina

tradicional, restando en la actualidad comparar el empirismo con el cientificismo, respetándose en la investigación y evaluación de la medicina tradicional, los conocimientos y la experiencia obtenidos en la larga historia de uso de procedimientos.

Las enfermedades de mayor prevalencia en la cavidad oral son las caries, gingivitis y periodontitis; estas si no se tratan adecuadamente, pueden ocasionar pérdida de la unidad dentaria afectada, teniendo como consecuencia alteraciones: estéticas, digestivas, maloclusión dentaria, entre otras. Las Caries y Enfermedad Periodontal, tienen su origen en la existencia de una placa dentobacteriana previa o biopelícula de la placa, definida según la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias y que por su actividad bioquímica y metabólica ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de la caries dental. El *Streptococcus mutans*, se considera como la especie más frecuentemente aislada en la placa dentobacteriana. Por consiguiente, el hecho de reconocer a *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de éste, en la cavidad oral; siendo uno de los mecanismos para su control el uso de antimicrobianos.

La medicina natural, a partir de las plantas y sus propiedades antimicrobianas, últimamente ha recibido mucha atención de los científicos, comprobándose las propiedades de sus componentes que van confirmando que permiten combatir a los agentes patógenos. Además, porque es importante conocer más sobre plantas medicinales como métodos alternativos, pues con su ayuda, no se deberán utilizar fármacos que a largo plazo se pueden volver perjudiciales para el organismo.

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de la caries y eliminar el aliento desagradable.

Existen enjuagues con funciones específicas; según su composición, se pueden encontrar enjuagues que se especializan en la prevención de halitosis, es decir, el mal aliento; otros con flúor que previenen la caries y optimizan la calcificación de los dientes. Asimismo, se están diseñando enjuagues bucales con el objetivo de reducir o curar las neoplasias en la cavidad bucal. Es recomendable evitar diluir los enjuagues debido a que puede disminuir su eficacia.

El aceite esencial de *Mentha piperita* se puede utilizar como parte de la formulación de un enjuague bucal, ya que posee potentes acciones antibacterianas y además de otorgar al enjuague un efecto refrescante y sabor agradable.

Es por ello que se realizó el estudio para determinar el efecto del enjuague bucal formulada con el aceite esencial de hoja de *Mentha piperita*, en la bacteria *Streptococcus mutans*.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO METODOLOGICO

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA ^[43]

Las causas de la halitosis pueden ser múltiples, desde escasa higiene bucal, hasta enfermedades tan graves como el cáncer de pulmón, pasando por la gastritis crónica, aunque la gran mayoría tienen su origen en la propia boca. Más del 85-90% de las halitosis tienen su origen en la cavidad oral y cuando no existe patología, suele ser por higiene bucal escasa. Frente a esto usamos los enjuagues bucales, con preferencia de origen vegetal como el caso de *Mentha piperita*, cuyo aceite esencial es un excelente antiséptico.

La provincia peruana de Huaura es una de las once provincias que conforman el Departamento de Lima y pertenece a la Región Lima Provincias donde se caracteriza por ser la provincia con mayor influencia. Limita al norte con la provincia de Barranca y el Departamento de Ancash, al este con la provincia de Cajatambo y la provincia de Oyón y el Departamento de Pasco, al sur con la provincia de Huaral y al oeste con el Océano Pacífico.

Según el ASIS 2013 de la Región Lima (Análisis de Situación de Salud) la Provincia de Huaura presenta los siguientes datos estadísticos: la primera causa de mortalidad corresponde a otras enfermedades bacterianas 19.41%, otras enfermedades del sistema respiratorio 16.35%, influenza y neumonía 14.43%, otras formas de enfermedad del corazón 14.30%, tumores

(neoplasias) malignos 8.30%. (Anexo I). La tasa de Morbilidad en la Provincia de Huaura y las causas de consulta externas en la Región Lima se muestran en el anexo II y III respectivamente.

En el año 2012, la tasa de morbilidad general en la Región Lima fue de 12,551.1 x 10000hab. En el año 2007 fue de 11,766.5, lo cual indica que en el 2012 la tasa de morbilidad fue de 6,25% más que en el 2007, esto es debido a que ahora la población cuenta con mayor acceso a los servicios de salud que en el 2007 y al aumento de la población informada.

La provincia de Canta tiene en el 2012 la mayor tasa de morbilidad 20,757; seguido de la Provincia de Cajatambo con una tasa de 17,796. La Provincia con menor tasa es Oyón con 7,694.

En el año 2012, en la Región de Lima, las primeras causas de consulta externa en la población en general fueron: Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores con el 23.2% del total de atenciones, la segunda causa de consulta externa lo ocupa las enfermedades de la cavidad bucal de las glándulas salivales y de los maxilares (14.0%) al igual que en el 2009 ocuparon la tercera causa las Enfermedades infecciosas intestinales (4,0%).

En el año 2012 las atenciones disminuyeron en relación al año 2009, manteniéndose en la misma posición las cuatro primeras de atención por consultorio externo. Otras enfermedades del sistema urinario, dorsopatías, infecciones con modo de transmisión predominantemente sexual escalaron de posición ocupando ahora lugares superiores dentro de las primeras causas de consulta externa en relación al año 2009.

En el 2012 la primera causa de consulta externa en esta etapa fue Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores con el 37.5%. En Segundo lugar se encuentra Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de

los maxilares con el 14.0% de atenciones, pero además podemos notar que una de las causas de consulta externa en esta etapa también fue la – helmintiasis con un 2.8% de atenciones (Anexo IV).

Para el año 2012, la morbilidad de la etapa de vida pre escolar es el 16.1% del total de las atenciones de la DIRESA Lima. La primera causa de atención son las infecciones agudas de las vías respiratorias superiores 40.7% (75409), enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares 8.8% (16384), enfermedades infecciosas intestinales 8.3% (15350), otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores 6.2% (11456), enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores 4.1% (7634), las cuales comprenden el 68.2% del total de la demanda por consultorio externo de este grupo de edad, pero además podemos observar que la helmintiasis también es una causa de atención con un 3.2% (Anexo V).

Para el año 2012, el porcentaje de atenciones por consultorio externo de la población de la provincia de Huaura fue el 15.21% del total de las atenciones de la DIRESA Lima. Las primeras causas de consulta externa en esta provincia fueron: Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores 25.10%, enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares 12.78%, enfermedades infecciosas intestinales 4.42%, otras enfermedades del sistema urinario 3.84%, infecciones con modo de transmisión predominantemente sexual 3.06%, dorsopatias 2.76%; las cuales acumulan 51.96% del total de atención de esta provincia (Anexo VI).

La caries dental es una de las enfermedades de etiología bacteriana más común entre los seres humanos, siendo el *Streptococcus mutans*, el microorganismo más importante ligado a tal patología, considerado como la especie más frecuentemente aislada en la placa dentobacteriana.

En consecuencia, es necesario evaluar otras sustancias a base de aceites esenciales de plantas naturales, los cuales son el producto final del

metabolismo secundario de las plantas aromáticas y donde diversas investigaciones han permitido establecer su actividad antiséptica. Por consiguiente, existe la necesidad inmediata de trabajar en la prevención y tratamiento de la caries dental y candidiasis oral a base de productos naturales de fácil implementación y de amplio espectro presentes en extractos de plantas naturales; los cuales podrán estar al alcance de toda la comunidad por su fácil acceso, bajo costo y sobre todo por pocos efectos colaterales indeseables.

1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. DELIMITACIÓN TEMPORAL

Octubre 2013 a diciembre del 2014

1.2.2. DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA:

La recolección de la muestra se realizó en Quinoa- Ayacucho (3000metros sobre el nivel del mar); los ensayos se hicieron en los laboratorios de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

1.2.3. DELIMITACIÓN SOCIAL:

Se realizara dentro de la comunidad académica de la Universidad Alas Peruanas Filial - Huacho con el apoyo de un asesor de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, utilizando sus laboratorios y materiales.

1.2.4. DELIMITACIÓN CONCEPTUAL:

La planta medicinal *Mentha piperita* "Menta", crecen en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga - Ayacucho (3200 metros sobre el nivel del mar), se recolectó el aceite esencial de las hojas frescas para su uso como principio activo en la elaboración de enjuagues bucales a diferentes concentraciones, para luego realizar el recuento de UFC (unidades formadoras de colonias), en grupos tratamiento y grupos control, para evaluar el efecto antiséptico de la forma farmacéutica.

1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

¿Tendrá efecto antiséptico el enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” frente al *Streptococcus mutans*?

1.3.2. PROBLEMAS SECUNDARIOS

a) ¿Cuál es la concentración del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” que tiene mayor actividad antiséptica frente al *Streptococcus mutans*?

b) ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” frente al *Streptococcus mutans*?

1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antiséptico del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta”, frente al *Streptococcus mutans*.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Determinar cuál es la concentración del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” que tiene mayor actividad antiséptica frente al *Streptococcus mutans*.

b) Determinar la concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta”.

1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN:

1.5.1. HIPÓTESIS GENERAL

EL enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta”, tiene efecto antiséptico frente a *Streptococcus mutans*.

1.5.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS

- a) El enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta”, de mayor concentración posee actividad antiséptica frente a *Streptococcus mutans*.
- b) La concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” que va a inhibir en placa Petri la bacteria *Streptococcus mutans* es del 5%.
- c) El enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* “Menta” posee mejor efecto antiséptica para inhibir en placa Petri la bacteria *Streptococcus mutans* comparado con el enjuague bucal Listerine.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
Variable independiente	Concentración del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> .	Screening fitoquímico del aceite esencial
Variable dependiente	Efecto antiséptica del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> .	Test antimicrobiano

1.6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

1.6.1. TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

- Experimental
- Aplicada
- Transversal
- Prospectivo

1.6.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Basados en una investigación relacional.

1.6.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.6.3.1. POBLACIÓN

Plantas de *Mentha piperita* que crecen en el distrito de Quinoa, provincia de Huamanga - Ayacucho (3200 metros sobre el nivel del mar).

1.6.3.2. MUESTRA

10 Kilogramos de las hojas de *Mentha piperita*, en condiciones frescas para realizar el destilado de los cuales se obtiene un promedio de 10 mililitros de aceite esencial.

1.6.4. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

1.6.4.1. TÉCNICAS

a) COLECTA DE LA MATERIA VEGETAL

Las hojas de *Mentha piperita* se colectó de aquellas plantas que crecen en zonas de cultivo distrito de Quinoa, entre los 2800-3200 metros sobre el nivel del mar, departamento de Ayacucho. ^[1-10]

b) PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Las hojas se desecaron bajo sombra a las condiciones climáticas de la sierra, por 07 días, hasta obtener una muestra seca; se trituró con molino casero desinfectado con alcohol a 96°, luego fueron guardados en frascos de boca ancha de color ámbar, hasta su utilización. ^[1-10]

c) OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MENTA

Aproximadamente de 10 Kilogramos de hojas secas de la muestra fueron sometidos a destilación por arrastre con vapor de agua, separación por pera de bromo, y se guardó en frasco de vidrio de color ámbar bajo refrigeración a una temperatura de 4° centígrados ^[1-10]

d) CARACTERIZACIÓN QUÍMICA LOS COMPONENTES QUÍMICOS

Se realizó por el método de la marcha fitoquímica utilizando diferentes reactivos específicos y solventes respectivos. ^[1-10]

e) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ENJUAGUE BUCAL^[17]

Se formuló 100 mililitros del enjuague bucal con el aceite esencial de la *Mentha piperita*:

Aceite esencial	0,3 %
Alcohol	20 mL
Cloruro de cinc	0,42 mg
Salicilato de metilo	0,64 mg
Sacarina	0,1 mg
Glicerina	4.4 mL
Azul de metileno	0,05 mL
Colorante	0,02 %
Agua destilada csp	100 mL

Luego se determinó a través de un análisis cualitativo y cuantitativo microbiológico el efecto antiséptico frente a la presencia de la bacteria *Streptococcus mutans* comparado con el enjuague bucal listerine.

Cepa ATCC de *Streptococcus mutans*

(ATCC)= American type culture collection. Rockville, EU = Colección Americana de tipo Cultivo. Rockville (Maryland), Estados Unidos.

Obtención directa a partir de una colección nacional o internacional reconocida, con su respectivo Registro y Certificado.

Para el estudio de la evaluación del efecto antiséptico del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de *Mentha piperita* "Menta" se trabajó con

una cepa ATCC, adquirida en el Instituto Nacional de Salud, del Ministerio de Salud del Perú.

f) ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ENJUAGUE BUCAL

La activación del inóculo fue según escala de Mc Farland 0.5, para lo cual se tomó con un asa estéril tres a cuatro colonias de **Cepa ATCC** de *Streptococcus mutans* y se transfirió a un tubo con 4 a 5ml de solución salina estéril, controlando la turbidez del inóculo, hasta obtener la misma turbidez que el patrón de Mc Farland 0.5., que equivale aproximadamente a $1-2 \times 10^8$ UCF/mL.

Después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, se tomó un hisopo seco y estéril y se procedió a sembrar el inóculo bacteriano de *Streptococcus mutans* en toda la superficie de las placas Petri de 90x150mm que contienen solamente medio TYCBS [caldo TYCSB (T= casitone; Y= extracto de levadura; C= cistina; S= sacarosa; B= bacitracina)], y rojo neutro, siguiendo cuatro direcciones diferentes para conseguir una buena inoculación bacteriana y posteriormente se dejó reposar durante 15 minutos.

Luego se agregó volúmenes crecientes del enjuague bucal, de forma que se obtuvieron las siguientes concentraciones: 5%, 15%, 30% y 35% v/v. Una diferente para cada placa Petri.

Como control positivo se utilizó al enjuague bucal listerine, y como control negativo, en cada batería, un tubo que contenía solamente medio TYCBS [caldo TYCSB (T= casitone; Y= extracto de levadura; C= cistina; S= sacarosa; B= bacitracina)], y rojo neutro. Después de incubar los tubos por

48 horas, a 37°Centigrados, se procedió a realizar el conteo de las colonias de *Streptococcus mutans* en cada placa Petri.

Se utilizó 4 grupos de 6 placas Petri cada uno. Después de las 48 horas de incubación, cada placa fue examinada y se procedió al recuento de colonias de UCF/mL. Para lograr la identificación bacteriana se realizó un frotis bacteriano, que consistió en colocar una gota de agua estéril en el centro de un portaobjetos, luego se flameo el asa de siembra y se tomó en condiciones asépticas una pequeña cantidad del cultivo bacteriano y se transfirió a la gota de agua. Se removió la mezcla con el asa de siembra hasta formar una extensión homogénea. Se dejó secar la preparación, se fijó al calor suave y en seguida se dio la coloración Gram para la identificación bacteriana. Realizado el frotis y fijadas las bacterias, se realizó el examen microscópico determinando así la forma y el Gram de la cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* con cada una de las sustancias presentes en las placas sembradas. Procediendo al conteo para determinar el promedio del recuento de colonias de UCF/mL de los *Streptococcus mutans* presentes.

1.7. JUSTIFICACIÓN, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

A) JUSTIFICACIÓN

La medicina natural aunque ha sido utilizada como tratamiento médico general desde hace muchos años, es muy poco conocida como posible aporte al ámbito Odontológico. Al respecto, existen investigaciones para estudiar el comportamiento de ciertos compuestos de origen vegetal sobre flora mixta salival y bacterias de *Streptococcus mutans*, entre las que se pueden señalar las realizadas con aceite esencial de *Camellia sinensis* "Te verde" y extracto etanólico de Propóleo, Con el aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla" ocurre algo similar, sus múltiples beneficios médicos son bien conocidos se le han atribuido propiedades antiinflamatorias y antisépticas pero su posible uso como bacteriostático de la principal bacteria implicada en la formación de placa dentobacteriana, no reúne mayores referencias; he allí donde se pretende consolidar este aporte a la investigación y por ende al medio Odontológico. Dada la escasez de investigaciones científicas en el área temática, fortalece el valor del trabajo propuesto. De esta manera, la presente investigación podrá brindar una alternativa de elección en la inhibición de placa entobacteriana y por consiguiente una alternativa en la prevención y tratamiento de las patologías más frecuentes de la cavidad bucal.

B) IMPORTANCIA

La presente investigación tiene importancia teórica y social ya que aportará al conocimiento científico sobre la existencia de plantas medicinales con propiedades antisépticas, las cuales podrían ser alternativas de prevención y tratamiento de las patologías más frecuentes de la cavidad bucal, como la caries dental y de esta manera elaborar fármacos naturales, los que en su composición contengan compuestos químicos propios de esta planta, gracias a las bondades de la medicina tradicional, generando así una variedad de productos de uso farmacéutico de origen natural propios de

nuestra biodiversidad, los cuales tengan actividad antiséptica sobre microorganismos cariogénicos, permitiendo que las poblaciones de bajos recursos económicos puedan acceder a un menor costo alternativas de tratamiento para el control de microorganismos relacionados con la caries dental, como son los colutorios a base de aceites esenciales.

Por ello se ha investigado la búsqueda e innovación de alternativas de enjuagues bucales con principios activos naturales y orgánicos, como parte de la dermocosmética bucal.

C) LIMITACIONES:

Existieron ciertas limitaciones con respecto a la ejecución del trabajo como el transporte de la muestra, la obtención de las cepas, la falta de implementación en la Universidad Alas Peruanas, etc; pero se obtuvo buenos resultados no siendo impedimento para la generación de nuevo conocimiento.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

CYTED (1995)^[24] El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* y *Lippia citriodora* a una concentración de 0,1% (v/v) inhibe el crecimiento de *Helicobacter pylori* a 0,01% entre un pH 4,0 – 5,0.^[24]

Ramezani *et al.* (2004)^[25], determinaron la actividad anti-*Helicobacter pylori* del aceite esencial de *Pistacia vera* en 12 tipos de cepas clínicas, resultando la concentración mínima inhibitoria (MIC) a 1.55 mg/mL. Los principales componentes químicos del aceite esencial son α -pineno, β -pineno y α -tuyona.

Bergonzelli *et al.* (2003)^[26], realizó estudios del aceite esencial de 60 especies aromáticas y su actividad anti-*Helicobacter pylori*. De los cuales 30 especies mostraron un rango de inhibición del crecimiento entre 0.7 a 6.3 cm de diámetro, además determinaron que los constituyentes puros de las diferentes especies que mostraron mayor poder anti-*Helicobacter pylori* son carvacrol, isoeugenol, nerol, citral y sabineno.

Mahaboob *et al.* (2005)^[27], aislaron el eugenol (compuesto fenólico) y cinamaldehído de los aceites esenciales de *Eugenia caryophyllis* y *Cinnamomum verum*, respectivamente. Enfrentaron estos 2 compuestos a 30

cepas clínicas de *Helicobacter pylori*. Los resultados muestran la actividad antibacteriana a 2 µg/mL luego de 9 a 12 horas.

Silva *et al.* (2001)^[28], determinaron el efecto antibacteriano frente a *Helicobacter pylori* del aceite esencial de *Dittrichia viscosa subs. viscosa*. A 44.40 µg/mL muestra efecto antibacteriano y entre 88.80-133.20 µg/mL inhibe completamente el crecimiento.

Tzakouet *al.* (2003)^[29], encontró en el aceite esencial de *Satureja parnassica subs. Parnassica* cariofileno, carvacrol, óxido de cariofileno, espatulenol, p-cimeno y linalol. Concluyendo que estos compuestos, principalmente el carvacrol, son los responsables de la actividad anti-*Helicobacter pylori*.

Güllüce *et al.* (2003)^[30], correlacionan la actividad antibacteriana y antioxidante de la *Satureja hortensis* con las estructuras de timol y carvacrol, además del γ -terpineno y p-cimeno. El IC₅₀ es de 23.76± 0.80 µg/mL de la actividad antioxidante, determinado por el método de DPPH.

Lagouriet *al.* (2005)^[31], correlacionan la actividad antioxidante del aceite esencial de *Satureja thymbra* a sus constituyentes de grupo fenol, como el carvacrol y timol.

Bezicet *al.* (1999)^[32], afirman que el timol y carvacrol son los marcadores químicos del aceite esencial del género *Satureja*, además de la pulegona, ratificando su presencia en *Satureja cuneifolia*. Afirmando que estos compuestos químicos son los responsables de la actividad antibacteriana y antioxidante.

Los aceites esenciales también poseen actividades antioxidante y anticancerígeno. Los terpenos fenólicos, ácido carnosólico, carnosol, rosmarindifenol y rosmarinquinona componentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* y *Salvia officinalis* muestran actividad antioxidante.^[33, 34]

Rasooli I, Shayegh S, y Astaneh S. (2009) evaluaron los efectos antimicrobianos de aceites esenciales de *Mentha spicata* y *Eucalyptus camaldulensis* y clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*, in vitro e in vivo relacionado a la formación de biopelículas. Los aceites esenciales se analizaron mediante cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS). 15 y 21 compuestos fueron identificados en los aceites esenciales de *M. spicata* y *E. camaldulensis*, respectivamente. Las concentraciones mínimas bactericidas (MBC) de aceites esenciales de *M. spicata* y *E. camaldulensis* se encontró que 4 y 2 mg/ml, y de clorhexidina (2%) eran 8 y 1mg/ml, para ambos *S. mutans* y *S. pyogenes*, respectivamente. Tiempo de reducción decimal de *S. mutans* de *M. spicata* y aceites de *E. camaldulensis* en sus niveles de CBM fue de 2,8 minutos, mientras que la de clorhexidina fue de 12,8 min. El valor de *S. pyogenes* expuestos a los niveles de MBC de aceites de *M. spicata* y *E. camaldulensis* y de clorhexidina fueron 4,3; 3,6 y 2,8 minutos respectivamente. Concluyeron que los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *M. spicata* retrasan significativamente la formación de biofilm y pueden contribuir al desarrollo de tratamientos anticaries nuevos.

Rasooli I. y Col. Las propiedades antimicrobianas y la prevención de formación de biofilm de aceites esenciales *Mentha piperita* y *Rosmarinus officinalis* y clorhexidina fueron evaluados frente a *Streptococcus mutans* y *Streptococcus pyogenes*. 26 y 20 compuestos fueron identificados por Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas de *M. piperita* y *R. officinalis*, respectivamente. Las concentraciones bactericidas mínimas (CBM) de aceites de *M. piperita* y *R. officinalis*, y clorhexidina son (6000, 2000, 8000 ppm) y (1000, 4000, 1000 ppm) de *S. mutans* y *S. pyogenes*, respectivamente. El tiempo de reducción decimal (D) de *S. mutans* expuestos a los aceites en sus niveles MB fue de 2,8 minutos, mientras clorhexidina mostró un tiempo más

largo. Los valores D de *S. pyogenes*, sobre la exposición a los niveles de MBC de aceites esenciales *M. piperita* y *R. officinalis* y de clorhexidina fueron 2,14, 4,28 y 2,8 minutos, lo que indica una mayor eficacia de aceite esencial de *M. piperita*. La formación de biopelículas se realizó mediante el cultivo de *S. mutans* cultivo con y sin aceites esenciales en medio LB en tubos de poliestireno. In vitro las propiedades inhibitorias de biopelículas estaban en el orden de *M. piperita* > *R. officinalis* > clorhexidina.

En experimentos in vivo sobre las propiedades antibiopelícula reveló que todas las concentraciones de los aceites fueron significativamente representativas ($p < 0,001$) más eficaz que la clorhexidina. Concluyeron que, los aceites esenciales pueden ser considerados como agentes de seguros en el desarrollo de agentes antibiopelícula novedosas.

Deepak Dwivedi y Gaurav Khandelwal (2012) evaluaron la eficacia del extracto de hierbas crudas de *Mentha arvensis* en patógenos cariogénicos. En este estudio se obtuvo extracto crudo de la *Mentha arvensis* en diferentes disolventes 50% y 10% de metanol, acetato de etilo, cloroformo y se puso a prueba en contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus casei* que fueron aisladas de pacientes con enfermedades dentales. La actividad de los extractos crudos fue estudiada por difusión en discos y ambos métodos de dilución en concentración diferente. Los estudios se llevaron a cabo también para evaluar la composición fitoquímica del extracto de la *Mentha arvensis*. El 50% de extracto de metanol en el 2.5mg/ml y la concentración de 5mg/ml muestra una zona alta de inhibición (que varía de 26 a 30 mm y 28 a 32 mm), y el 10% y el extracto metanólico 2.5mg/ml 15mg/ml se ve una pequeña zona (que van desde 20 a 24 mm y 22 a 27 mm) y la comparación con acetato de etilo y cloroformo muestra pequeña zona en el 5mg/ml que van desde 15 a 18 mm y 13 mm a 17 y en el 2.5gm/ml que van desde 14 a 15 mm y de 09 a 16 mm o para ser moderadamente sensibles. MIC resultados muestran la actividad profunda y prometedora de *Mentha arvensis* en BHI 0,090 mg / ml. Los metabolitos secundarios comúnmente presentes en las hojas de prueba son alcaloides,

taninos, flavonoides con esteroides, Xantonos y glucósidos, el análisis de GC-MS reveló la presencia de eucaliptol, Isomethone, linalol, methnol, 4-terpineol, OleicAcid, ácido tetradecanoico, 12–metil éster metílico, ácido hexadecanoico, (ácido palmítico) éster metílico.

Estos datos sugieren que los extractos de *Mentha arvensis* contienen cantidades importantes de fitoquímicos con propiedades antioxidantes que podrían servir como propiedad antimicrobiana de la *Mentha arvensis* y es explotado como una fuente potencial de productos basados en plantas farmacéuticas. Concluyeron que estos resultados podrían constituir una base sólida para una mayor investigación en el descubrimiento potencial de un nuevo compuesto bio activo natural.

Hajlaoui H. y Col. estudiaron la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mentha longifolia*. Ssp *longifolia*. La concentración mínima inhibitoria (CIM) de este aceite contra cuatro bacterias Gram + y Gram- de referencia, incluyendo las bacterias *Salmonella typhi* murium LT2, *Escherichia coli* ATCC35218, *Micrococcus luteus* NCIMB8166 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue utilizada para el estudio de la alteración morfológica de la pared celular bacteriana visualizado por microscopía de fuerza atómica (AFM). El análisis químico del aceite esencial mostró la presencia de 34 compuestos. Los más importantes son: mentol (32,51%), mentona (20,71%), pulegona (17,76%), 1,8 cineol (5,61%), terpineol – 4 (4,87%) y piperitona (2,16%). La MIC para bacterias osciló desde 0,19 hasta 1,56mg / ml. Hemos encontrado que *M. longifolia* (Mentol quimiotipo) tiene un efecto antibacteriano alto. La pared celular de las bacterias analizadas fue dañada en concentraciones MIC. Esta susceptibilidad es más acentuado en *S. typhimurium* y *E. coli* (bacterias de barra), mientras que el daño es menos importante en las bacterias cocoides (*S. aureus* y *M. luteus*).

Djenane D. y Col. Los aceites esenciales (EO) de *Lavandula angustifolia* L. y *Mentha piperita* L. se analizaron mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC /MS). Los principales componentes fueron linalol

(22,35%), acetato de linalilo(21,80%), transocimeno (6,16%) y 4-terpineol (5,19%) para *L. angustifolia* y mentol (33,28%), mentona (22,03%), y acetato de mentilo(6,40%) de *M. piperita*.

La actividad antibacteriana in vitro de ambos aceites empleados frente a *E. coli* O157: H7 y *Staphylococcus aureus* CECT4459 mostró una inhibición alta frente a *S. aureus*. Las concentraciones mínima inhibitoria (CMI) se obtuvieron con *L. angustifolia* (0.25µL/mL) contra *S. aureus* y *M. piperita* mostraron una CIM de 0.50µL/mL contra ambos microorganismos. Causó una disminución significativa del crecimiento bacteriano en carne picada de vacuno ($p < 0,05$).

Sabahat S. y Col. Se investigaron las actividades antibacterianas de las diferentes formas de menta (*Mentha piperita*) es decir, acuosas. infusión, decocción, jugo y aceite esencial frente a 100 aislamientos pertenecientes a 11 diferentes especies de bacilos, *Escherichia coli* (30), *Klebsiella pneumoniae* (25), *Pseudomonas aeruginosa* (15), *Salmonella typhi* (5), *S. paratyphi A* (1), *S. paratyphi B* (1), *Proteus mirabilis* (10), *P. vulgaris* (2), *Shigella dysenteriae* (5), *Yersinia enterocolitica* (1), y *Enterobacter aerogenes* (5). La detección se realizó por el método estándar de difusión en disco. El aceite esencial de menta muestra mayor actividad antimicrobiana con 11,78 mm media zona de inhibición. El jugo de menta también posee actividad antibacteriana con 10,41 mm zona de inhibición, mientras que todos los aislados eran totalmente resistentes a la infusión acuosa y cocimiento de menta.

Sabahat S. y Col (2005). Los extractos de las hojas y el tallo de *Mentha piperita* (menta), la piel y las semillas de *Pisum sativum* (arveja), la piel y la pulpa de *Momordica charantia* (melón amargo) fueron seleccionados para actividad antibacteriana contra cepas pertenecientes a 11 especies diferentes de bacterias Gram-negativas bacilos: *Escherichia coli* (19), *Klebsiella pneumoniae* (11), *Pseudomonas aeruginosa* (9), *Salmonella typhi* (3), *Salmonella paratyphi A* (1), *Salmonella paratyphi B* (1), *Proteus mirabilis* (5), *Proteus vulgaris* (1), *Enterobacter aerogenes* (4), *Shigella dysenteriae* (1), y *Yersinia enterocolitica* (1). La detección se realizó por el método de difusión en pocillo. Las hojas de

M. piperita mostraron mayor actividad antimicrobiana (zona media de la inhibición de 17,24 mm \pm 0,87 SD), mientras tallo de M. piperita exhibió actividad antibacteriana al (zona media de la inhibición de 15,82 mm \pm 3,56 SD). La piel y las semillas de P. sativum, la piel y la pulpa de M. charantia exhibió buen antibacteriano actividad con la zona media de la inhibición de 16,30 mm \pm 2,02 SD, 16,39 mm \pm 3,16 SD, 16,16 mm \pm SD 2,17 mm y 15,88 \pm 2,24 SD respectivamente.

Santoro et al. (2007)^[13,14] Ensayo la actividad antimicrobiana y tripanocida de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*, mostrando una alta bioactividad en los estadios de epimastigote y tripomastigotes. Los marcadores moleculares del aceite esencial de estas plantas vienen a ser el carvacrol y timol, respectivamente; se consideran como las moléculas de potente acción biocida y antimicrobianos.

Asimismo Holetz et al. (2003)^[15] demuestran el efecto tripanocida del aceite esencial de *Ocimum gratissimum*, mostrando una excelente actividad a una concentración de 100|jg/mL.

Fournet et al. (1996)^[16] destaca el empleo de la muña para tratar problemas de la enfermedad de Chagas, correlacionando que dicho efecto se debe a los aceites esenciales de esta planta. También presente efecto biácida en los vectores de la *Trypanosoma cruzi*.

2.2. BASES TEÓRICAS

A) GENERALIDADES DE LA ESPECIE^[4]

La *Mentha piperita* se usa para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, es digestivas, antiinflamatorias tópicas, cicatrizantes y los efectos relajantes sobre el músculo liso se ha demostrado con estudios científicos.^[1-3]

La *Mentha piperita* es una planta herbácea. Tiene los tallos erguidos, cuadrangulares, leñosos y muy ramificados. Las hojas son aserradas, lanceoladas. Las flores son pequeñas de color blanco o violáceo. Tiene un penetrante olor aromático porque poseen excelente cantidad y calidad de aceite esencial. Florece en primavera a partir de marzo. ^[1-6]

A.1) MENTHA PIPERITA L.

Dicha especie que crece en el Perú ha sido clasificado en la siguiente categoría taxonómica (Mostacero et al., 2002). ^[5]

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Mentha
Género	: <i>Thymus</i>
Especie	: <i>Mentha piperita L.</i>
Nombre vulgar	: “menta”



Figura 1. Planta de *Mentha piperita* L. “menta”.

A.2) ESTUDIOS FITOQUÍMICOS DE *MENTHA PIPERITA* L.

Posee como principios activos

- **Aceite esencial:** mentol, neomentol, isomentol, piperitoles, piperitenol, isopiperitenol, mentona (20 – 30%), isomentona, piperitona, piperitonona, isopiperitonona, pulegona. Alcoholes no terpénicos. Flavonoides con aglicones lipofílicos, o metilados: diosmósido, diosmetósido, eriocitrósido, luteolol 7 rutósido, hesperidósido. Resina.
- **Ácidos fenil carboxílicos:** rosmarínico, clorogénico y caféico.
- **Triterpenos:** ácidos ursólico y oleanólico.

El aceite esencial y los flavonoides ejercen efectos antiflatulento, antiemético, espasmolítico, antipruriginoso, colerético, colagogo y analgésico de mucosas. En aplicación tópica el aceite esencial bloquea los canales de calcio, relajando los músculos, por lo que alivia dolores de cabeza si se aplica en las sienes. Los taninos son fuertes astringentes.

En la medicina tradicional se emplea en infusión para trastornos digestivos o hepáticos, al ayudar a la digestión, como antiemético y estimulante, y como antiespasmódico para el caso de dolores musculares o calambres sistémicos. El aceite cuenta con usos variados: se aplica tópicamente en las narinas para aliviar la sinusitis, en las sienes para el dolor de cabeza, en el pecho o en inhalaciones para la tos o los resfriados fuertes, tópicamente para aliviar el dolor producido por las caries, en compresas para las picaduras de insecto u otras irritaciones dérmicas.

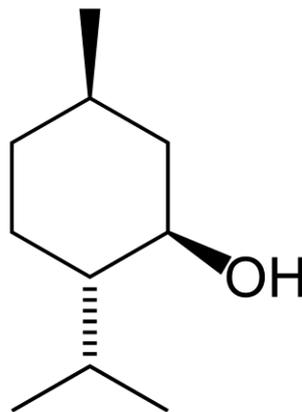


Figura 2. Estructura química de mentol en el aceite esencial de *Mentha piperita*.

A.3) ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS DE MENTHA PIPERITA L.

El aceite de menta es un carminativo aromático que reduce la presión intracolónica y alivia la flatulencia. Es un agente antibacterial, insecticida, colerético y secretolítico; además tiene un efecto refrescante en la piel.

Es capaz de bloquear el estímulo excitatorio del calcio debido a su característica antiespasmódica propia de los bloqueadores de canales de calcio que presenta el mentol, por lo que presenta una actividad antiespasmódica a nivel del músculo liso del tracto gastrointestinal. Algunos reportes han sugerido la utilidad del aceite de menta, bajo una forma dosificada con cubierta entérica, en el síndrome de colon irritable, por medio de una acción meramente local sobre el tracto gastrointestinal.

Produce efecto relajante sobre los músculos de las vísceras y es por esta razón que se inyecta el aceite o una solución diluida del mismo para reducir el espasmo cólico que se presenta secreción de jugos digestivos, lo que la convierte en un buen remedio para los cólicos durante la endoscopia; es antiflatulenta y estimula la producción de bilis y la intestinales y la digestión difícil y flatulenta

B) ENJUAGUE BUCAL^[17]

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del aseo de los dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y eliminar el aliento desagradable.

Existen enjuagues con funciones específicas; según su composición, se pueden encontrar enjuagues que se especializan en la prevención de halitosis, es decir, el mal aliento; otros con flúor que previenen la caries y optimizan la calcificación de los dientes. Asimismo, se están diseñando enjuagues bucales con el objetivo de reducir o curar las neoplasias en la cavidad bucal. Es recomendable evitar diluir los enjuagues debido a que puede disminuir su eficacia.

Los enjuagues bucales son habitualmente soluciones hidroalcohólicas, esto es, mezclas de alcohol y agua. La concentración de etanol utilizada oscila entre el 4% y el 17%. Estas soluciones suelen utilizarse como vehículo para otros ingredientes activos.

Uno de los principios activos más habitual es el flúor, una sustancia de probada eficacia anticaries. Además del flúor, los enjuagues bucales suelen incorporar otros ingredientes de efecto antiséptico tales como la clorhexidina, el cloruro de cetilpiridinio, la hexetidina y el triclosan.

Uno de los aromas más utilizados en los enjuagues bucales es el mentol por la sensación de frescor que deja. Sin embargo, no se recomienda la utilización de mentol en concentraciones superiores al 2%, ni su uso en productos cosméticos en productos destinados a niños menores de tres años.

C) STREPTOCOCCUS MUTANS Y LA INFECCIÓN EN LA CAVIDAD BUCAL

C.1) LA CARIES DENTAL^[17]

También conocida como la caries dental o una cavidad, es una infección, de origen bacteriano, que causa la desmineralización y la destrucción de los tejidos duros, por lo general por la producción de ácido por la fermentación bacteriana de los restos de comida acumulada en la superficie del diente. Si desmineralización excede la saliva y otros factores tales como la remineralización de calcio y cremas dentales fluoradas, estos tejidos duros se rompen progresivamente y se produce la caries dental. La mayoría de las bacterias responsables de la caries son los **estreptococos mutans**, lo más prominente **Streptococcus mutans** y **Streptococcus sobrinus** y **Lactobacilos**. Si se deja sin tratamiento, la enfermedad puede conducir al dolor, la pérdida de dientes e infecciones. Hoy en

día, la caries sigue siendo una de las enfermedades más comunes en todo el mundo. Cariología es el estudio de la caries dental.

La presentación de la caries es muy variable. Sin embargo, los factores de riesgo y las etapas de desarrollo son similares. Al principio puede parecer como una pequeña zona calcárea, que con el tiempo puede convertirse en un gran cavitación. A veces, la caries puede ser directamente visible. Sin embargo, otros métodos de detección tales como los rayos X se usan para las zonas menos visibles de los dientes y juzgar la magnitud de la destrucción. Los láseres para la detección de la caries permiten la detección sin radiación ionizante y ahora se utilizan para la detección de caries interproximales. Las soluciones reveladoras también se utilizan durante la restauración del diente para reducir al mínimo la probabilidad de recurrencia.

Enfermedad caries dental es causada por los tipos específicos de bacterias que producen ácido en la presencia de hidratos de carbono fermentables tales como sacarosa, fructosa, y glucosa. El contenido mineral de los dientes es sensible a los aumentos en la acidez de la producción de ácido láctico. Para ser más específicos, un diente está en un estado constante de un lado a otro, desmineralización y remineralización entre el diente y la saliva circundante. Para las personas con poca saliva, sobre todo debido a las terapias de radiación que puede destruir las glándulas salivales, también existe gel de remineralización.

Estos pacientes son particularmente susceptibles a la caries dental. Cuando el pH en la superficie del diente cae por debajo de 5,5, el producto de desmineralización más rápido que la remineralización. La mayoría de los alimentos son en este rango ácido y sin remineralización, esto da como resultado la descomposición

subsiguiente. Dependiendo de la extensión de la destrucción del diente, diversos tratamientos se pueden utilizar para restaurar los dientes a la forma apropiada, la función y estética, pero no hay método conocido para regenerar grandes cantidades de la estructura del diente. En cambio, las organizaciones de salud dentales abogan por medidas preventivas y profilácticas, tales como la higiene oral regular y modificaciones en la dieta, para evitar la caries dental.

C.2) SIGNOS Y SÍNTOMAS^[19-20]

Una persona que experimenta la caries puede no ser consciente de la enfermedad. El primer signo de una nueva lesión de caries es la aparición de una mancha de color blanco tiza en la superficie del diente, lo que indica un área de desmineralización del esmalte. Esto se conoce como una lesión de caries incipiente o "micro cavidad". Como la lesión sigue desmineralizada, se puede dar vuelta a marrón, pero con el tiempo se convertirá en una cavitación. Antes de la cavidad forma el proceso es reversible, pero una vez que se forma una cavidad de la estructura dental perdida no puede ser regenerada. Una lesión que aparece marrón y brillante sugiere la caries dental fue una vez presente, pero el proceso de desmineralización se ha detenido, dejando una mancha. Una mancha marrón que es sordo en apariencia es probablemente una señal de la caries activa.

A medida que el esmalte y la dentina se destruyen, la cavidad se hace más notable. Las áreas afectadas del cambio del color del diente y se convierten en suaves al tacto. Una vez que el decaimiento pasa a través del esmalte, los túbulos dentinales, que tienen pasajes en el nervio del diente, queda al descubierto, lo que resulta en un dolor de muelas. El dolor puede empeorar con la exposición al calor, frío, o alimentos dulces y bebidas. La caries

dental también pueden causar mal aliento y gustos falta. En casos muy avanzados, la infección puede propagarse desde el diente a los tejidos blandos circundantes. Las complicaciones como trombosis del seno cavernoso y la angina de Ludwig es potencialmente mortal.

C.3) CAUSAS^[19-20]

Hay cuatro principales criterios necesarios para la formación de caries: una superficie del diente, las bacterias que causan caries, los hidratos de carbono fermentables, y el tiempo. El proceso de la caries no tiene un resultado inevitable, y diferentes individuos será susceptible a diferentes grados dependiendo de la forma de sus dientes, hábitos de higiene oral, y la capacidad de amortiguación de su saliva. La caries dental puede ocurrir en cualquier superficie de un diente que está expuesta a la cavidad oral, pero no las estructuras que son retenidos dentro del hueso. Todas las caries se producen a partir de desmineralización ácida que excede la saliva y la remineralización de fluoruro, y casi todos desmineralización ácida ocurre donde la comida se deja en los dientes. Dado que los alimentos más atrapado queda entre los dientes, más del 80% de las caries se producen dentro de fosas y fisuras en las superficies de masticación en el cepillado, el fluoruro, y la saliva no pueden llegar a remineralizar los dientes como lo hacen en fácil llegar a las superficies que se desarrollan algunas cavidades.

a) DIENTES^[19-20]

Hay ciertas enfermedades y trastornos que afectan a los dientes que pueden dejar a una persona en mayor riesgo de caries. Amelogénesis imperfecta, que se produce entre 1 en 718 y 1 en 14.000 personas, es una enfermedad en la que el esmalte no totalmente forma o formas en cantidades insuficientes y puede caerse de un diente. En ambos casos, los dientes se pueden dejar más vulnerables a las caries debido a que el esmalte no es capaz de proteger el diente.

En la mayoría de las personas, trastornos o enfermedades que afectan a los dientes no son la causa primaria de la caries dental. Noventa y seis por ciento del esmalte dental se compone de minerales. Estos minerales, especialmente de hidroxiapatita, se convertirán soluble cuando se expone a ambientes ácidos. Esmalte empieza a desmineralizar a un pH de 5,5. Dentina y cemento son más susceptibles a la caries que el esmalte debido a que tienen menor contenido de minerales. Por lo tanto, cuando las superficies radiculares de los dientes están expuestos de la recesión gingival o enfermedad periodontal, caries pueden desarrollar más fácilmente. Incluso en un entorno oral sana, sin embargo, el diente es susceptible a la caries dental.

La evidencia para ligarse maloclusión y/o aglomeración de las caries dentales es débil, sin embargo, la anatomía de los dientes puede afectar a la probabilidad de la formación de la caries. Cuando las ranuras profundas de los dientes son más numerosos y exagerada, de fosas y fisuras de caries son más propensos a desarrollar. También, la caries son más propensos a desarrollar cuando el alimento está atrapado entre los dientes.

b) BACTERIA^[19-20]

La boca contiene una amplia variedad de bacterias orales, pero se cree que sólo unas pocas especies específicas de bacterias para provocar caries dental: *Streptococcus mutans* y lactobacilos entre ellos. *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Nocardia spp.* Y *Streptococcus mutans* son los más estrechamente relacionados con la caries, en particular, la caries radicular. Las bacterias recogen alrededor de los dientes y las encías en una masa pegajosa, de color crema llamada placa, que sirve como una biopelícula. Algunos sitios de recoger la placa con más frecuencia que otros, por ejemplo, los sitios con una baja tasa de flujo salival. Las ranuras en las superficies oclusales de los dientes molares y premolares proporcionan sitios de retención microscópicas de bacterias de la placa, al igual que los sitios proximales. La placa también se puede recoger por encima o por debajo de la encía, donde se conoce como supra-o placa subgingival, respectivamente.

c) CARBOHIDRATOS FERMENTABLES^[19-20]

Las bacterias en la boca de una persona a convertir la glucosa, fructosa, **sacarosa** y más comúnmente en los ácidos tales como el ácido láctico a través de un proceso llamado fermentación glicolítica. Si se deja en contacto con el diente, estos ácidos pueden provocar desmineralización, que es la disolución de su contenido en minerales. El proceso es dinámico, sin embargo, como remineralización también puede ocurrir si el ácido se neutraliza por la saliva o enjuague bucal. Crema dental fluorada o barniz dental pueden ayudar a la remineralización. Si desmineralización continúa en el tiempo, suficiente contenido mineral puede perderse de manera que el material orgánico suave dejó atrás se desintegra, formando una cavidad o un agujero. El impacto de estos azúcares tienen en el progreso de

la caries dental se llama cariogenicidad. Sacarosa, a pesar de una glucosa unida y unidad de fructosa, es de hecho más cariogénico de una mezcla de partes iguales de glucosa y fructosa. Esto es debido a las bacterias que utilizan la energía en el enlace sacárido entre la glucosa y la fructosa subunidades. ***Streptococcus mutans*** se adhiere a la biopelícula sobre el diente mediante la conversión de sacarosa en una sustancia extremadamente adhesivo llamado polisacárido dextrano por la enzima dextransucranase.

d) TIEMPO^[19-20]

La frecuencia de los dientes que están expuestos a ambientes cariogénicas afecta a la probabilidad de desarrollo de caries. Después de las comidas o aperitivos, las bacterias en la boca metabolizan el azúcar, lo que resulta en un subproducto ácido que disminuye el pH. A medida que avanza el tiempo, el pH vuelve a lo normal debido a la capacidad tampón de la saliva y el contenido de minerales disueltos de las superficies dentales. Durante cada exposición al ambiente ácido, partes del contenido mineral inorgánico en la superficie de los dientes se disuelve y pueden permanecer disueltas durante dos horas. Dado que los dientes son vulnerables durante estos períodos ácidos, el desarrollo de la caries dental se basa en gran medida de la frecuencia de la exposición al ácido.

El proceso de caries puede empezar a los pocos días de un diente en erupción en la boca, cuando la dieta es lo suficientemente rica en hidratos de carbono adecuados. La evidencia sugiere que la introducción de tratamientos con flúor han frenado el proceso. Caries proximales tienen un promedio de cuatro años para pasar a través del esmalte de los dientes permanentes. Debido a que el cemento que envuelve a la superficie de la raíz no es tan durable como el esmalte que encierra la corona, caries de raíz tiende a progresar mucho más

rápidamente que la descomposición en otras superficies. La progresión y la pérdida de mineralización en la superficie de la raíz es 2,5 veces más rápido que la caries en el esmalte. En casos muy graves, donde la higiene oral es muy pobre y donde la dieta es muy rica en hidratos de carbono fermentables, las caries pueden causar caries pocos meses de la erupción dentaria. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando los niños beben continuamente bebidas azucaradas de biberones.

e) ANTISÉPTICO [21-22]

Son sustancias antimicrobianas que se aplican a un tejido vivo o sobre la piel para reducir la posibilidad de infección, sepsis o putrefacción. Algunos antisépticos son auténticos germicidas, capaces de destruir microbios (bactericidas), mientras que otros son bacteriostáticos y solamente previenen o inhiben su crecimiento.

Los antisépticos son biocidas o sustancias químicas que se aplican sobre los tejidos vivos, con la finalidad de destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. A altas concentraciones pueden ser tóxicos para los tejidos vivos.

Terapéuticamente hablando, el papel de los antisépticos es el de coadyuvar con los medios naturales de defensa de la piel en el control de los microorganismos patógenos responsables de las infecciones cutáneas primitivas.

f) OTROS FACTORES DE RIESGO ^[31-34]

Reducción de la saliva se asocia con un aumento de la caries ya que la capacidad de taponamiento de la saliva no está presente para contrarrestar el entorno ácido creado por ciertos alimentos. Como resultado, las condiciones médicas que reducen la cantidad de saliva producida por las glándulas salivales, en particular la glándula submaxilar y glándula parótida, es probable que conduzcan a la caries dental generalizada. Ejemplos incluyen el síndrome de Sjögren, la diabetes mellitus, diabetes insípida, y la sarcoidosis. Los medicamentos, como los antihistamínicos y los antidepresivos también pueden afectar el flujo de saliva. Los estimulantes, más notoriamente metilamfetamina, también obstruyen el flujo de la saliva a un grado extremo. Tetrahidrocannabinol, la sustancia química activa en la marihuana, también causa una oclusión casi completa de la salivación, conocido en términos coloquiales como "boca de algodón". Por otra parte, el sesenta y tres por ciento de los medicamentos más comúnmente recetados en los Estados Unidos lista de sequedad en la boca como un efecto secundario conocido. La terapia de radiación de la cabeza y el cuello también puede dañar las células de las glándulas salivales, el aumento de la probabilidad de formación de la caries.

El consumo de tabaco también puede aumentar el riesgo de formación de caries. Algunas marcas de tabaco sin humo contienen alto contenido de azúcar, lo que aumenta la susceptibilidad a la caries. El consumo de tabaco es un factor de riesgo importante para la enfermedad periodontal, que puede causar la encía a retroceder. A medida que la encía pierde el apego a los dientes, la superficie de la raíz se hace más visible en la boca. Si esto ocurre, caries de raíz es una preocupación ya que el cemento que cubre las raíces de los dientes se

desmineraliza más fácilmente por los ácidos que el esmalte. En la actualidad, no hay pruebas suficientes para apoyar una relación causal entre el tabaquismo y la caries coronal, pero la evidencia sugiere una relación entre el tabaquismo y la raíz de la superficie caries.

Exposición al plomo intrauterina y neonatal promueve la caries dental. Además de plomo, todos los átomos con carga eléctrica y radio iónico similar al calcio bivalentes, tales como cadmio, imitan el ion de calcio y por lo tanto la exposición pueden promover la caries dental.

La pobreza también es un determinante social importante para la salud oral. La caries dental se han relacionado con el estatus socio-económico más bajo y puede ser considerada como una enfermedad de la pobreza.

C.4) FISIOPATOLOGÍA^[31-34]

a) ESMALTE^[31-34]

El esmalte es un tejido acelular altamente mineralizada, y la caries actuar sobre ella a través de un proceso químico provocado por el entorno ácido producido por las bacterias. Como las bacterias consumen el azúcar y lo utilizan para su propia energía, que producen ácido láctico. Los efectos de este proceso incluyen la desmineralización de los cristales en el esmalte, causada por ácidos, con el tiempo hasta que las bacterias penetren físicamente la dentina. Prismas de esmalte, que son la unidad básica de la estructura del esmalte, corren perpendicularmente desde la superficie del diente a la dentina. Desde la desmineralización del esmalte por la caries, en general, sigue la dirección de los prismas de esmalte, los diferentes

patrones triangulares entre fosas y fisuras y la caries de superficie lisa se desarrollan en el esmalte debido a la orientación de prismas de esmalte son diferentes en las dos zonas del diente.

A medida que el esmalte pierde minerales, y la caries dental progresa, el esmalte desarrolla varias zonas distintas, visibles bajo un microscopio de luz. A partir de la capa más profunda de la esmalte a la superficie del esmalte, las áreas identificadas son: zona translúcida, zonas oscuras, el cuerpo de la lesión, y la superficie de la zona. La zona translúcida es el primer signo visible de la caries y coincide con uno a dos por ciento de pérdida de minerales. Una ligera remineralización del esmalte se produce en la zona oscura, que sirve como un ejemplo de cómo el desarrollo de la caries dental es un proceso activo con cambios alternos. El área de mayor desmineralización y la destrucción está en el cuerpo de la propia lesión. La zona de la superficie permanece relativamente mineralizada y está presente hasta que la pérdida de la estructura del diente resulta en una cavitación.

b) LA DENTINA ^[31-34]

A diferencia de esmalte, la dentina reacciona a la progresión de la caries dental. Después de la formación dental, los ameloblastos, que producen esmalte, se destruyen una vez que la formación del esmalte está completa y por lo tanto no puede regenerarse después del esmalte después de su destrucción. Por otro lado, la dentina se produce continuamente durante toda la vida por odontoblastos, que residen en la frontera entre la pulpa y la dentina. Desde odontoblastos están presentes, un estímulo, como la caries, puede desencadenar una respuesta

biológica. Estos mecanismos de defensa incluyen la formación de dentina esclerótica y terciaria.

En la dentina de la capa más profunda para el esmalte, las distintas áreas afectadas por la caries son el frente de avance, la zona de la penetración de bacterias, y la zona de destrucción. El frente de avance representa una zona de la dentina desmineralizada debido al ácido y no tiene presente las bacterias. Las zonas de penetración y la destrucción bacteriana son los lugares de las bacterias invasoras y en última instancia, la descomposición de la dentina. La zona de la destrucción tiene una población bacteriana más variado donde las enzimas proteolíticas han destruido la matriz orgánica. Las caries de dentina más íntimos se ha atacado reversible porque la matriz collage no está muy dañado, dándole posibilidades de reparación. La zona más superficial exterior está altamente infectada con la degradación proteolítica de la matriz de colágeno y, como resultado de la dentina se desmineraliza irreversiblemente.

c) DENTINA ESCLERÓTICA ^[31-34]

La estructura de la dentina es una disposición de canales microscópicos, llamados túbulos dentinarios, que irradian hacia fuera desde la cámara de la pulpa para el cemento o el borde exterior de esmalte. El diámetro de los túbulos dentinales es más grande cerca de la pulpa y el más pequeño en la unión de la dentina y el esmalte. El proceso de caries continúa a través de los túbulos dentinarios, que son responsables de los patrones triangulares resultantes de la progresión de la caries profundas en el diente. Los túbulos permiten también la caries para progresar más rápido.

En respuesta, el fluido dentro de los túbulos traer inmunoglobulinas a partir del sistema inmune para combatir la infección bacteriana. Al mismo tiempo, hay un aumento de la mineralización de los túbulos circundantes. Esto da lugar a una constricción de los túbulos, que es un intento de frenar la progresión bacteriana. Además, como el ácido de las bacterias desmineraliza la cristales de hidroxiapatita, el calcio y el fósforo son liberados, lo que permite la precipitación de más cristales que caen más profundamente en el túbulo dentinal. Estos cristales forman una barrera y frenar el avance de la caries. Después de estas respuestas protectoras, la dentina es considerada esclerótica.

Los fluidos dentro de los túbulos dentinales se considera que es el mecanismo por el cual los receptores del dolor se activan dentro de la pulpa del diente. Desde la dentina esclerótica impide el paso de dichos fluidos, el dolor que de otro modo servir como una advertencia de las bacterias invasoras no se puede desarrollar en un primer momento. Por consiguiente, la caries dental pueden progresar durante un largo periodo de tiempo sin ningún tipo de sensibilidad del diente, permitiendo una mayor pérdida de la estructura del diente.

d) DENTINA TERCIARIA ^[31-34]

En respuesta a la caries dental, que puede ser la producción de más dentina hacia la dirección de la pulpa. Esta nueva dentina se conoce como dentina terciaria. Dentina terciaria se produce para proteger la pulpa durante tanto tiempo como sea posible de las bacterias de avance. A medida que se produce la dentina terciaria más, el tamaño de la pulpa disminuye. Este tipo de dentina se ha subdividido de acuerdo a la presencia o ausencia

de los odontoblastos originales. Si los odontoblastos sobreviven el tiempo suficiente para reaccionar a las caries dentales, a continuación, la dentina producido se denomina dentina "reaccionaria". Si mueren los odontoblastos, la dentina producida se llama "reparativa" dentina.

En el caso de dentina reparadora, se necesitan otras células para asumir el papel de los odontoblastos destruidas. Los factores de crecimiento, el TGF-, se cree que especialmente para iniciar la producción de dentina reparadora por los fibroblastos y las células mesenquimales de la pulpa. Dentina reparadora se produce a una media de 1,5 m/día, pero se puede incrementar a 3,5 m/día. La dentina resultante contiene túbulos de la dentina de forma irregular que no puede alinearse con los túbulos dentinarios existentes. Esto disminuye la posibilidad de que la caries dental para progresar dentro de los túbulos dentinarios.

C.5) DIAGNÓSTICO ^[31-34]

Diagnóstico primario consiste en la inspección de todas las superficies de los dientes visibles utilizando una fuente de luz buena, espejo dental y explorador. Radiografías dentales pueden mostrar caries dental antes de que se la puede ver, en particular, la caries entre los dientes. La caries dental grandes son a menudo aparente a simple vista, pero las lesiones más pequeñas pueden ser difíciles de identificar. Inspección visual y táctil junto con las radiografías se emplean con frecuencia entre los odontólogos, en particular para el diagnóstico de pozo y caries de fisura. Temprano, la caries uncavitated se diagnostica a menudo por soplado de aire a través de la superficie sospechoso, que elimina la humedad y cambia las propiedades ópticas del esmalte no mineralizado.

Algunos investigadores dentales han advertido contra el uso de exploradores para encontrar la caries dental. En los casos en que una pequeña área del diente ha comenzado desmineralización, pero aún no ha cavitado, la presión del explorador dental podría causar una cavidad. Dado que el proceso de caries es reversible antes de una cavidad está presente, puede ser posible detener la caries dental con fluoruro y remineralizar la superficie del diente. Cuando una cavidad está presente, será necesaria una restauración para reemplazar la estructura dental perdida.

A veces, de fosas y fisuras de caries pueden ser difíciles de detectar. Las bacterias pueden penetrar en el esmalte para llegar a la dentina, pero a continuación, la superficie exterior pueden remineralizar, especialmente si el flúor está presente. Estas caries, a veces referido como "caries ocultas", seguirán siendo visibles en las radiografías de rayos X, pero el examen visual del diente mostrarían el esmalte intacto o mínimamente perforado.

El diagnóstico diferencial de la caries dental incluye fluorosis dental y problemas de desarrollo del diente, incluyendo hipomineralización del diente y la hipoplasia del diente.

C.6) CLASIFICACIÓN ^[31-34]

La caries se puede clasificar según la ubicación, la etiología, la tasa de progresión, y los tejidos duros afectados. Estas formas de clasificación se pueden utilizar para caracterizar un caso particular de la caries dental con el fin de representar con mayor precisión la condición a otros y también indicar la gravedad de la destrucción del diente.

a) POR ETIOLOGÍA ^[31-34]

En algunos casos, la caries se describe en otras formas que podrían indicar la causa. "Caries del bebé de botella", "caries de la primera infancia", "caries de biberón" o "Rot Bottle" es un patrón de deterioro que se encuentra en los niños pequeños con sus dientes de leche. Los dientes se ven afectados más comúnmente son los dientes anteriores superiores, pero todos los dientes pueden ser afectados. El nombre para este tipo de caries proviene del hecho de que la descomposición por lo general es el resultado de permitir que los niños duermen con líquidos endulzados en sus botellas o alimentar a los niños endulzados líquidos múltiples veces durante el día. Otro patrón de deterioro es "caries rampante" y que suponga deterioro avanzado o severo en múltiples superficies de muchos dientes. La caries rampante se pueden observar en personas con xerostomía, mala higiene oral, el uso de estimulantes, y/o la ingesta de azúcar grandes. Si la caries rampante es un resultado de la radiación anterior a la cabeza y el cuello, que puede ser descrito como la caries inducidos por la radiación. Los problemas también pueden ser causados por la auto-destrucción de las raíces y la resorción dental todo cuando los nuevos dientes erupcionan o temprano por causas desconocidas. El Dr. Miller declaró en 1887 que "La caries dental es un proceso químico-parasitaria que consta de dos etapas, la descalcificación del esmalte, lo que resulta en su destrucción total y la descalcificación de la dentina como una etapa preliminar seguido de disolución del residuo ablandada."

En su hipótesis, Dr. Miller asigna un papel esencial a tres factores:

- ✓ Sustrato de carbohidratos
- ✓ Ácido que causó la disolución de los minerales del diente
- ✓ Microorganismos orales que producen ácido y también causan la proteólisis.

C.7) LA TASA DE PROGRESIÓN ^[31-34]

Descripciones temporales se pueden aplicar a la caries para indicar la tasa de progresión y de la historia anterior. "Aguda" significa una condición en rápido desarrollo, mientras que la "crónica" describe una condición que ha tomado un largo tiempo para desarrollar, en el que miles de comidas y aperitivos, muchos causando algunos desmineralización ácida que no es remineralizar, con el tiempo da lugar a caries. Tratamiento con fluoruro puede ayudar recalcificación del esmalte dental.

Caries recurrentes, también descritos como secundarios, son caries que aparece en un lugar con una historia previa de caries. Este se encuentra con frecuencia en los márgenes de los rellenos y otras restauraciones dentales. Por otro lado, caries incipiente describe la descomposición en un lugar que no ha experimentado decaimiento anterior. Caries arrestados describe una lesión en un diente que fue previamente desmineralizado pero fue mineralizadas antes de causar la cavitación. Con tratamientos de fluoruro puede ayudar con recalcificación.

C.8) TEJIDO DURO AFECTADOS ^[31-34]

Dependiendo de que los tejidos duros se ven afectadas, es posible describir la caries como que afecta al esmalte, la dentina, o el cemento. Al principio de su desarrollo, las caries pueden afectar sólo esmalte. Una vez que la extensión de la caries llega a la capa más profunda de la dentina, se utiliza "caries de dentina". Puesto que el cemento es el tejido duro que cubre las raíces de los dientes, que no es a menudo afectada por la caries a menos que las raíces de los dientes están expuestos a la boca. Aunque el término "caries cementum" puede ser usado para describir la descomposición de las raíces de los dientes, muy raro que la caries afecta sólo el cemento. Las raíces tienen una capa muy delgada de cemento sobre una gran capa de dentina, y por lo tanto la mayoría de la caries que afectan cemento también afecta a la dentina.

C.9) PREVENCIÓN ^[31-34]

a) HIGIENE ORAL ^[31-34]

Cuidado de la higiene personal consiste en el cepillado y usando hilo dental todos los días. El propósito de la higiene oral es para minimizar cualquier agentes etiológicos de la enfermedad en la boca. El enfoque principal de cepillado y uso de hilo dental consiste en eliminar y prevenir la formación de placa. La placa está compuesta principalmente por bacterias. Como aumenta la cantidad de placa bacteriana, el diente es más vulnerable a la caries dental cuando los carbohidratos en la comida se dejan en los dientes después de cada comida o refrigerio. Un cepillo de dientes se puede utilizar para eliminar la placa en las superficies accesibles, pero no entre los dientes o fosas y fisuras en el interior de superficies de masticación. Cuando se utiliza correctamente, el hilo dental elimina la placa de las zonas que de otro modo podrían desarrollar caries

proximales. Otras ayudas higiene adjuntos incluyen cepillos interdentes, picos de agua, y enjuagues bucales.

Sin embargo higiene oral es probablemente más eficaz para prevenir la enfermedad de las encías que las caries. La comida es forzada dentro de fosas y fisuras bajo presión de masticar, lo que lleva a la desmineralización ácida carbohidratos como combustible, donde el cepillo, pasta de dientes con fluoruro, y la saliva no tienen acceso a quitar la comida atrapada, neutralizar el ácido, o remineralización dental desmineralizada como en otro diente más accesible superficies alimentos estar atrapado. Fibra de masticar como el apio después de comer fuerzas saliva dentro de la comida atrapada para diluir cualquier hidrato de carbono como el azúcar, neutralizar el ácido y remineralizar los dientes desmineralizada.

Cuidado de la higiene profesional consiste en exámenes dentales y limpiezas. A veces, la eliminación completa la placa es difícil, y puede ser necesario un dentista o higienista dental. Junto con la higiene oral, radiografías se pueden tomar en las visitas al dentista para detectar posible desarrollo de caries dental en zonas de alto riesgo en la boca.

b) MODIFICACIÓN DE LA DIETA ^[31-34]

Para la salud dental, la frecuencia de la ingesta de azúcar es más importante que la cantidad de azúcar consumida. En la presencia de azúcar y otros hidratos de carbono, las bacterias en la boca producen ácidos que pueden desmineralizar el esmalte, la dentina y el cemento. Los más frecuentemente dientes están expuestos a este ambiente las caries dentales son más probables que ocurran. Por lo tanto, se recomienda minimizar bocadillos, desde bocadillos

crea un suministro continuo de la nutrición para el ácido-creación de bacterias en la boca. Además, los alimentos masticables y pegajosos tienden a adherirse a los dientes más tiempo, y, en consecuencia, es mejor comerlos como parte de una comida. Se recomienda cepillar los dientes después de las comidas. Para los niños, la Asociación Dental Americana y la Academia Europea de Odontología Pediátrica recomiendan limitar la frecuencia de consumo de bebidas con azúcar, y no dar biberones a los bebés durante el sueño. También se recomienda a las madres a evitar compartir utensilios y tazas con sus hijos para evitar la transferencia de bacterias de la boca de la madre.

Se ha encontrado que la leche y ciertos tipos de quesos como el queso cheddar pueden ayudar a contrarrestar las caries si se comen poco después del consumo de alimentos potencialmente perjudiciales para los dientes. Además, la goma de mascar que contiene xilitol se utiliza ampliamente para proteger los dientes en algunos países, siendo especialmente popular en la industria de los dulces finlandesa. Efecto del xilitol en la reducción de la placa se, se presume, debido a la incapacidad de las bacterias para utilizarla como otros azúcares. La masticación y la estimulación de los receptores de sabor en la lengua también son conocidos por aumentar la producción y liberación de saliva, que contiene tampones naturales para evitar la disminución del pH en la boca hasta el punto en el esmalte puede ser desmineralizada.

c) OTRAS MEDIDAS ^[31-34]

El uso de selladores dentales es un medio de prevención. Un sellador es un revestimiento de plástico-como fina aplicada a las superficies de masticación de los molares para evitar que los alimentos queden atrapados en el interior de las fosas y fisuras.

Esto priva a bacterias de la placa residentes carbohidrato prevención de la formación de la caries de fosas y fisuras. Los sellantes suelen aplicarse a los dientes de los niños, poco después de los molares en erupción. Los selladores pueden llevar a cabo y no para impedir el acceso de alimentos y bacterias de la placa en el interior de las fosas y fisuras y necesitan ser reemplazados.

El calcio, que se encuentra en alimentos como la leche y las verduras verdes, se recomienda a menudo para proteger contra la caries dental. Se ha demostrado que los suplementos de calcio y fluoruro de disminuir la incidencia de la caries dental. El flúor ayuda a prevenir la caries de un diente mediante la unión a los cristales de hidroxiapatita en el esmalte. El calcio incorporado esmalte hace más resistentes a la desmineralización y, por lo tanto, resistentes a las caries. También se recomienda el fluoruro tópico para proteger la superficie de los dientes. Esto puede incluir una pasta dental con fluoruro y enjuague bucal. Muchos odontólogos incluyen la aplicación de soluciones tópicas de fluoruro, como parte de las visitas de rutina.

C.10) TRATAMIENTO DE LA CARIES ^[31-34]

La estructura del diente destruido no se regenera completamente, aunque puede producirse la remineralización de las lesiones de caries muy pequeñas si la higiene dental se mantiene a un nivel óptimo. Para las pequeñas lesiones, fluoruro tópico se utiliza a veces para favorecer la remineralización. Para las lesiones más grandes, la progresión de la caries dental puede ser detenido por el tratamiento. El objetivo del tratamiento es preservar las estructuras del diente y prevenir la destrucción del diente. El tratamiento agresivo, llenando, de lesiones de

caries incipientes, lugares donde hay daños superficiales en el esmalte, es objeto de controversia, ya que pueden curarse a sí mismos, mientras que una vez que se realiza un relleno que al final tendrá que ser hecho de nuevo y el sitio sirve como un sitio vulnerable para su posterior decadencia.

En general, el tratamiento temprano es menos dolorosa y menos costoso que el tratamiento de las caries extensas. Anestesia local, óxido nítrico, u otros medicamentos con receta, pueden ser necesarios en algunos casos, para aliviar el dolor durante o después del tratamiento o aliviar la ansiedad durante el tratamiento. Una pieza de mano dental se utiliza para eliminar grandes porciones de material deteriorado de un diente. Una cuchara, un instrumento dental se utiliza para quitar cuidadosamente la decadencia, a veces se emplea cuando la decadencia en la dentina alcanza cerca de la pulpa. Una vez que la caries se elimina, la estructura de diente que falta requiere una restauración dental de algún tipo para devolver el diente a la funcionalidad y la condición estética.

Materiales restaurativos incluyen la amalgama dental, composite, porcelana y oro. Compuesto de resina y porcelana se pueden hacer para que coincida con el color de los dientes naturales de un paciente y por lo tanto se utilizan con más frecuencia cuando la estética es una preocupación. Restauraciones compuestas no son tan fuertes como la amalgama dental y oro, algunos dentistas consideran ésta como la única restauración recomendable para zonas posteriores donde las fuerzas de masticación son grandes. Cuando la caries es muy extensa, puede que no haya suficiente estructura dentaria remanente para permitir que un material de restauración para ser colocado en el diente. Por lo tanto, puede ser necesaria una corona. Esta restauración aparece similar a un casquillo y se

ajusta sobre el resto de la corona del diente natural. Dichas coronas suelen estar hechas de oro, porcelana o porcelana fundida sobre metal.

En ciertos casos, puede ser necesario para la restauración de un diente de la terapia endodoncia. Terapia de endodoncia, también conocido como un "canal de la raíz", se recomienda si la pulpa en un diente muere de la infección por bacterias que causan caries o de un traumatismo. Durante un canal de la raíz, la pulpa del diente, incluyendo el nervio y los tejidos vasculares, se retira junto con la porción cariada del diente. Los canales están equipados con limas de endodoncia para limpiar y dar forma a ellos, y luego se llenan generalmente de un material similar al caucho llamado gutapercha. El diente se llena y una corona se puede colocar. Al término de un canal de la raíz, el diente es ahora no vital, ya que está desprovisto de cualquier tejido vivo.

Una extracción también puede servir como tratamiento para la caries dental. La eliminación del diente con caries se lleva a cabo si el diente está demasiado destruido del proceso de descomposición para restablecer efectivamente el diente. Las extracciones se consideran a veces si el diente no tiene un diente opuesto o probablemente causar más problemas en el futuro, como puede ser el caso de las muelas del juicio. Extracciones también puede ser preferido por pacientes que no pueden o no están dispuestos a someterse a expensas o dificultades en restaurar el diente.

D) ACEITES ESENCIALES ^[4] ^[5] ^[6]

Son mezclas de sustancias orgánicas químicamente constituidas por terpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos que se localizan en determinados órganos de la planta como flores, hojas, frutos; y se les

obtienen por destilación dependiendo del método y la condición del vegetal, destacándose entre ellos el de arrastre con vapor de agua. Son líquidos solubles en solventes orgánicos e insolubles en agua.

D.1) TERPENOS

Los constituyentes que determinan la fragancia de las plantas se pueden aislar en forma de mezclas complejas denominadas: aceites esenciales, aceites volátiles, aceite etéreo o esencias debido a que se evaporan por exposición al aire y a temperatura ambiente. Estos aceites se pueden aislar de flores, frutos u otras partes vegetales.

D.2) EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN

Los aceites volátiles suelen obtenerse por destilación de las partes de la planta que contienen la esencia y el método general depende de la condición del material vegetal. Los métodos de extracción empleados en la industria, principalmente perfumera, y en el laboratorio son los que se explican a continuación:

a) DESTILACIÓN CON AGUA

Se utiliza cuando los aceites a extraer se alteran por ebullición. La esencia de trementina se obtiene de esta forma para lo cual se introducen en la cámara de destilación astillas de la madera, el exudado de la planta, las agujas del pino, junto con el agua y se calienta hasta que el material volátil (agua y aceite esencial) destilan y luego se condensan en la cámara refrigerante.

b) DESTILACIÓN CON AGUA Y VAPOR DE AGUA

Se emplea cuando los aceites esenciales contenidos en la droga seca o fresca se alteran por ebullición. Si el material es seco

(canela, clavo de olor) se muele previamente, se cubre con una capa de agua para humectarlo y se pasa el vapor generado en una cámara independiente a través de la mezcla macerada. Se evita de esta manera la alteración de la esencia por ebullición directa. Nuevamente el destilado así obtenido es condensado en una cámara refrigerante.

c) DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA

Se selecciona este proceso cuando se trata de drogas vegetales frescas (menta, hierbabuena). Se cosecha la parte de interés del vegetal y se coloca en la cámara extractora. No es necesario en este caso hacer una extracción previa porque el material no ha perdido la humedad natural. En el balón se coloca agua que se calienta hasta ebullición, el vapor atraviesa por la cámara arrastrando las esencias, un refrigerante condensa el agua y la esencia que se recoge en las ramas colectoras. Siendo el aceite esencial poco soluble en agua éste se separa formando una capa oleosa sobre el agua a su vez que el agua contiene una porción disuelta de la esencia y se conoce como "agua aromática". Utilizando un aparato de destilación continua por arrastre de vapor de agua al extraerse entre 100 a 150 gr. de planta fresca se obtiene un rendimiento de 0,5 a 1 ml de esencia. Cuando éste es muy bajo se agrega éter etílico a las ramas colectoras para retener la esencia y simplificar la separación. Durante la destilación ciertos componentes de las esencias tienden a hidrolizarse, mientras que otros se descomponen a elevada temperatura. Es por eso que la destilación por vapor directo es ideal dado que permite la máxima difusión posible del vapor de agua a través de las membranas vegetales, reduciendo al mínimo la hidrólisis y la descomposición.

d) EXTRACCIÓN POR EXPRESIÓN Y MÉTODO DE LA ESCUDILLA

Algunos aceites volátiles que no se pueden obtener por destilación porque son termosensibles, se extraen por expresión (esencia de bergamota y limón) o bien por otros procesos mecánicos. Un método para obtener las esencias cítricas consiste en hacer rodar el fruto sobre bandejas revestidas de púas de longitud variable apropiada para penetrar la epidermis del fruto y así romper las glándulas oleíferas. Los glóbulos de aceites caen en la bandeja y después se recogen. Esto es conocido como método de la escudilla.

e) "ENFLEURAGE" O "ENFLORADO"

Consiste en extender una capa fina de aceites fijos o grasas especiales inodoras y blandas sobre láminas de vidrio, el material a extraer (p.ej.: pétalos de rosas) se aplica sobre la grasa y se deja algunas horas, luego se retiran y se reemplazan por otros nuevos.

Cuando la grasa se satura se extrae con etanol, que disuelve sólo la esencia. Los anteriores son solamente algunos de los procesos que se pueden utilizar para obtener terpenos, aunque también se debe mencionar que la extracción con disolventes como éter de petróleo o benceno también se practican, pero la separación de la esencia requerirá de una destilación posterior a la obtención del extracto.

Los aceites esenciales se caracterizan por su olor, densidad, índice de refracción y rotación óptica. Para estudios de tipo cualitativo se recurre usualmente a la cromatografía gaseosa. Siendo las esencias una mezcla natural de terpenos, su composición química es variada por lo que no existe una reacción de identificación general para los mismos, aunque se pueden emplear las reacciones de reconocimiento de grupos funcionales tales como las de alcoholes, aldehídos, cetona, fenoles, etc.

2.3. DEFINICIONES BÁSICAS:

A) Aceite Esencial:

Es una mezcla de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris).

B) Caries:

Es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos del diente como consecuencia de la desmineralización provocada por los ácidos que genera la placa bacteriana. Las bacterias fabrican ese ácido a partir de los restos de alimentos de la dieta que se les quedan expuestos.

C) Cepa:

Cepa es, en microbiología, una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.

D) Enjuague Bucal:

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y eliminar el aliento desagradable.

E) Halitosis:

La halitosis es un signo clínico caracterizado por mal aliento u olor bucal desagradable. Generalmente está provocada por bacterias, y afecta al 25% de la población.

F) Metabolito Secundario:

Son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente.

G) pH:

Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O]^+$ presentes en determinadas disoluciones.

CAPÍTULO III: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

MARCHA DE SOLUBILIDAD Y FITOQUIMICA

Tabla 01. Solubilidad

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	-
Metanol	+++
Etanol 70%	++
Acetona	++
Acetato de Etilo	++
Éter Etilico	+++
Cloroformo	+++
Benceno	+++
Hexano	+++

+: poco soluble

++: soluble

+++ : muy soluble.

Tabla 02. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de la *Mentha piperita*.

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVOS	PRESENCIA
Glicósidos	Benedict	+++
Aminoácido	Ninhidrina	+++
Compuestos Fenólicos	Cloruro Férrico	+++
Flavonoides	Shinoda	+++
Quinonas	Borntrager	+++
Taninos	Gelatina-Sal	+++
Resinas	Acetato de Cobre	++
Alcaloides	Dragendorff y Mayer	---
Saponinas	Espuma	++
Lactonas	Hidroxamato Férrico	++

-: ausencia

+: escasa cantidad

++: moderada cantidad

+++: abundante cantidad.

ESTUDIO FARMACOLÓGICO

Resultados del efecto anti-*Streptococcus mutans* del enjuague bucal

Tabla 03. Reducción del número de UFC/mL (Promedio \pm DS) de *Streptococcus mutans*, según tipo y concentración de enjuague bucal utilizado.

Enguaje bucal Muestras	Recuento inicial	5%	15%	30%	35%
M01	750.000 \pm 288.675	562.500 \pm 314.576	275.000 \pm 165.831	225.000 \pm 202.072	202.500 \pm 224.406
M02	750.000 \pm 288.675	437.500 \pm 125.000	312.500 \pm 125.000	162.500 \pm 103.077	162.500 \pm 103.077
M03	750.000 \pm 288.675	625.000 \pm 250.000	437.500 \pm 125.000	275.000 \pm 165.831	200.000 \pm 100.000
M04	750.000 \pm 288.675	562.500 \pm 314.576	337.500 \pm 197.378	137.500 \pm 75.000	102.500 \pm 105.000

*UFC/mL: unidades formadoras de colonia por mililitro.

MO: Muestras microbóticas.

Recuento inicial: Control negativo o control blanco.

5%: Enjuague bucal al 5% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

15%: Enjuague bucal al 15% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

30%: Enjuague bucal al 30% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

35%: Enjuague bucal al 35% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

Nota: * Podemos observar a través de 4 muestras diferentes, el recuento inicial comparado con los diferentes enjuagues bucales a concentraciones distintas, el cual nos dará un conteo de unidades formadoras de colonia por mililitros distinto según corresponda.

Tabla 04. Reducción del número de UFC/mL (Promedio \pm DS) de *Streptococcus mutans*, según tipo y concentración de enjuague bucal utilizado.

Enguaje bucal					
Muestras	Listerine	5%	15%	30%	35%
M01	50.000	562.500 \pm 314.576	275.000 \pm 165.831	225.000 \pm 202.072	202.500 \pm 224.406
M02	60.000	437.500 \pm 125.000	312.500 \pm 125.000	162.500 \pm 103.077	162.500 \pm 103.077
M03	60.000	625.000 \pm 250.000	437.500 \pm 125.000	275.000 \pm 165.831	200.000 \pm 100.000
M04	75.000	562.500 \pm 314.576	337.500 \pm 197.378	137.500 \pm 75.000	102.500 \pm 105.000

*UFC/mL: unidades formadoras de colonia por mililitro.

MO: Muestras microbóticas.

Listerine: Control positivo.

5%: Enjuague bucal al 5% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

15%: Enjuague bucal al 15% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

30%: Enjuague bucal al 30% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

35%: Enjuague bucal al 35% de aceite esencial de *Mentha piperita*.

Nota: * Podemos observar a través de las 4 muestras diferentes, el recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro que hay en el enjuague bucal listerine y los enjuagues bucales de *Mentha piperita* a diferentes concentraciones. En el cual podemos decir que el enjuague bucal listerine es mejor contra el *Streptococcus mutans*, que el enjuague bucal a base de *Mentha piperita*.

Tabla 05. Reducción del número de UFC/mL (Promedio \pm DS) de *Streptococcus mutans*, según tipo y concentración de enjuague bucal utilizado.

Enguaje bucal Muestras	Recuento inicial	Listerine
M01	750.000 \pm 288.675	202.500 \pm 224.406
M02	750.000 \pm 288.675	162.500 \pm 103.077
M03	750.000 \pm 288.675	200.000 \pm 100.000
M04	750.000 \pm 288.675	102.500 \pm 105.000

*UFC/mL: unidades formadoras de colonia por mililitro.

MO: Muestras microbóticas.

Recuento inicial: Control negativo o control blanco.

Listerine: Control positivo.

Nota: * En esta tabla podemos observar la diferencia entre el conteo inicial y el enjuague bucal listerine donde podemos decir que hay una disminución bastante significativa de unidades formadoras de colonia por mililitro.



Figura 01. La activación del inoculo fue según escala de Mc Farland 0.5, para lo cual se tomó con un asa estéril tres a cuatro colonias de Cepa ATCC de *Streptococcus mutans*



Figura 02. Siembra en los medios de cultivo del *Streptococcus mutans* y Colocación de diferentes enjuague bucal del aceite esencial de *Mentha piperita*



Figura 03. Placas Petri se sembró los enjuagues bucales de aceite esencial de *Mentha piperitaa* distintas concentraciones así como también el enjuague bucal listerine y el control negativo solo con el *Streptococcus mutans* formando así un grupo de los 4 que se estudió.

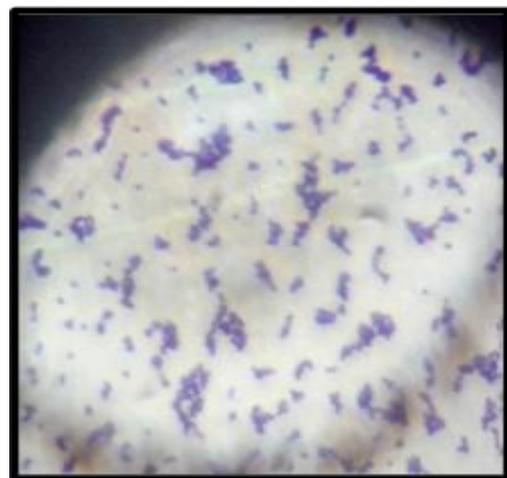


Figura 04. Cultivo y recuento de colonias por cuadrante de UFC/mL del *Streptococcus mutans* ensayados del enjuague bucal del aceite esencial de *Mentha piperita*.

Tabla N°6: ESTADISTICA DESCRIPTIVA PARA LOS TIPOS DE TRATAMIENTOS APLICADOS

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	4	299,99575	92,819405	46,409702	152,29936	447,69214	207,500	426,906
2	4	797,91300	156,945051	78,472526	548,17840	1047,64760	562,500	877,076
3	4	493,92725	64,245447	32,122723	391,69841	596,15609	437,500	562,500
4	4	336,49500	114,737841	57,368921	153,92149	519,06851	212,500	440,831
5	4	299,99575	92,819405	46,409702	152,29936	447,69214	207,500	426,906
Total	20	445,66535	217,706326	48,680614	343,77565	547,55505	207,500	877,076

DONDE:

- 1= Control positivo (Listerine)
- 2= Enjuague Bucal al 5%
- 3= Enjuague Bucal al 15%
- 4= Enjuague Bucal al 30%
- 5= Enjuague Bucal al 35%

En el cuadro adjunto podemos observar la aplicación de la estadísticas descriptivas a los datos obtenidos, todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5% por ello ningún dato se excluye y por ende se aplicará estadística inferencial para determinar si existen diferencias significativas de las medias de cada tratamiento aplicado.

**Tabla N°7: PRUEBA DE
HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS**

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,095	4	15	,395

DONDE:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $0.395 > 0.05$, por lo tanto se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, rechazando la hipótesis nula. Es importante el resultado ya que esto nos permite elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que en este caso será la prueba ANNOVA one way o de un factor.

Tabla N°8: PRUEBA DE ANNOVA ONE WAY PARA LOS TRATAMIENTOS APLICADOS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	723060,192	4	180765,048	15,279	,000
Intra-grupos	177464,648	15	11830,977		
Total	900524,839	19			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA One Way nos permite descifrar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Si deseamos determinar que medias son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicará la prueba de TUKEY ya que es la más usada por los estadistas.

Tabla N°9: COMPARACIONES MÚLTIPLES: PRUEBA DE TUKEY

(I) CATEGORÍA A	(J) CATEGORÍA	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	- 497,917250*	76,912211	,000	-735,41635	-260,41815
	3	-193,931500	76,912211	,138	-431,43060	43,56760
	4	-36,499250	76,912211	,989	-273,99835	200,99985
	5	,000000	76,912211	1,000	-237,49910	237,49910
2	1	497,917250*	76,912211	,000	260,41815	735,41635
	3	303,985750*	76,912211	,010	66,48665	541,48485
	4	461,418000*	76,912211	,000	223,91890	698,91710
	5	497,917250*	76,912211	,000	260,41815	735,41635
3	1	193,931500	76,912211	,138	-43,56760	431,43060
	2	- 303,985750*	76,912211	,010	-541,48485	-66,48665
	4	157,432250	76,912211	,292	-80,06685	394,93135
	5	193,931500	76,912211	,138	-43,56760	431,43060
4	1	36,499250	76,912211	,989	-200,99985	273,99835
	2	- 461,418000*	76,912211	,000	-698,91710	-223,91890
	3	-157,432250	76,912211	,292	-394,93135	80,06685
	5	36,499250	76,912211	,989	-200,99985	273,99835
5	1	,000000	76,912211	1,000	-237,49910	237,49910
	2	- 497,917250*	76,912211	,000	-735,41635	-260,41815
	3	-193,931500	76,912211	,138	-431,43060	43,56760
	4	-36,499250	76,912211	,989	-273,99835	200,99985

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

DONDE:

1= Control positivo (Listerine)

2= Enjuague Bucal al 5%

3= Enjuague Bucal al 15%

4= Enjuague Bucal al 30%

5= Enjuague Bucal al 35%

La prueba de TUKEY es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En el cuadro adjunto observamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos 1, 3, 4, 5 con el tratamiento 2. Por ello podemos concluir estadísticamente que el enjuague bucal al 5% presenta diferencia significativo con los tratamientos antes mencionados.

**Tabla N°10: SUBCONJUNTO HOMOGÉNEO
PRUEBA DE TUKEY**

CATEGORIA	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1	4	299,99575	
5	4	299,99575	
4	4	336,49500	
3	4	493,92725	
2	4		797,91300
Sig.		,138	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 4.000.

La prueba de TUKEY permite también determinar los tratamientos que son estadísticamente homogéneos. En el cuadro adjunto se observa que los tratamientos 1, 3, 4, 5 presentan medias homogéneas a diferencia del tratamiento 2, por ello se confirma que los tratamientos 1, 3, 4 y 5 presenta efectos similares y que el enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial de *Mentha piperita* no presenta diferencia significativa en cuanto al efecto antiséptico frente a *Streptococcus mutans*.

DISCUSIÓN

Si el aceite esencial de *Mentha piperita* es un antiséptico natural, un refrescante y saborizante, sus solubilidades se ha demostrado que son más solubles en compuestos apolares, dado que terpenos y fenilpropanos, y estas moléculas no son solubles en agua, ya que no son polares, tal como se observa en tabla 01.

En la tabla 02, podemos observar que los compuestos que más destacan del extracto etanólico de la *Mentha piperita*, son los compuestos fenólicos y los compuestos aromáticos del aceite esencial, este resultado nos orienta de los potenciales efectos que pueda presentar sus componentes, ya que los compuestos fenólicos y aceites esenciales son potentes antimicrobianos, como en el caso del *Streptococcus mutans*, bacteria cariogénica en la cavidad bucal del ser humano.

Nuestros estudios del enjuague bucal formulada a base del aceite esencial de *Mentha piperita*, presenta buena biocompatibilidad de sus componentes, además de presentar buen aspecto físico.

Al examinar los recuentos de *Streptococcus mutans*, llama la atención la elevada potencia cariogénica de estos microorganismos en la cavidad oral. Principalmente los niños en la etapa escolar se infectan al 100% según estudios reportados. Las edades de mayor infección se da entre los 6 y 8 años, con dientes cariados (Linossier et al). Estos datos confirman la conocida asociación entre la presencia de *Streptococcus mutans* en saliva y caries dental.

Además, los datos obtenidos en este estudio corroboraron la acción antiséptica in vitro del aceite esencial de *Mentha piperita* como parte de la formulación de un enjuague bucal sobre los microorganismos estreptococos del grupo mutans. Por otra parte, las concentraciones al 15%, 30% y 35% del enjuague bucal con

aceite esencial de *Mentha piperita* presentaron igual efecto antiséptico en comparación con el enjuague bucal comercial (Listerine).

El mecanismo de la acción antimicrobiana del aceite esencial de *Mentha piperita* en el enjuague bucal sobre las bacterias estreptococos del grupo mutans puede ser atribuido a varios factores: actividad osmótica del aceite esencial (Steinberg et al., 2009), concentración de alcohol en la formulación del enjuague, inhibición de la formación de dextrano (Molan, 2011), contenido de ácidos orgánicos no aromáticos (Mato et al, 2003), concentración de ácido benzoico y sus derivados, contenido de ácido cinámico y sus derivados, y concentración de flavonoides (Molan, 2001a;Molan, 2001b).

Si bien los datos observados en nuestro estudio, hacen sugerir que el enjuague bucal con el aceite esencial de *Mentha piperita* podría ser utilizada como un agente antibacteriano, sería necesario complementar con otros estudios mucho más determinantes.

Estos datos sugieren que el enjuague bucal con el aceite esencial de *Mentha piperita*, debe ser previamente caracterizada en cuanto a sus componentes químicos, orígenes botánico y geográfico para obtener mejores resultados. El ecotipo favorece la producción de aceite esencial con mayor actividad antimicrobiana, y si los resultados obtenidos en este estudio son reproducibles in vivo. Además, es importante destacar que es necesaria la realización de una futura investigación que involucre un mayor número de muestras y cepas de ensayo, de modo de poder validar los hallazgos observados.

CONCLUSIONES

1. Se evaluó la actividad antiséptica del aceite esencial, los cuales demostraron su efecto de la *Mentha piperita*, mismos que representan una buena alternativa para evitar el uso de productos sintéticos en el control del *Streptococcus mutans*.
2. Se logró determinar el efecto antiséptica del aceite esencial de hoja de *Mentha piperita* en el enjuague bucal en la bacteria *Streptococcus mutans*, a 04 concentraciones, la que menor efecto presenta es al 5%; por ello las concentraciones al 15%, 30% y 35% no presentan diferencias significativas, es decir, a estas tres concentraciones el aceite esencial presenta mejor efecto antiséptico.
3. Se logró determinar que la concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenida de las hojas frescas de *Mentha piperita* frente a *Streptococcus mutans*, es al 5% del enjuague bucal.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la realización de otros estudios in vitro y de estudios in vivo con los que se pueda corroborar la veracidad de los resultados obtenidos en esta investigación.
2. Realizar estudios de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Menta piperita* (*Menta*), frente a otras bacterias de la cavidad bucal.
3. Realizar estudios sobre la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Menta piperita* (*Menta*), en diferentes concentraciones realizadas por este estudio.
4. Comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Menta piperita* (*Menta*), frente a diferentes fármacos utilizados en la cavidad bucal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **USP 36 and NF 31.** The United States Pharmacopeial convention. The United States; 2013.
2. **Bruneton J.** Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. Ed. Acribia. Barcelona, 2001.
3. **www.vc.ehu.es** (Universidad del País Vasco. Facultad de Farmacia. España).
4. **Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal medicine. Expanded Commission E Monograph.** American Botanical Council. Integrative Medicine Communications, 2000.
5. **Mostacero LJ, Mejía CF, Gamarra TO.** Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Edit. CONCYTEC. Trujillo; 2002.
6. **Carhuapoma YM.** Taxonomía de las Plantas Medicinales Aromáticas Nativas de la Provincia de Huamanga y sus Perspectivas Económicas. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH. Ayacucho; 2003.
7. **Sakovic MD, Vukojevic J, Marín PD, Brkic DD, Vajs V, Griensven LJJL.** Chemical composition of essential oil of Thymus and Mentha species and their antifungal activities. Molecules 2009, 14, 238-249.
8. **Aguay SMP.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria de la mezcla de extractos fluidos de jengibre (*Zingiber officinales*), tomillo (*Thymus vulgaris L.*), romero (*Rosmarinus officinalis*) mediante el test de edema inducido en rata (*Rattus norvegicus*). Tesis de Grado. Riobamba; 2012.
9. **Mirzaei-Aghsaghali A, Syadati AS, Fathi H.** Some of thyme (*Thymus vulgaris*) properties in ruminant's nutrition. Annals of Biological Research, 2012, 3 (2): 1191-1195.

- 10. Grigore A, Paraschiv I, Colceru-mihul S, Bubueanu C, Draghici E, Ichim M.** Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 2010, 15 (4): 5436-5443.
- 11. Carhuapoma YM.** Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán". Tesis de Maestría. UNMSM. Lima; 2006.
- 12. Bandoni A.** Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.; 2000.
- 13. Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LG, Mendoca LZ, Soares MJ.** *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. On epimastigotes and trypomastigotes. *Exp Parasitol.* 2007; 116(6):283-90.
- 14. Santoro GF, Cardoso MG, Guimaraes LG, Salgado AP, Menna-Barreto RF, Soares MJ.** Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitology research* 2007; 100(4):783-790.
- 15. Holetz FB, Ueda-Nakamura T, Filho BP, Cortez DA, Morgado-Díaz JA, Nakamura CV.** Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. *Acta Protozool* 2003; 42:269-276.
- 16. Fournet A, Rojas de Arias A, Charles B, Bruneton J.** Chemical constituents of essential oils of Muña, Bolivian plants traditionally used as pesticides, and their insecticidal properties against Chagas disease vectors. *Journal of ethnopharmacology* 1996; 52(3):145-150.

- 17. Guadron NJC.** Efecto sobre la placa bacteriana de los antisépticos bucales. Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer. El Salvador; 2007.
- 18. Guillermo NRF.** Comprobación del efecto cicatrizante de *Peperomia scutellaefolia* R. et P., aspectos etnofarmacológicos, botánicos y estudio químico. Tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima; 2002.
- 19. Emilia Cuenca Salas, Pilar Baca Garcia.** Odontología preventiva y comunitaria. 4ta. Edición. Principios, métodos y aplicaciones. Barcelona; 2013.
- 20. Silvia Sanjurjo Trigueros.** Interrelaciones entre caries y sobrepeso en una población, memoria para optar al grado de doctor, Madrid 2013.
- 21. Mertz PM, Marshall DA, Eaglestein WH.** Occlusive wound dressings to prevent bacterial invasion and wound infection. *J Am Acad Dermatol* 1985;12:662-8
- 22. Grupo Nacional para el estudio y asesoramiento en úlceras por presión y heridas crónicas.** Recomendaciones sobre la utilización de antisépticos en el cuidado de heridas crónicas. 2002. www.gneaupp.org/documento/gneaupp/antiseptico.pdf.
- 23. OECD.** Guideline for testing of chemicals. Organization for economic cooperation and development. Guide No. 425, 2001. Up and down procedure. URL disponible en: <http://www.oecd.org> [fecha de acceso 10 diciembre 2006].
- 24. CYTED.** Manual de técnicas de investigación. Sub programa X. Química fina farmacéutica. Panamá; 1995.
- 25. León B, Riina R, Berry P.** Euphorbiaceae endémicas del Perú. *Rev. peru. biol.* 2006; 13 (2): 295s - 301s.

- 26.** Basson, N. J.; Du Toit, I. J. & Grobler, S.R. Antibacterial action of honey on oral Streptococci. *J. Dent. Assoc. S. Afr*, 49: 339-41, 1994. [Links]
- 27.** **Bowen, W. & Lawrence, R.** Comparison of the cariogenicity of cola, honey, cow milk, human milk, and sucrose. *Pediatrics.*, 116(4):921-6, 2005. [Links]
- 28.** **Burt, B. A.** The use of sorbitol- and xylitol-sweetened chewing gum in caries control. *J. Am. Dent. Assoc*, 137(2):190-6, 2006. [Links]
- 29.** **Chung, J.Y.; Choo, J.H.; Lee, M.H. & Hwang, J.K.** Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine*, 13(4):261-6, 2006. [Links]
- 30.** **Dasanayake, A. & Caufield, R.** Prevalence of dental caries in Sri Lankan aboriginal Veddha children. *Int. Dent. J.*, 52(6):438-44, 2002. [Links]
- 31.** **Elbagoury, E. F. & Rasmy, S.** Antibacterial action of natural honey on anaerobic bacteroides. *Egypt. Dent. J.*, 39(1):381-6, 1993. [Links]
- 32.** **English, H. K.; Pack, A. R. & Molan, P. C.** The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: A pilot study. *J.Int. Acad. Periodontol*, 6(2):63-1, 2004. [Links]
- 33.** **Gamonal, J.** Prevalencia de enfermedades periodontales y de caries dental en la población de 35-44 y de 65-74 años de nivel socio-económico bajo y medio-bajo de la provincia de Santiago, Región Metropolitana, y determinación de los recursos humanos necesarios para su tratamiento. *Rev. Fac. Odontol. Univ. Chile*, 14(1):56-7, 1996. [Links]
- 34.** **George, Y; Sadek, L. & Roziak, F.** The effect of honey on the epithelial attachment. *J. Mo. Dent. Assoc*, 58 (2):15-9, 1978. [Links]

- 35. Grobler, S.R.; Du Toit, I J. & Basson N.J.** The effect of honey on human tooth enamel in vitro observed by electron microscopy and microhardness measurements. *Arch. Oral. Biol*, 39 (2): 147-53, 1994. [Links]
- 36. Hayacibara, M.F.; Koo, H.; Rosalen, PL.; Duarte, S.; Franco, E.M.; Bowen, W.H.; Ikegaki, M. & Cury, J. A.** In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *J. Ethnopharmacol*, 101(1-3):110-5, 2005. [Links]
- 37. Huang, B. B.; Fan, M.W.; Wang, S. L.; Han, D. X.; Chen, Z. & Bian, Z.** The inhibitory effect of magnolol from *Magnolia officinalis* on glucosyltransferase. *Arch. Oral. Biol*, 51(10):899-905, 2006. [Links]
- 38. Jenkins, G. N.; Forster, M. G. & Speirs, R.L.** The influence of the refinement of carbohydrates on their cariogenicity. *Br. Dent. J.*, 106:362-74, 1959. [Links]
- 39. Linossier, A.; Pizarro, F; Potocnjak, P.; Silva, N.; Zillmann, G. & Larroque C.** Frecuencia de biotipos de *Streptococcus mutans* en escolares chilenos. *Rev. Méd. Chile*, 775:411-15, 1987. [Links]
- 40. Linossier, A.; Vargas, A.; Zillmann, G.; Arriagada, M.; Rojas, R. & Villegas, R.** Streptococci mutans: a semi-quantitative method to assess the risk to oral infection in preschool Chilean children. *Rev. Med. Chil*, 737:412-8, 2003. [Links]
- 41. Liu, X.T.; Shi, Y; Yu, B.; Williams, I.D; Sung, H.H.; Zhang, Q.; Liang, J.Y; Ip, N.Y & Min Z.D.** Antibacterial diterpenoids from *Sagittaria pygmaea*. *Planta. Med.*, 73(1):84-90, 2007. [Links]
- 42. Massoth, D.; Massoth, G.; Massoth, I.R, Laflamme, L.; Shi, W.; Hu, C. & Gu, F** The effect of xylitol on *Streptococcus mutans* in children. *J. Calif. Dent. Assoc.* 34(3):231-4, 2006. [Links]

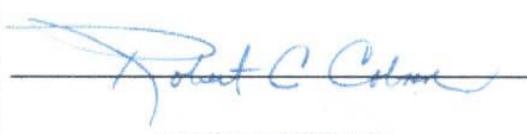
43. Diresalima.gob.pe [Internet]. Huaura – Lima: Diresa Lima; 2013 [Actualizado 04 Dic 2013; Citado 23 Jul 2014]. Disponible en: <http://www.diresalima.gob.pe>.

ANEXOS

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release

Specifications	Additional Information
Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 26613 Reference Number: ATCC® 25175™* Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2014/08	Release Information: Quality Control Technologist: Karla Fjeld Release Date: 2009-02-02 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocc to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain

Vitek GP	Other Features/Challenges: Results																																																																								
<table border="0"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Phenotypic Features</th> <th style="text-align: center;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D-AMYGDALIN</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE I</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>CYCLODEXTRIN</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA GALACTOPYRANOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ALPHA-MANNOSIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA GLUCURONIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCURONIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Alanine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>POLYMXIN B RESISTANCE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>D-RIBOSE</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>LACTOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>BACITRACIN RESISTANCE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td><td style="text-align: center;">-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> <tr><td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td><td style="text-align: center;">+</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	D-AMYGDALIN	+	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	D-XYLOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE I	-	BETA-GALACTOSIDASE	+	ALPHA-GLUCOSIDASE	+	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	CYCLODEXTRIN	-	L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-	ALPHA-MANNOSIDASE	-	PHOSPHATASE	-	Leucine ARYLAMIDASE	+	L-Proline ARYLAMIDASE	-	BETA GLUCURONIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-	BETA-GLUCURONIDASE	+	Alanine ARYLAMIDASE	+	Tyrosine ARYLAMIDASE	-	D-SORBITOL	+	UREASE	-	POLYMXIN B RESISTANCE	+	D-GALACTOSE	+	D-RIBOSE	-	L-LACTATE alkalization	-	LACTOSE	+	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	D-MALTOSE	+	BACITRACIN RESISTANCE	+	NOVOBIOCIN RESISTANCE	+	GROWTH IN 6.5% NaCl	-	D-MANNITOL	+	D-MANNOSE	+	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	+	Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; transform: rotate(-2deg);"> MEDIBAC INC. DISTRIBUIDOR DE MICROBIOLOGICS GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO Y CERTIFICADO SON ORIGINALES LOTE: _____ EXPIRACION: _____ </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <hr style="width: 100%;"/> AUTHORIZED SIGNATURE </div>
Phenotypic Features	Results																																																																								
D-AMYGDALIN	+																																																																								
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-																																																																								
D-XYLOSE	-																																																																								
ARGININE DIHYDROLASE I	-																																																																								
BETA-GALACTOSIDASE	+																																																																								
ALPHA-GLUCOSIDASE	+																																																																								
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																								
CYCLODEXTRIN	-																																																																								
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-																																																																								
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-																																																																								
ALPHA-MANNOSIDASE	-																																																																								
PHOSPHATASE	-																																																																								
Leucine ARYLAMIDASE	+																																																																								
L-Proline ARYLAMIDASE	-																																																																								
BETA GLUCURONIDASE	-																																																																								
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																								
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-																																																																								
BETA-GLUCURONIDASE	+																																																																								
Alanine ARYLAMIDASE	+																																																																								
Tyrosine ARYLAMIDASE	-																																																																								
D-SORBITOL	+																																																																								
UREASE	-																																																																								
POLYMXIN B RESISTANCE	+																																																																								
D-GALACTOSE	+																																																																								
D-RIBOSE	-																																																																								
L-LACTATE alkalization	-																																																																								
LACTOSE	+																																																																								
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+																																																																								
D-MALTOSE	+																																																																								
BACITRACIN RESISTANCE	+																																																																								
NOVOBIOCIN RESISTANCE	+																																																																								
GROWTH IN 6.5% NaCl	-																																																																								
D-MANNITOL	+																																																																								
D-MANNOSE	+																																																																								
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	+																																																																								

Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

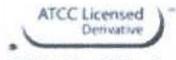


* The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specifications and Performance Upon Initial Release

Specifications	Additional Information
Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 26613 Reference Number: ATCC® 25175™* Purity: Pure Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2014/08	Release Information: Quality Control Technologist: Karla Fjeld Release Date: 2009-02-02 Disclaimer: Last digit(s) of the Lot Number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The actual Lot Number is the first 5 digits of the printed lot number for Catalog #'s of 0999 or less. The actual Lot Numbers for Catalog #'s 01000 and greater are the first 6 digits of the printed lot number.
PULLULAN - D-RAFFINOSE + O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.) + SALICIN + SACCHAROSE/SUCROSE + D-TREHALOSE + ARGININE DIHYDROLASE 2 - OPTOCHIN RESISTANCE +	

Note For Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.



* The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. MicroBioLogics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

© 2009 MicroBioLogics, Inc. All Rights Reserved.
 217 Osseo Avenue North Saint Cloud, MN 56303

DOC-286 REVISION 2008 February 28 dt/ml

MEDIBAC INC. DISTRIBUIDOR DE MICROBIO-
 LOGICS GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO
 Y CERTIFICADO SON ORIGINALES
 LOTE: _____ EXPIRACION: _____



CENTRO DE INVESTIGACION DE PLANTAS MEDICINALES AROMATICAS Y MEDICINA TRADICIONAL

- AGROINDUSTRIAS WARI ANDINO -
CIPLAMT

CERTIFICADO

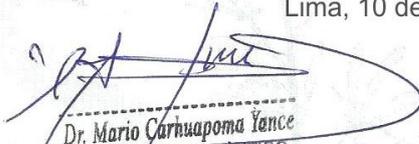
El Jefe Responsable del Laboratorio del CIPLAMT, CERTIFICA que los aceites esenciales de:

- 1.- ***Mentha piperit***, "menta", cuyo marcador molecular es mentol.

En la especie fue analizada y extraída a su aceite esencial por el método de arrastre con vapor de agua a solicitud del Sr. **Rubén Herbozo**.

Se extiende el presente documento a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lima, 10 de noviembre del 2014.


Dr. Mario Carhuapoma Yance
QUIMICO FARMACEUTICO
CQFP. 10215

ANEXO I

Principales causas de mortalidad por grupos en la provincia de Huaura. DIRESA Lima
2012

Nº	CIE_X	Causas de Mortalidad en la Provincia de Huaura	Total	%	% Acum
1	A30 -A49	OTRAS ENFERMEDADES BACTERIANAS	152	19.41	19.41
2	J95 -J99	OTRAS ENFERMEDADES DEL SISTEMA RESPIRATORIO	128	16.35	35.76
3	J10 -J18	INFLUENZA (GRIPE) Y NEUMONIA	113	14.43	50.19
4	I30 -I52	OTRAS FORMAS DE ENFERMEDAD DEL CORAZON	112	14.30	64.49
5	C00 -C97	TUMORES (NEOPLASIAS) MALIGNOS	65	8.30	72.79
6	I20 -I25	ENFERMEDADES ISQUEMICAS DEL CORAZON	25	3.19	75.98
7	I60 -I69	ENFERMEDADES CEREBROVASCULARES	23	2.94	78.92
8	S00 -S09	TRAUMATISMOS DE LA CABEZA	19	2.43	81.35
9	R50 -R69	SINTOMAS Y SIGNOS GENERALES	14	1.79	83.14
10	J80 -J84	OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS QUE AFECTAN PRINCIPALMENTE AL INTERSTICIO	14	1.79	84.93
		OTRAS CAUSAS	118	15.07	100
TOTAL			783	100	100

Fuente: Hechos Vitales – Base de Datos de Defunciones. DEIT

ANEXO II

Morbilidad en la jurisdicción de la DIRESA Lima, 2012

PROVINCIAS	POBLACION 2012	TOTAL MORBILIDAD	TASA X 10000 Hab.
HUARAL	182409	277845	15,232
CAÑETE	222877	272813	12,241
BARRANCA	143216	206054	14,388
HUAURA	213188	174423	8,182
HUAROCHIRI	79177	110199	13,918
YAUYOS	27842	43478	15,616
CANTA	14669	30449	20,757
OYON	22217	17094	7,694
CAJATAMBO	8139	14484	17,796
TOTAL DIRESA	913734	1,146,839	12,551

Fuente: Registro HIS – DEIT – DIRESA Lima

Elaboración: Análisis de Situación de Salud. Dirección de Epidemiología – DIRESA Lima

ANEXO III

Primeras causas de consulta externa en la jurisdicción DIRESA Lima, 2009 - 2012

N°	Grupos de causa 2009	N°	%	N°	Grupos de causa 2012	N°	%
1	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores	311,309	25.4	1	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores	266,458	23.2
2	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares	119,808	9.8	2	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares	160,469	14.0
3	Enfermedades infecciosas intestinales	60,515	4.9	3	Enfermedades infecciosas intestinales	46,267	4.0
4	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	45,455	3.7	4	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	39,496	3.4
5	Enfermedades del esófago, del estómago y del duodeno	44,788	3.7	5	Otras enfermedades del sistema urinario	36,960	3.2
6	Otras enfermedades del sistema urinario	42,114	3.4	6	Dorsopatías	34,487	3.0
7	Dorsopatías	32,776	2.7	7	Enfermedades del esófago, del estómago y del duodeno	29,396	2.6
8	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores	31,084	2.5	8	Infecciones c/modo de transmisión predominantemente sexual	27,440	2.4
9	Otras enfermedades de las vías respiratorias superiores	28,109	2.3	9	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores	24,544	2.1
10	Infecciones c/modo de transmisión predominantemente sexual	23,175	1.9	10	Obesidad y otros de hiperalimentación	22,785	2.0
	Restos de enfermedades	485,140	39.6		Restos de Enfermedades	458,615	40.0
	Total	1,225,053	100		Total	1,146,339	100

Fuente: Registro Diario de Actividades de Salud HIS. DIRESA Lima 2012

Elaboración: Análisis de Situación de Salud. Dirección de Epidemiología – DIRESA Lima

ANEXO IV

Morbilidad general en la etapa de vida niño en la jurisdicción de la DIRESA
Lima, 2012

Nº	CIE_X	GRUPOS DE CAUSAS	M	F	Total	%	% Acum.	Tasa x mil Hab.
1	(J00 - J06)	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores	78941	77317	156258	37.5	37.5	755.4
2	(K00 - K14)	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares	28378	30224	58602	14.0	51.5	283.3
3	(A00 - A09)	Enfermedades infecciosas intestinales	13818	12796	26614	6.4	57.9	128.7
4	(J20 - J22)	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores	11759	10647	22406	5.4	63.2	108.3
5	(J40 - J47)	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	9483	7288	16771	4.0	67.3	81.1
6	(J30 - J39)	Otras enfermedades de las vías respiratorias superiores	6359	5604	11963	2.9	70.1	57.8
7	(B65 - B83)	HelminCIAS	5163	6386	11549	2.8	72.9	55.8
8	(E40 - E46)	Desnutrición	5671	5336	11007	2.6	75.5	53.2
9	(D50 - D53)	Anemias nutricionales	4778	4649	9427	2.3	77.8	45.6
10	(L20 - L30)	Dermatitis y eczema	4319	4349	8668	2.1	79.9	41.9
		Sub total	168669	164596	333265	79.9	79.9	1611.2
		Demás Causas	42423	41530	83953	20.1	100.0	405.9
		Total	211092	206126	417218	100.0		2017.1

Fuente: Registro Diario de Actividades de Salud HIS. DIRESA Lima 2012

Elaboración: Análisis de Situación de Salud. Dirección de Epidemiología – DIRESA Lima

ANEXO V

Principales causas de consulta externa en etapa de vida pre-escolar, DIRESA Lima,
2012

Nº	CIE_X	GRUPOS DE CAUSAS	M	F	Total	%	% Acu m.	Tasa (xmil Hab.)
1	(J00 - J06)	Infecciones agudas de las vías respiratorias superiores	37862	37547	75409	40.7	40.7	1115.7
2	(K00 - K14)	Enfermedades de la cavidad bucal, de las glándulas salivales y de los maxilares	7962	8422	16384	8.8	49.6	242.4
3	(A00 - A09)	Enfermedades infecciosas intestinales	7926	7424	15350	8.3	57.9	227.1
4	(J20 - J22)	Otras infecciones agudas de las vías respiratorias inferiores	5961	5495	11456	6.2	64.0	169.5
5	(J40 - J47)	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	4091	3543	7634	4.1	68.2	113.0
6	(E40 - E46)	Desnutrición	3334	3074	6408	3.5	71.6	94.8
7	(B65 - B83)	HelminCIAS	2698	3200	5898	3.2	74.8	87.3
8	(J30 - J39)	Otras enfermedades de las vías respiratorias superiores	2751	2448	5199	2.8	77.6	76.9
9	(D50 - D53)	Anemias nutricionales	2532	2552	5084	2.7	80.4	75.2
10	(L20 - L30)	Dermatitis y eczema	1967	1999	3966	2.1	82.5	58.7
		Sub Total	77084	75704	152788	82.5	82.5	2260.6
		Demás Causas	16568	15819	32387	17.5	100.0	479.2
		Total	93652	91523	185175	100.0	100.0	2739.8

Fuente: Registro Diario de Actividades de Salud HIS. DIRESA Lima 2012

Elaboración: Análisis de Situación de Salud. Dirección de Epidemiología – DIRESA Lima

ANEXO VI

Primeras causas de consulta externa en la provincia Huaura. DIRESA Lima, Año 2012

Nº	CIE_X	GRUPOS DE CAUSAS	SEXO		TOTAL	%	Tasa (x1000 Hab.)
			M	F			
1	J00-J06	INFECCIONES AGUDAS DE LAS VIAS RESPIRATORIAS SUPERIORES	18694	25082	43776	25.10	205
2	K00-K14	ENFERMEDADES DE LA CAVIDAD BUCAL, DE LAS GLANDULAS SALIVALES Y DE LOS MAXILARES	7389	14908	22297	12.78	105
3	A00	ENFERMEDADES INFECCIOSAS INTESTINALES	3448	4266	7714	4.42	36
4	N30-N39	OTRAS ENFERMEDADES DEL SISTEMA URINARIO	994	5698	6692	3.84	31
5	A50-A64	INFECCIONES C/MODO DE TRANSMISION PREDOMINANTEMENTE SEXUAL	96	5240	5336	3.06	25
6	M40-M54	DORSOPATIAS	1624	3194	4818	2.76	23
7	J40-J47	ENFERMEDADES CRONICAS DE LAS VIAS RESPIRATORIAS INFERIORES	2102	2525	4627	2.65	22
8	E65-E68	OBESIDAD Y OTROS DE HIPERALIMENTACION	1355	2924	4279	2.45	20
9	J20-J22	OTRAS INFECCIONES AGUDAS DE LAS VIAS RESPIRATORIAS INFERIORES	2064	2000	4064	2.33	19
10	K20-K31	ENFERMEDADES DEL ESOFAGO, DEL ESTOMAGO Y DEL DUODENO	1177	2759	3936	2.26	18
		RESTO DE ENFERMEDADES	24643	42241	66884	38.35	314
TOTAL			63586	110837	174423	100.0	818

Fuente: Registro Diario de Actividades de Salud HIS. DIRESA Lima 2012

Elaboración: Análisis de Situacional de Salud. Dirección de Epidemiología – DIRESA Lima



Figura 04. Maquinaria de destilación de arrastre para obtener el aceite esencial de *Mentha piperita*.



Figura 05. El aceite esencial de *Mentha piperita* extraído a través del método de arrastre



Figura 06. Agregamos los ingredientes líquidos



Figura 07. Agregamos alcohol y glicerina



Figura 08. Mezclamos los ingredientes líquidos.



Figura 09. Mezclamos los ingredientes sólidos por separado.



Figura 10. Juntamos los del primer paso (ingredientes líquidos) con los del segundo paso (ingredientes sólidos) y agregamos agua hasta llegar a los 100 mililitros.



Figura 11. Agregamos el colorante y azul de metileno



Figura 12. Tenemos listo el enjuague bucal al cual le falta agregar el aceite esencial de *Mentha piperita*



Figura 13. Agregar 3 mililitros de aceite esencial de *Mentha piperita*



Figura 14. Envasar el enjuague bucal de aceite esencial de *Mentha piperita*



Figura 15. Envasar

NOTA: Para que tenga una mayor claridad el enjuague bucal de aceite esencial de ***Mentha piperita*** se puede tamizar a través del carbono activado, con el cual obtendremos un enjuague bucal menos turbio

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
<p>Evaluación del efecto antiséptico del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta" frente a Streptococcus mutans</p>	<p>Problema Principal ¿Cuál es el efecto del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i>?</p> <p>Problema Secundario a) ¿Cuál es la concentración del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta" que tiene mayor actividad antiséptica contra la bacteria <i>Streptococcus mutans</i>? b) ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta" al que va a inhibir en placa Petri la bacteria <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>Objetivo General Determinar el efecto del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta", frente a <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Objetivos Específicos a) Determinar cuál es la concentración del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta" que tiene mayor actividad antiséptica frente a <i>Streptococcus mutans</i>. b) Determinar la concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta".</p>	<p>Hipótesis Principal EL enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta", tiene efecto antiséptico frente a <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Hipótesis específicos a) El enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "Menta", de mayor concentración posee actividad antiséptica frente a <i>Streptococcus mutans</i>. b) La concentración mínima inhibitoria del enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "Menta" que va a inhibir en placa Petri la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> es del 5%. c) El enjuague bucal elaborado a base del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "Menta" posee mejor efecto antiséptico para inhibir en placa Petri la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> comparado con el enjuague bucal Listerine.</p>	<p>Variables Independientes Aceite Esencial <i>Mentha piperita</i>,</p> <p>Dimensiones Concentración Efectividad comparación</p> <p>Indicadores Screening fitoquímico Cromatogramas del aceite esencial.</p> <p>Variables Dependiente Efecto antiséptico del aceite esencial obtenido de las hojas frescas de <i>Mentha piperita</i> "menta"</p> <p>Indicadores Test antimicrobiano</p>	<p>Aceites esenciales</p> <p>Enjuague bucal</p> <p><i>Mentha piperita</i></p> <p>Plantas medicinales peruanas</p>	<p>Población: <i>Mentha piperita</i> de Quinua-Ayacucho.</p> <p>Muestra: Hojas frescas de <i>Mentha piperita</i></p> <p>Método: Cultivo microbiano de <i>Streptococcus mutans</i></p> <p>Análisis estadístico Los resultados se reportan en cuadros y gráficos, prueba de leavene, annova one way y prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%.</p>