



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**“EFECTO ANTIMICROBIANO “IN VITRO” DEL ACEITE
ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM “CANELA” SOBRE
STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175
EN LA CIUDAD DE TACNA”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

BACHILLER GIOVANNA ALEXANDRA MORA COLQUE

TACNA – PERÚ

2017

**“EFECTO ANTIMICROBIANO “IN VITRO” DEL ACEITE
ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM “CANELA” SOBRE
STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175
EN LA CIUDAD DE TACNA”**

**Esta tesis fue elevada y aprobada para la obtención del título
de Cirujano Dentista por la
Universidad Alas Peruanas**

Mg. Alonso Ernesto Alcazar Rojas

C. D. Francisco Alfredo Góngora Quispe

C. D. Janett Clarisa Uscamaita Guzmán

DEDICATORIA

A Dios, por su inmenso amor y ser mi protector; por darme salud y así concluir los cinco años de estudio de odontología, pero sobre todo por ponerme en el camino personas maravillosas con quien pueda compartirlas.

A mis queridos padres Rensso Mora y Luz Colque Santos, porque sin su apoyo no hubiese logrado culminar esta profesión y por brindarme su apoyo incondicional en todo momento; a mi hermano Rensso Mora y segundos padres Hugo Mora C. y Elsa Arce Alvarez por ser constantes en sus consejos y ser partícipes de mis logros.

AGRADECIMIENTO

Al Blgo. Edwin Obando, Encargado del Dpto. de Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann por su asesoramiento, orientación y colaboración para que se lleve a cabo el presente trabajo de tesis, en la elaboración del aceite esencial de Canela. Por su colaboración y su apoyo en la elaboración de la parte metodológica del presente trabajo. Al personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNJBG, por su disposición y paciencia durante la ejecución del proyecto.

RESUMEN

El presente trabajo titulado “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Cinnamomum Verum (Canela) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175.”, corresponde al trabajo de Tesis para optar por el Título de Cirujano Dentista para la Universidad Alas Peruanas.

El objetivo del estudio es determinar el efecto de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de Cinnamomum Verum (Canela) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175.

El desarrollo de la investigación tuvo lugar en los ambientes de la Facultad de Microbiología y laboratorios de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohoman (UNJBG).

Se trabajó con una muestra que estuvo constituida por 12 repeticiones, las cuales contenían las diferentes concentraciones de canela con su respectivo control para determinar la efectividad bactericida.

Dicha efectividad fue determinada a través de la difusión de discos, mediante los halos inhibitorios de acuerdo con la escala de Duraffourd y el efecto bactericida mediante la presencia o ausencia de las Unidades Formadoras de colonias (UFC)

Los resultados permiten demostrar que el aceite esencial de *Cinnamomum Verum* (Canela) posee efecto antimicrobiano in vitro frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Esta conclusión se sostiene en el grado de sensibilidad del 100% del *Streptococcus mutans* ATCC 25175 frente al aceite esencial de *Cinnamomum Verum* (Canela); con una Concentración mínima inhibitoria de 7.6872 mg/ul; con consecuencia de una Concentración mínima bactericida de 7.78329 mg/ul.

Palabras clave: *Cinnamomum Verum*; *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The present work titled "In vitro antibacterial effect of Cinnamomum Verum essential oil (Cinnamon) on Streptococcus mutans ATCC 25175.", corresponds to the work of Thesis to opt for the title of Dentist Surgeon for Alas Peruanas University.

The objective of the study is to determine the effect of the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of Cinnamomum Verum (Cinnamon) on Streptococcus mutans ATCC 25175. To this end, it is proposed an applied type research, experimental level and experimental method.

The development of the research took place in the environments of the Faculty of Microbiology and laboratories of the National University Jorge Basadre Grohoman (UNJBG).

A sample was composed of 12 replicates, which contained the different concentrations of cinnamon with their respective control to determine the bactericidal effectiveness.

This effectiveness was determined through the diffusion of discs, using inhibitory halos according to the Duraffourd scale and the bactericidal effect through the presence or absence of the Colony Forming Units (CFU)

The results show that the essential oil of *Cinnamomum Verum* (Cinnamon) has an antimicrobial effect in vitro against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

This conclusion is supported by the 100% degree of sensitivity of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 to the essential oil of *Cinnamomum Verum* (Cinnamon); with a minimum inhibitory concentration of 7.6872 mg / ul; as a consequence of a minimum bactericidal concentration of 7.78329 mg / ul.

Keywords: *Cinnamomum Verum*; *Streptococcus mutans*.

ÍNDICE

RESUMEN	VI
ABSTRACT	VIII
ÍNDICE	X
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	3
1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.2.1 Delimitación Espacial:	5
1.2.2 Delimitación Temporal:	5
1.2.3 Delimitación del Universo:	5
1.2.4 Delimitación del Contenido:	6
1.3 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN (FORMULACIÓN DEL PROBLEMA)	6
1.3.1 Problema Principal	6
1.3.2 Problema Secundario	6
1.4 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN	7
1.4.1 Objetivo General	7
1.4.2 Objetivo Especifico	7
1.5 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	8
1.5.1 Hipótesis General	8
1.5.2 Identificación y Clasificación de Variables e Indicadores	8
1.6 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	9
1.6.1 Tipo de Investigación	9
1.6.2 Nivel de Investigación	9

1.6.3 Método	9
1.7 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	9
1.7.1 Población.....	9
1.7.2 Muestra.....	9
1.8 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA RECOLECCIÓN DE DATOS ..	10
1.8.1 Técnicas.....	10
1.8.2 Instrumentos	10
1.9 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	12
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	13
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
2.2. BASES TEÓRICAS.....	24
2.2.1. ESTREPTOCOCCO MUTANS	24
2.2.2. PLANTAS MEDICINALES.....	34
2.2.3. CINNAMOMUM VERUM	40
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	43
CAPITULO III: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	49
3.1. MATERIALES	49
3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO	49
3.1.2. MATERIAL DE VIDRIO.....	49
3.1.3. MATERIAL DE METAL Y OTROS	50
3.1.4. MATERIALES DE CULTIVO Y REACTIVOS	50
3.1.5. EQUIPOS.....	51
3.2. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	51
3.3. CEPA	54

3.3.1. RECOLECCIÓN.....	54
3.4. PREPARACIÓN DE INÓCULO BACTERIANO DE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175.	54
3.5. PREPARACIÓN DE DISCOS	55
3.6. PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD.....	55
3.7. PREPARACIÓN DE INÓCULO BACTERIANO DE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175.	56
3.8. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)	56
3.9. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA (CMB)	57
3.10. RESULTADOS.....	60
DISCUSIÓN	63
CONCLUSIONES	69
RECOMENDACIONES.....	70
FUENTES DE INFORMACIÓN	71
ANEXOS	75

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°1: Efecto antimicrobiano del Aceite Esencial de <i>Cinnamomum verum</i> “canela”	59
CUADRO N°2: Concentración mínima inhibitoria (CMI) de <i>Cinnamomum verum</i> sobre <i>Streptococco mutans atcc 25175</i>	60
CUADRO N°3: Concentración mínima bactericida (CMB) de <i>Cinnamomum verum</i> sobre <i>Streptococco mutans ATCC 25175</i>	61

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Taxonomía y Características metabólicas del <i>Streptococcus Mutans</i>	71
TABLA 2: Taxonomía y Valor Nutricional del CINNAMOMUM VERUM	72
TABLA 3: Bacterias Gram	73
TABLA 4: Tratamiento del aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM	74
TABLA 5: Volumen final del Tratamiento del aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM	75

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades bucodentales (caries dental, la enfermedad periodontal y la maloclusión) constituyen problemas de salud pública que afectan a los países industrializados y cada vez con mayor frecuencia a los países en desarrollo, en especial a las comunidades más pobres.¹

La caries dental es una enfermedad infecciosa en la cual los ácidos orgánicos provenientes del metabolismo de los microorganismos orales, empiezan a desmineralizar gradualmente el esmalte dental, seguido por una rápida destrucción proteolítica de la estructura dental. La caries puede ocurrir en cualquier superficie dental, siendo su etiología multifactorial.²

Desde el punto de vista de la microbiología, la caries es ante todo una "afección de ecología alterada", definición acorde con el concepto de la calidad oral como un sistema ecológico complejo y dinámico, con diferentes ecosistemas orales, pero en el cual es fundamental para una cavidad oral sana mantener el equilibrio de su microflora.³

Desde la perspectiva sociológica, es una enfermedad biosocial dependiente de la calidad y condiciones de vida de un determinado grupo poblacional, para otros es una enfermedad infecciosa dependiente de una dieta rica en azúcar.⁴

Dado ello muchos teóricos como Keyes⁵ y Newbrun⁶ establecieron teorías que consideran diferentes factores que intervienen entre la interacción de los mismos para que se produzca la enfermedad.

Esta enfermedad tiene como hábitat natural la boca humana, debido a que, en la cavidad oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente.⁷

Una alternativa a este problema se corresponde al uso de aceites esenciales, alternativa medicinal Fito terapéutica.⁸

Existe una gran variedad de plantas medicinales, de las cuales se ha demostrado la efectividad de sus componentes a partir de diferentes investigaciones; y es dentro de esta amplia gama de plantas que se encuentra el *Cinnamomum Verum* (Canela), la cual posee efectos sobre una serie de bacterias, debido a sus componentes, que se encuentran en la corteza (1 a 4%), aldehído cinámico (50-75%), eugenol (10% y en sus hojas un 80%), cinamil acetato, cinamil alcohol, cinamil aldehído, cumarinas, terpenos, oxalato de calcio, almidón, goma, resinas, tanino, mucilago y azúcar.⁹, y que es obtenido dada la destilación de las hojas o la corteza interior de esta planta.¹⁰

Dado ello, el análisis pretende servir como guía para orientar al profesional estomatólogo a optar por la medicina natural, que tienen efectividad y son menos tóxicos, ya que, dada la investigación, se puede afirmar que el *Cinnamomum verum* tiene múltiples propiedades que sugieren la generación de efectos positivos frente al *Streptococco Mutans*.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las enfermedades crónicas son los principales problemas de salud pública en la mayor parte del mundo. La frecuencia alta de la aparición de las enfermedades bucales se ha transformado en todo el mundo debido principalmente a los estilos de vida. Incluyen las dietas ricas en azúcares, el uso generalizado de tabaco y el aumento del consumo de alcohol. ¹¹

Las enfermedades bucales son consideradas como uno de los principales problemas de salud pública debido a su alta prevalencia e incidencia en todas las regiones del mundo, y como en todas las enfermedades, la mayor carga es en las poblaciones desfavorecidas económicamente. ¹¹

Las graves repercusiones en términos de dolor y sufrimiento, deterioro de la función y el efecto en la calidad de vida también debe ser considerados. El tratamiento de las enfermedades bucales es extremadamente costoso siendo así inalcanzable para sectores pobres de nuestro país.

La Organización Mundial de Salud (OMS) menciona que las enfermedades bucales son el cuarto problema de salud más costoso de tratar, y en nuestro país se encuentran entre las de mayor demanda de atención en los servicios de salud.

En países de altos ingresos, la carga de la enfermedad oral se ha abordado mediante la creación de avanzados servicios de salud bucodental que ofrecen principalmente el tratamiento a los pacientes con deficiencias bucodentales. La mayoría de los sistemas se basan en la demanda de atención recibida por los odontólogos.

En la mayoría de los países de bajos y de ingresos medios, la inversión en el cuidado de la salud oral es baja y los recursos se asignan principalmente a la atención oral de emergencia y alivio del dolor. De acuerdo con la OMS la Salud Bucal puede definirse como la ausencia de dolor orofacial crónico, cáncer de boca o garganta, úlceras bucales, defectos congénitos como labio leporino o paladar hendido, enfermedades periodontales, caries dental y pérdida de dientes, así como otras enfermedades y trastornos que afectan a la cavidad bucal.¹²

Diferentes investigaciones han mostrado que más de 120 enfermedades sistémicas se originan en la cavidad bucal. Las enfermedades bucales se han asociado con compromiso nutricional, cáncer, xerostomía, neumonía, bacteriemia, enfisema, problemas del corazón, diabetes, complicaciones en cirugía entre otras. Además, las enfermedades bucales aumentan el riesgo de enfermedades crónicas como las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, la diabetes mellitus y enfermedades respiratorias.¹³

Por otra parte, la vigilancia epidemiológica de las patologías bucales adquiere importancia en la medida en que aporta elementos útiles para la planificación, programación, organización, integración, control y dirección del Programa de Salud Bucal, mismo que orienta la atención a la población.¹⁴

Como una respuesta a la inquietud de varios países del mundo y al posicionamiento que vienen ganando los productos farmacéuticos de origen vegetal, la Organización Mundial de la Salud publicó en 1991 las “Pautas para la evaluación de Medicamentos Herbarios”, como base para la investigación y producción de fitofármacos. ¹⁵

1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1 Delimitación Espacial:

La siguiente investigación se llevará a cabo en el laboratorio microbiológico – biológico de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de la ciudad de Tacna, Perú.

1.2.2 Delimitación Temporal:

Se realizará durante el primer trimestre del año 2017.

1.2.3 Delimitación del Universo:

El presente proyecto busca, a través del estudio “in vitro” del Cinnamomum Verum “Canela” sobre Streptococco Mutans ATCC 25175”, cuantificar, demostrar y resaltar los beneficios como un buen potencial antimicrobiano para su buen aprovechamiento de este recurso, a la vez ampliar los conocimientos útiles de dicho producto para desde ya empezar una línea de investigación con productos naturales.

1.2.4 Delimitación del Contenido:

Análisis del efecto antimicrobiano del Cinnamomum Verum "Canela"
Sobre Streptococco Mutans ATCC 25175".

1.3 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN (FORMULACIÓN DEL PROBLEMA)

1.3.1 Problema Principal

¿Cuál es el efecto antimicrobiano "in vitro" del aceite esencial del Cinnamomum Verum "Canela" sobre Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de Tacna"

1.3.2 Problema Secundario

- ¿Cuál es el grado de sensibilidad del Streptococco Mutans ATCC 25175 frente al Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" en la ciudad de Tacna?
- ¿Cuál es el grado de concentración bactericida mínima (CMB) delimitada del aceite esencial del Cinnamomum Verum "Canela" sobre Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de Tacna "
- ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria(MIC) a la cual del Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" ejerce inhibición del crecimiento frente a Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de Tacna "

- ¿Cuál es el efecto del Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" frente al crecimiento bacteriano?

1.4 OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial del Cinnamomum Verum "Canela" sobre Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de tacna "

1.4.2 Objetivo Especifico

- Evaluar el grado de sensibilidad que presenta el Streptococco Mutans ATCC 25175 frente al Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" en la ciudad de tacna.
- Delimitar la concentración bactericida mínima (CMB) del aceite esencial del Cinnamomum Verum "Canela" sobre Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de tacna "
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) a la cual del Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" ejerce inhibición del crecimiento frente al Streptococco Mutans ATCC 25175 en la ciudad de tacna "

- Determinar el efecto del Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" frente al crecimiento bacteriano.

1.5 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1 Hipótesis General

El Aceite Esencial del Cinnamomum Verum "Canela" tiene efecto antimicrobiano in vitro frente al Streptococco Mutans ATCC 25175".

1.5.2 Identificación y Clasificación de Variables e Indicadores

Variable Independiente

Efecto antimicrobiano del Aceite Esencial Del Cinnamomum Verum "Canela"

Variable dependiente

Streptococco Mutans ATCC 25175.

1.6 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

1.6.1 Tipo de Investigación

Investigación aplicada.

1.6.2 Nivel de Investigación

Nivel experimental.

1.6.3 Método

Método experimental.

1.7 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

1.7.1 Población

La población estuvo conformada por la cepa *Streptococcus Mutans* ATCC 25175, brindada por el MINSA.

1.7.2 Muestra

Streptococcus mutans ATCC 25175.

1.8 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA RECOLECCIÓN DE DATOS

1.8.1 Técnicas

- Observación.
- Descriptiva.

1.8.2 Instrumentos

- Primero se caracterizará la materia prima, para obtener el mejor producto, dando paso a la realización de los estudios en función de la descomposición del producto.
- Seguidamente, se toma de muestra in vivo, y bajo aislamiento. En este paso se realiza la diseminación de antibiótico para luego realizar el proceso de esterilización en horno.
- Se revisa la expresión máxima metabólica de la bacteria en etapa logarítmica.
- Luego se da paso al método Kirby-Bauer (método de difusión en agar), el cual es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Este método comprende lo que se denomina como un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas.

- Finalmente, de acuerdo a pautas de Duraffourd, se extraerán resultados de MIC y CMB

1.9 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

El presente análisis pretende servir, como guía para orientar al profesional estomatólogo para inclinarse por la medicina natural; debido a que hoy en día tienen más acogida que medicamentos industrializados siendo menos tóxicos, teniendo en cuenta la poca incidencia de investigaciones sobre dichos productos frente a bacterias patógenas orales, ampliando el conocimiento del producto *Cinnamomum Verum* (Canela), sabiendo que presenta una amplia gama de propiedades curativas, actuando sobre una de las bacterias orales, esta vez, causante de la caries dental, *Streptococcus mutans*. ATCC 25175

La caries es ante todo una "afección de ecología alterada", definición acorde con el concepto de la calidad oral como un sistema ecológico complejo y dinámico, con diferentes eco sistemas orales, pero en el cual es fundamental para una cavidad oral sana mantener el equilibrio de su microflora.³

El estudio permitirá la proposición de una nueva alternativa de solución para prevenir y disminuir el problema de presencia de caries, no solo en la región Tacna, sino también en el Perú. Dado ello, el presente documento debe de servir como fuente de sensibilización desde tempranas edades a fin de mejorar nuestra cultura de cuidado de salud bucal.

Los resultados que se obtengan con la investigación corresponde a un nuevo marco referencial para futuras investigaciones, brindando aportes a las ciencias de la salud, en lo que corresponde al estudio de las enfermedades bucales, de modo que a través de la investigación se están generando nuevos precedentes de dicha disciplina.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

- a) **Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootecnia. “Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) sobre cepas de salmonella”.**

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano del aceite de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) sobre cepas de Salmonella; (*Salmonella* entérica subsp. entérica serovar Choleraesuis y *Salmonella enterica* subsp. Entérica serovar Typhimurium), con el objetivo de determinar la Concentración Mínima Inhibitoria, la Concentración Bactericida Mínima y la sensibilidad bacteriana.

La valoración de la actividad antibacteriana de las distintas concentraciones de aceite de canela (10%, 30%, 50%, 70% y 90%), utilizando como testigo etanol al 99.8% se mediante dos técnicas:

la difusión en medio líquido, en el cual se inoculó la cepa respectiva en un tubo de ensayo con caldo Cerebro-Corazón luego se comparó con la turbidez del tubo #5 de la escala de McFarland y se incubaron 10 tubos con un 1ml de caldo con la cepa respectiva y 1ml de aceite de canela a 37°C por 24 horas para la Concentración Mínima Inhibitoria, la

concentración con menor turbidez se sembró en medio agar para la determinación de la Concentración Mínima Bactericida.

En la técnica de difusión en disco agar se sembró las cepas en la superficie del agar Muller Hinton colocando los discos de sensibilidad con los tratamientos: T0 etanol al 99.8%, T1 aceite de canela al 10%, T2 aceite de canela al 30%, T3 aceite de canela al 50%, T4 aceite de canela al 70%, T5 aceite de canela al 90% y se incubaron los agares a 37°C por 24 hora, posteriormente evaluándose el diámetro del halo de crecimiento con una regla milimétrica Hiantibiotic ZoneScale.

Como resultado se obtuvo que la cepa *Salmonella choleraesuis* fue sensible al aceite de canela a partir del tratamiento T3 con halos de 19 mm y 26 mm para *S. typhimurium*. Manifestando estadísticamente que el tratamiento con concentraciones de aceite de canela al 50%,70% y 90% son significativos para las dos cepas bacterianas.

b) Universidad de Ciencias Aplicadas. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia Sinensis* (Té verde) frente al *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus Sanguinis* (atcc 10556)

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto antibacteriano in vitro de la *camellia sinensis* (té verde) frente al *streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *streptococcus sanguinis* (ATCC 10556).

Se encontró efecto antibacteriano para ambos extractos probados. El promedio del halo de inhibición para el extracto de té verde comercial fue de 19.72 mm y para el extracto de té verde a granel fue de 18.1 mm frente al *Streptococcus mutans*, mientras que para el *Streptococcus sanguinis* la media obtenida fue de 17.94 mm y 16.46 mm respectivamente.

Con respecto a la Concentración mínima inhibitoria (CMI), para el caso de *Streptococcus mutans* se determinó una CMI de 0.08 gr/ml para el extracto comercial y al extracto a granel. Mientras que para el caso de *Streptococcus sanguinis* la CMI fue de 0.08 gr/ml para el extracto comercial y de 0.25 gr/ml para el extracto a granel.

Ambos extractos metanólicos de té verde presentaron efecto antibacteriano contra las cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC10556). El té verde comercial fue el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto a granel.

c) Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Efecto Antibacteriano In Vitro Del Aceite Esencial De *Minthostachys Mollis* (Muña) En *Streptococcus mutans*

El presente trabajo se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans*,

La especie vegetal se recolectó de la ciudad de Tarma (Junín) aproximadamente 8 kilos de hojas de muña, que fueron procesados para la obtención del aceite esencial, realizado en la Facultad de Farmacia y

Bioquímica (UNMSM) Se adquirió la cepa patrón de *Streptococcus mutans*, se reactivó y sembró en placas con medio de cultivo Agar tripticase soya (TSA), se realizó las pruebas de susceptibilidad. Para estas pruebas, se prepararon diluciones del aceite esencial. Se utilizaron discos de papel de filtro estériles que fueron embebidos con 10 microlitros del aceite esencial de muña al 100 %, otros discos se prepararon con aceite esencial de muña al 50 % y 25 % utilizó como solvente y control negativo DMSO (dimetilsulfòxido), y como control positivo se utilizó discos de amoxicilina. Cada disco se colocó de manera ordenada y equidistante en el medio de cultivo; se incubó en anaerobiosis mediante el método de la vela en extinción a 37°C por 48 horas.

Transcurrido el tiempo se realizó la observación e interpretación de los resultados. Se realizó las mediciones de los halos de inhibición utilizando vernier.

En la muestra de aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% obtuvo promedio de 10.79 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50 % promedio de 7.6 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25 % promedio de 5 mm (tamaño de discos) igual que el control negativo (DMSO), el control positivo (amoxicilina) promedio de 49.3 mm. Se procesó los datos en el paquete estadístico SPSS versión 19 y se realizó el análisis de ANOVA de los datos numéricos de los halos de inhibición, se obtuvo p (0.000) < 0.005 (estadísticamente significativo).

Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano.

**d) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología
E.A.P. de odontología. Actividad inhibitoria del crecimiento de
streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción de aceite
esencial de la matricaria chamomilla "manzanilla".**

El propósito de este trabajo fue determinar el efecto inhibitorio de la Matricaria chamomilla "manzanilla" sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM.

Se usaron concentraciones diferentes del aceite esencial Matricaria chamomilla "manzanilla" y un grupo control clorhexidina 0.12%(CH) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos filtros embebidos con cada una de las concentraciones sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM.

Las concentraciones de 25%, 50% y 100% del aceite esencial de Matricaria chamomilla "manzanilla" mostraron efecto inhibitorio positivo en cultivos de flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de Streptococcus mutans,

El grupo control clorhexidina 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio sobre las tres concentraciones en los grupos de estudios evaluados con excepción de la concentración del 100% el cual no mostró diferencia estadísticamente significativa con el grupo control clorhexidina 0.12% sobre cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM.

e) UNIVERSIDAD DE TRUJILLO - EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM (CANELA) SOBRE EL FUSOBACTERIUM NUCLEATUM ATCC 25586

El presente trabajo de investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586.

El estudio se desarrolló en los ambientes del laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Nacional de Trujillo y en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

La muestra estuvo constituida por 12 repeticiones por cada concentración de canela y de control (penicilina) para determinar la sensibilidad o resistencia bacteriana y 12 repeticiones por cada concentración de canela y del control para determinar en efecto bactericida.

La efectividad de dicho aceite esencial frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 se determinó a través de la sensibilidad bacteriana mediante la difusión de discos, determinándose los halos inhibitorios de acuerdo a la Escala de Duraffourd y el efecto bactericida mediante la presencia o ausencia de las Unidades Formadoras de colonias (UFC).

Los resultados nos permiten demostrar que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586.

f) Universidad de Trujillo - Efecto antimicrobiano in vitro de tres concentraciones del aceite esencial de cinnamomum zeylanicum (canela) sobre staphylococcus aureus, pseudomonas aeruginosa y candida albicans.

El presente trabajo tuvo como objetivo conocer el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de Cinnamomum zeylanicum (canela) en las concentraciones de 100%, 75% y 50% sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans.

El aceite esencial de canela se obtuvo por el proceso denominado destilación por arrastre de vapor de agua. Las cepas se obtuvieron del Laboratorio de la Sección de Microbiología de la FM-UNT. Se preparó colonias jóvenes en agar TSA (*S. aureus* y *Ps. aeruginosa*) y Agar Sabouroad (*C. albicans*). Se prepararon una suspensión ajustada a la turbidez del estándar 0.5 de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/ml). Para determinar el efecto antimicrobiano se empleó el método de difusión de Kirby Bauer utilizando como controles: la oxacilina para *S. aureus*, la ceftazidima para *Ps. aeruginosa* y el Fluconazol para *C. albicans*.

Resultados muestran que existe diferencia significativa entre el efecto del aceite esencial de Cinnamomum zeylanicum (canela) sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans dado que el valor de P de la tabla de análisis de varianza es menor que 0.05. También muestra que existe 3 grupos significativamente diferentes sobre

el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; estos grupos son estadísticamente diferentes entre sí a un nivel de significancia de 0.05. Asimismo, se puede

apreciar que el mayor efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* corresponde a la concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 100%.

También muestra que existen 4 grupos significativamente diferentes sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*; estos grupos son estadísticamente diferentes entre sí a un nivel de significancia de 0.05. Se puede apreciar que el mayor efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* corresponde al fármaco utilizado como control (Ceftazidima), seguidamente de la concentración del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 100%. Asimismo, se muestra que existe 2 grupos significativamente diferentes sobre el crecimiento de *Candida albicans*; estos grupos son estadísticamente diferentes entre sí a un nivel de significancia de 0.05. Se pudo apreciar que el mayor efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *Candida albicans* corresponde a las concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 100%, 75% y 50%.

Se determinó que existe actividad inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el crecimiento microbiano, siendo dicha actividad dependiente de la concentración utilizada y mayor que los respectivos controles en *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

g) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral.

Se realizó un estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral. En la facultad de odontología de la UPCH, encontró resultados positivos para 24 extractos de 27 de estas plantas.

Los extractos con mayor efecto antimicrobiano corresponden a las especies *Momordica charantia* L., *Piper dumosum* Rudge, *Byrsonima poeppigiana* A. Juss, *Anacardium occidentale* L., *Psidium guajava* L., *Marcia paivae* O. Berg *Couroupita guianensis* Aubl., *Vismia angusta* Miq., y cuatro aceites esenciales correspondientes a las especies *Cymbopogon citratos* (D. C.) Staf, *Mentha pulegium* L, y *Minthostachys mollis* (Kunth) Grises.¹⁷

h) Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Minthostachys Mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica.

Se obtuvo el aceite esencial de muña mediante la técnica arrastre de vapor de agua y fue sometida a cromatografía de gases y se determinó sus principales componentes pulegona y transmenton.

Concluyó que el aceite esencial de muña presenta actividad antibacteriana en *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Actinomyces* sp. Frente a Amoxicilina como control positivo y agua destilada como control negativo.

En las pruebas de susceptibilidad concluyó que la bacteria más sensible al aceite esencial de muña era *Fusobacterium nucleatum* seguido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. y *Actinomyces* sp. Con una media de halos de inhibición 20.13 mm, 18.42 mm, 16.50 mm, 14.38 mm, 11 mm respectivamente. La propiedad antimicrobiana se debería a las sustancias terpenoides presentes en el aceite esencial del *Minthostachys mollis*.¹⁸

i) Oral Microbiology and Immunology. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate.

Realizaron un estudio comparativo de los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales por sí solo y en combinación con clorhexidina y digluconato contra biofilm de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Incluidos los aceites esenciales de canela, árbol de té (*Melaleuca alternifolia*), Manuka (*Leptospermum scoparium*), *Leptospermum morrisonii*, árnica, eucalipto, toronja y el aceite esencial de menta; fueron además analizados el enjuague bucal Listerine® y dos de sus componentes, timol y mentol y el aceite de manzanilla,

Canela exhibió la mayor potencia de los antimicrobianos. Manuka, *L. morrisonii*, aceites de árbol de té y timol mostraron potencia antimicrobiana, pero en menor medida.

El efecto de la combinación del aceite esencial-clorhexidina fue mayor en contra de ambos biofilm de *S. mutans* y *Lactobacillus*. La cantidad de clorhexidina necesarias para lograr un crecimiento equivalente de inhibición en contra de la biopelícula se redujo de 4 a 10 veces en combinación con la canela, Manuka, *L. morrisonii*, timol, y Listerine ®. Llegando a la conclusión de que puede haber un papel para los aceites esenciales en el desarrollo de nuevos tratamientos anticaries.¹⁹

j) JPB Bras. Estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebe.

Realizaron un estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebe, el objetivo del estudio fue evaluar y comparar el efecto de los antibióticos utilizados en soluciones de higiene oral en la microflora de los lactantes. Después de recoger la saliva y placa dental de 20 niños, se llevó a cabo el método de difusión en agar. Los resultados obtenidos y analizados por ANOVA y el test de Tukey, se encontró que la solución de control, bicarbonato de sodio y la infusión de *Matricaria chamomilla* no mostraron efecto antimicrobiano, independiente de la concentración.

La solución de H₂O₂ (3 por ciento) y NaF (0,02 por ciento) tuvo un efecto significativo ($p < 0,01$) y la solución de H₂O₂ mostró una mayor actividad ($p < 0,01$) que el NaF, independientemente del origen del inóculo.²⁰

- k) Universidad San Carlos de Guatemala. Estudió sobre el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos.**

Realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala; evaluó el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* in vitro.

Demostó que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.²¹

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. ESTREPTOCOCCO MUTANS

Los streptococco mutans son cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos, los cuales miden de 0.5 a 0.8 μm de diámetro, anaerobios facultativos, forman parte de la flora microbiana residente de la cavidad bucal y vías respiratorias altas, son patógenos oportunistas en enfermedades humanas como la caries dental y la endocarditis infecciosa, entre otras. Entre los factores de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans* destacan (Ver Tabla 1 - Anexo):

- a) Poder acidogénico, acidófilo y acidúrico
- b) Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, fructanos.
- c) Síntesis de polisacáridos intracelulares.
- d) Capacidad adhesiva por las proteínas salivales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, capacidad agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos.
- e) Producción de bacteriocinas con actividad sobre otros microorganismos. La habilidad del *Streptococcus mutans* de sintetizar glucanos insolubles a partir de la sacarosa de la dieta a través de la glucosiltransferasa, facilita la formación de la biopelícula dental.

Se ha demostrado que el *Streptococcus mutans* está implicado en el inicio de la lesión de caries, en los últimos años se han realizado una serie de estudios, entre los que se destaca el estudio de Fitzgerald y Keyes en 1960, quienes demostraron el papel de *Streptococcus mutans* como agente microbiano cariogénico en caries experimental en humanos, en las muestras de placa dental in situ sobre lesiones de caries iniciales de mancha blanca. Además, Van Houte en 1994, señaló que *Streptococcus mutans* constituye una alta proporción de la flora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries.

Por otra parte, Becker y col en 2002, a través de técnicas moleculares de identificación bacteriana, señalaron la presencia de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de caries profundas examinadas,

indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries. Este hallazgo contrasta con estudios anteriores donde se emplearon medios de cultivo, como los realizados por Loescheryed en 1973, por Hoshino y col en 1984, quienes reportaron que el *Streptococcus mutans* solo constituye una pequeña parte de la flora cultivable en áreas profundas de dentina cariada. También, se reportaron la presencia en lesiones de caries profunda, pero en menos cantidades de *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis* y *Streptococcus constellatus*, las cuales se encuentran asociadas con lesiones de placa profunda.

Autores como, Berkowitz, Kohler, col y Van Houte han sugerido al *Streptococcus mutans* como el principal agente causante de la formación de caries dental. La patogenicidad del *Streptococcus mutans* está asociada a varios factores como:

a) Liberación de ácido o acidogenicidad

La alta afinidad de *Streptococcus mutans* por la sacarosa y su alta capacidad para transportarla hacen que este microorganismo sea el que probablemente contribuya más a la acidogénesis y subsecuente formación de caries, cuando la sacarosa es un componente significativo en la dieta de la persona.

El *Streptococcus mutans* puede fermentar tales azúcares y producir ácido láctico en mayor proporción, ácido acético, fórmico y etanol.

Esto hace que el pH baje y se desmineralice el esmalte dental.

b) Aciduricidad

El pH es un factor de estrés para las bacterias por lo cual desarrolla varios mecanismos ácidotolerantes. La aciduricidad hace referencia a la capacidad que posee el microorganismo de producir ácido en un medio con pH ácido. *Streptococcus mutans* es más acidúrico que los demás tipos de *Streptococcus*.

c) Resistencia al medio ácido o acidofilicidad

El *Streptococcus mutans* tiene la habilidad de responder rápida y eficientemente a grandes cambios en su medio ambiente, razón por la cual puede resistir la acidez del medio bombeando los protones fuera de la célula.

Éste es un elemento fundamental de dominancia de los *Streptococcus mutans* en la placa dental cariogénica.

d) Síntesis de glucanos y fructanos

Por medio de enzimas como glucosiltransferasa y fructosiltransferasa (GTF y FTF), se producen a partir de carbohidratos de la dieta como la glucosa y la sacarosa, polisacáridos extracelulares de glucano y fructano. Éstos pueden

ser solubles e insolubles en agua. Los glucanos de tipo insoluble pueden ayudar a la célula adherirse al diente iniciando fisura e indentaciones. De no ser por mecanismos de acción como éste, las bacterias serían barridas y sus productos como el ácido láctico serían diluidos y neutralizados por la saliva. Estos polímeros también pueden ser usados como reserva de nutrientes.

El *Streptococcus mutans* usa la sacarosa para sintetizar glucanos unidos por enlaces (insoluble, base de la placa bacteriana) y (solubles, base de azúcar libre para el mantenimiento de los microorganismos que están en la película), a través de la acción de tres glucosiltransferasas secretadas que son codificadas por tres genes. Se cree que el principal papel de estos glucanos es facilitar la acumulación de estos microorganismos y establecer una matriz extracelular de polisacáridos, la cual le da a los microorganismos resistencia contra las fuerzas mecánicas normales de limpieza.

La glucosiltransferasa no solo cataliza la síntesis sino tiene la capacidad de unir estos polisacáridos.

El *Streptococcus mutans* también sintetiza una fructosiltransferasa, producto del gen *fff*, la cual cataliza el clivaje (ruptura) de la sacarosa e incorporación de la fructuosa dentro del polímero fructano, compuesto principalmente por unidades de fructuosa unidas por enlaces beta-2. Los fructanos no facilitan la adhesión, ni agregación del *Streptococcus mutans*, los cuales tienen una vida relativamente corta dentro de la placa dental,

debido a la gran hidrólisis enzimática por las enzimas fructano hidrolasas de las bacterias orales.

e) Síntesis de polisacáridos intracelulares

Entre éstos se encuentra el glucógeno, que sirve como reserva alimenticia y para mantener la producción de ácido durante largos períodos, aún en ausencia de consumo de azúcar. Igualmente, evita la acción tóxica del “azúcar asesino” cuando hay un aporte exógeno excesivo de sacarosa.

f) Producción de dextranasa y fructanasa

Además de movilizar reservas de energía, estas enzimas pueden regular la actividad de la glucosiltransferasa removiendo productos finales de glucano. Igualmente, permiten a los microorganismos mantener la producción de ácidos cuando no hay aporte exógeno de carbohidratos.

g) Proteína de adhesión celular (PAC)

Son unas proteínas antigénicas que se encuentran en la cápsula o pared del *Streptococcus mutans* e inician la adhesión a la superficie dental, lo cual es inusual, debido a que éstas se encuentran presentes en otros microorganismos en apéndices como en las fimbrias. Han recibido diversos nombres como Antígeno I/II, proteína B10, Spa 11, P1 1, R 13 ML-1 y PAC. Pueden tener varias funciones según la región de la proteína;

agregación, región amino terminal hidrofóbica de la hélice a la de la molécula. Adherencia en el carbono terminal de la región amino terminal rica en alanina. Por otro lado, pueden unirse también al colágeno en los túbulos dentinales, situación importante en el desarrollo de caries radicular. Se ha sugerido que esta molécula posee varios receptores, lo cual implica múltiples dominios de unión, además de que interactúa con el componente secretorio, la albúmina, aglutinina salivares y glicoproteínas. El gen está constituido por 4695 pares de bases y codifica para una proteína de 1561 residuos de aminoácidos. Incluye una secuencia líder que va a los residuos 1 al 38. Los residuos 1528 a 1533 están involucrados en la modificación postranscripcional que envuelve el rompimiento de los residuos del carbono terminal y la unión a la pared celular por medio probablemente de enlaces covalentes. La región carboxilo terminal está compuesta por un dominio hidrofílico rico en residuos de glicina y prolina que atraviesa la pared, un motivo consenso LPNTGV, un dominio hidrofóbico que atraviesa la membrana con residuos de lisina. La parte menos conservada está alineada entre los residuos 500 y 900.

En contraste, la región N terminal está particularmente bien conservada y corresponde a los residuos 121 a 477. Este segmento de alanina se le conoce como región A por ser rica en alanina. En ella se hallan las regiones de mayor interés que son las comprendidas entre los residuos 301 a 319, 361 a 377, siendo los segmentos más importantes porque poseen los epítopes (fragmento de la proteína que reconocen los blancos

sobre los que ésta actúa) para linfocitos B y T. La estructura secundaria sugiere a la región A en el terminal amino de la molécula presenta 7 residuos periódicos y esto es lo que forma la hélice enrollada en espiral. Los residuos de alanina están agrupados formando una región hidrofóbica que gira dos veces alrededor de la hélice. La porción central incluye una serie de repeticiones de una secuencia de 39 residuos ricos en prolina (residuos 816 a 1213). A ésta se le conoce como región P, la cual se cree que es la región más relacionada con la unión entre la superficie de la proteína y los componentes salivales. En varios estudios efectuados en la década de los ochenta se sugirió que por homología de las secuencias (segmentos de cadenas de aminoácidos iguales entre dos proteínas diferentes), se podría presentar reactividad cruzada entre PAC y las proteínas del músculo cardíaco, lo cual podría llevar a enfermedades autoinmunes. Se concluyó que la capacidad del *Streptococcus mutans* para inducir anticuerpos de reactividad cruzada no es causada por la proteína PAC, sino por otros antígenos de la pared celular de esa bacteria. Como muestran diversos estudios realizados hasta el momento, varias secuencias de la proteína PAC han sido determinadas como inmunonógenos y se ha propuesto sus usos como antígenos vacunales, a pesar de haberse comprobado su capacidad inmunogénica en animales, no se ha comenzado la experimentación con esa proteína en humanos.

h) Glucosiltransferasas

Como ya se mencionó antes, las glucosiltransferasas del *Streptococcus mutans* juegan un papel importante en la cariogenicidad de esta bacteria, esto es debido a la habilidad de estos microorganismos para sintetizar glucanos adhesivos los cuales están relacionados con la acumulación y adherencia de las bacterias de la placa sobre la superficie del diente.

i) Proteínas Fijadoras de Glucanos (GBPs)

Son productos extracelulares que unen o asocian glucanos en presencia de sacarosa y por esto se encuentran involucradas en los procesos de formación de placa dental bacteriana cohesiva. Teóricamente, las proteínas fijadoras de glucanos son importantes en el ámbito molecular de la patogénesis de la caries dental por *Streptococcus mutans*. Todas las proteínas fijadoras de glucanos muestran afinidad por glucanos ricos en enlaces alfa-1,6. *Streptococcus mutans* sintetiza al menos dos proteínas fijadoras de glucanos que no tiene actividad enzimática de glucosiltransferasas, una de ellas es secretada como una proteína de 74 kDa (GBP74) que es la predominante cuantitativamente entre las obtenidas del sobrenadante de cultivos de *Streptococcus mutans*. Smith y colaboradores (1994) aislaron y purificaron una nueva proteína fijadora de glucanos *Streptococcus mutans* cuyo peso es de aproximadamente 59 KDa, por lo que se denominó GBP. Determinaron que esta proteína es diferente de la

GBPs, dado que presenta diferente tamaño, difiere en su posición de elución en gradiente salino y los antisueros para GBP 59 y GBP 74 no presentan reacción cruzada. En el mismo estudio concluyeron que aparentemente la GBP 59 es inmunogénica en humanos, ya que se encontraron anticuerpos Ig A en muestra de glándula parótida de adultos que mostraban reacción con GBP 59 en ensayos de inmunoabsorbancia. Igualmente, pudieron confirmar la actividad de fijación de glucanos de la GBP 59 y que la GBP 59 es estructural y antigénicamente diferente de la GBP 74 siendo capaz de inducir niveles significativos de Ig A salival en humanos.

El antisuero para GBP 74 reaccionó también con epítopes de la GBP 87 del *Streptococcus sobrinus*, indicando que existe relación estructural entre GBPs de diferentes especies de *Streptococcus*.²² Banas y colaboradores (1989) determinaron la secuencia de nucleótidos del gen GBP, que codifica alfa para la GBP de *Streptococcus mutans*, encontrando que está constituido por 1689 bases con un péptido señal de 35 aminoácidos. El peso molecular de la proteína procesada se calculó en 59,039 KDa.

Se encontró que las repeticiones son homologas a secuencias hipotéticamente involucradas en la unión de glucanos en la GTF-I DE *Streptococcus downei*. Y también a secuencias de proteínas codificadas por los genes *gtfB* y *gtfC* de *Streptococcus mutans*.

Proponen que estas secuencias repetidas pueden representar segmentos peptídicos que son importantes en la unión de glucanos y que pueden ser distintos entre las GBPs de otras bacterias habitantes de placa o cavidad oral.

2.2.2. PLANTAS MEDICINALES

2.2.2.1. PRINCIPIO ACTIVO DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Thompson refiere que el valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química – principio activo – que produce un efecto fisiológico. Mucho de los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados.

Por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas.²³

2.2.2.2. DEFINICIÓN DE ACEITES ASENCIALES

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias volátiles con propiedades aromáticas, extraídos de plantas, en su mayoría por destilación; son generalmente líquidos y rara vez sólidos.

Son el producto final del metabolismo secundario de muchas células vegetales, por lo que no se reintegran al metabolismo celular.²⁴

Morales²⁴ define a los aceites esenciales como aquellas sustancias caracterizadas por su volatilidad, formadas por agrupaciones de un gran número de compuestos químicos aromáticos.

Existen en las diferentes partes de las plantas, siendo estas sustancias no miscibles en agua. Morales reporta que la mayoría de las esencias están constituidas por un compuesto predominante; pero que no siempre las características de olor y sabor están dadas por el compuesto principal. Otros componentes en menor traza son importantes y en algunos casos la calidad comercial de ciertas esencias depende de dichos constituyentes.

2.2.2.3. COMPOSICIÓN

Se considera que los aceites esenciales son químicamente una mezcla compleja y muy variables de hidrocarburos alicíclicos, denominados terpenos y sus derivados oxigenados llamados alcanfores.²⁵

La composición de los aceites esenciales es diversa. Están principalmente constituidos por hidrocarburos de fórmula $C_{10}H_{16}$. En la actualidad se refieren a un gran número de hidrocarburos que aparecen en la naturaleza con fórmula $(C_5H_8)_n$, sus derivados y compuestos aromáticos.²¹ Los terpenos por su composición, pueden derivar de la condensación de dos moléculas de Isopreno C_5H_8 . En los mismos aceites esenciales, y en otros productos naturales, aparecen compuestos derivados, análogamente, del Isopreno, de modo que la calificación de terpeno se extiende a todos aquellos, dividiéndolos en hemiterpenos C_5H_8 , terpenos propiamente dichos, sesquiterpenos $C_{15}H_{24}$, diterpenos $C_{20}H_{32}$ y politerpenos $(C_5H_8)_n$, siendo N un número elevado.²⁶

Los productos derivados de Isoterpenos que tienen oxígeno reciben el nombre de alcanfores, como ejemplo: en los hidrocarburos terpénicos figuran los limonenos, el mirceno, el pineno. Entre los alcoholes terpénicos más importantes, el geraniol (de las esencias de las rosas), citronelo, etc.

2.2.2.4. PROPIEDADES FÍSICAS

1. Líquidos a temperatura ambiente (a diferencia de los aceites “fijos”).
2. Muy raramente son coloreados.
3. En general, su densidad es inferior a la del agua.
4. Poseen un índice de refracción elevado.

5. Desvían la luz polarizada.
6. Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales. Arrastrables en vapor de agua (muy poco solubles en ella).
7. Punto de ebullición es superior a los 100 °C.

2.2.2.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Están constituidos por muchas clases de compuestos químicos, algunos por un solo componente en un alto porcentaje y otros por mezclas complejas de compuestos cíclicos aromáticos, acíclicos, heterocíclicos y derivados oxigenados.

Los constituyentes principales de los aceites esenciales son:

28

1. Hidrocarburos: Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno
2. Alcoholes: Isoamílico, geraniol, linalol, citronelol, nerodiol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico
3. Fenoles: Timol, carbacrol, eugenol, vainillina
4. Aldehídos: Citral, citronelal, anisaldehído, benzaldehído, cinamadehído Cetonas: Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona
5. Éteres: Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol
6. Ésteres: Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo

2.2.2.6. LOCALIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LAS PLANTAS

Según Miller ²⁹, 2000 especies de plantas producen aceites esenciales.

Las especies que proporcionan mayor cantidad de aceites esenciales pertenecen a las Familias Labiadas, Umbelíferas Compuestas, Mirtáceas, Laureáceas, Rutáceas y Pináceas. Los aceites esenciales se hallan en regiones circunscritas de la planta como son: raíz, tallos hojas; son segregados por estructuras especializadas como los pelos glandulares, cavidades esquizógenas, etc.

2.2.2.7. FUNCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LA PLANTA

Según Meyer ³⁰, informa que no se conoce exactamente la importancia bioquímica que desempeñan los aceites esenciales en las plantas.

Probablemente deben considerarse como productos accesorios del metabolismo, es probable que tengan un papel ecológico.

Sin embargo; otros estudios han demostrado que los aceites esenciales regulan la transpiración, especialmente al alterar o modificar la actividad calorífica y la presión osmótica, manifiesta que los aceites esenciales son secreciones patológicas como la resina, el bálsamo, etc., sirviendo a la

planta como sustancias protectoras contra las enfermedades de los órganos dañados.³¹

2.2.2.8. INFLUENCIA DE LOS FACTORES EXTERNOS EN LA PRODUCCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Diversas investigaciones estudiaron el tipo de influencia de los factores externos y su relación con los aceites esenciales, concluyendo que la luz, el suelo, el clima, la velocidad del viento, etc. determinan su producción.³²

2.2.2.9. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales, compuestos extraídos de varios tipos de plantas y usados para preservar alimentos y bebidas, tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de microorganismos. En su estudio Walton y col. demostró que el extracto destilado del ajo tiene efectos bactericidas y bacteriostáticos. Se conoce de la actividad antimicrobiana de varias especies vegetales en forma de extractos o hierbas aromáticas en los alimentos, inhiben la formación vegetativa de esporas, detienen el crecimiento de elementos patógenos y levaduras.³³

2.2.2.10. MECANISMO DE ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Este mecanismo de acción hacia los microorganismos es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado.

El modo de acción de los aceites esenciales también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos.³⁴

Kakrani³⁰ estableció, in vitro, la actividad antimicrobiana, antiparasitaria y antimicótica de los aceites esenciales de *Aglaodoratissima*.

Las investigaciones plantean que los aceites esenciales interferirían la fase del metabolismo intermedio de los microorganismos inactivando enzimas de reacción.³⁵

2.2.3. CINNAMOMUM VERUM

Cinnamomum zeylanicum o *Cinnamomum verum* nombre botánico de esta especie perteneciente a la familia Lauraceae y es conocida de forma común como: árbol de la canela, árbol de canela, canelero, canela y canela verdadera.

Las tres especies importantes de donde se obtiene el aceite esencial de interés son *C. zeylanicum*, *C. cassia* Blume y *C. camphora* L. (Ver Tabla 2 - Anexo)

La canela es una especie aromática utilizada en la mayoría de las cocinas, pero también tiene una utilidad medicinal, que tal vez no sea tan conocida. El género *cinnamomum* comprende gran número de especies productoras de canela, todas ellas originarias del sudeste asiático, aunque es el canelo de Ceilán el que produce la canela más apreciada por su delicado aroma.

En la actualidad, el cultivo de la canela se ha extendido desde Ceilán, que sigue siendo el principal productor, hasta el sur de la India, las Seychelles, Madagascar, Martinica, Jamaica, Vietnam, Egipto, Brasil.³⁶

2.2.3.1. HISTORIA

El origen de la canela se remonta al III milenio antes de Cristo. Su procedencia es incierta, existen diversas hipótesis que ubican este árbol en Sri Lanka, las Indias Occidentales y China.

En este último país se tiene constancia de ella desde el año 2500 antes de Cristo siendo un producto tan apreciado como el oro. No obstante, existen otras zonas donde también fue utilizada para ofrendas religiosas como en Oriente Medio, donde el primer manojo se ofrecía al sol y con el segundo encendía el fuego sagrado para sus sacrificios a los dioses.

Los habitantes del Antiguo Egipto también fueron conocedores de las propiedades de esta especia, comerciando con ella y otros condimentos aromáticos como la mirra.

En el Mar Mediterráneo fue introducida por los comerciantes fenicios y árabes desde islas situadas junto a Zanzíbar. Los primeros bautizaron esta especia como guinnamon, transmitiéndolo a los griegos y romanos que convertirían su nombre en kinnamom y cinnamomum respectivamente, germen de su terminología botánica.

Los romanos, comerciaron con países como India o Ceilán e iniciaron el consumo de canela en su gastronomía al final de su etapa imperial (entre los siglos III y IV después de Cristo), introduciéndola en sus dominios a través de la ruta de las especias desde China hasta las zonas orientales de Europa y las colonias egipcias del Mar Rojo.

Los emperadores romanos utilizaban la canela como perfume. Se cuenta que Nerón, tras la muerte de su esposa, hizo quemar en una pira funeraria toda la canela almacenada en la ciudad de Roma.

Durante la Edad Media, era utilizada en el Viejo Continente en cocina, pero además con ella se elaboraban cosméticos, bálsamos, medicinas contra la tos o la indigestión y perfumes (de inspiración romana).³⁷

2.2.3.2. USOS DE LA CANELA ³⁷

- A) Preparados de uso interno.
 - Aparato digestivo.
 - Aerofagia.
 - Digestiones difíciles.
 - Acidez de estómago.
 - Falta de apetito.
 - Vómitos.
- B) Antiséptico y salud intestinal.
- C) Enfermedades respiratorias.
- D) Mejorar estudio y concentración.
- E) Cáncer.
- F) Enfermedades del aparato circulatorio.
- G) Infecciones vaginales.
- H) Hongos de pie y uñas.
- I) Ulceras en boca.
- J) Mal aliento.

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

I. EFECTO ANTIMICROBIANO

El término antimicrobiano se refiere a un conjunto de compuestos que tienen la capacidad de eliminar o reducir la proliferación de microbios.

Los microbios atacados por un antimicrobiano pueden ser bacterias, virus, hongos o parásitos. Los tratamientos con antibióticos forman parte de los antimicrobianos. Se dirigen a los hongos o a las bacterias.

Algunas plantas, como el comino negro, tienen propiedades antimicrobianas. Los antimicrobianos se pueden utilizar en los seres humanos, en los alimentos o como desinfectantes en el medio ambiente.³⁸

II. CMI

La determinación de la Concentración Mínima Inhibidora (CMI) es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Es la mínima cantidad de antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas. Es el método habitual utilizado en los laboratorios de Microbiología Clínica. Para llevarlo a cabo es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables. Este método nos ofrece información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente).

Sensible, si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual.

Resistente, si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No es de esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento.

Intermedia, cuando el éxito terapéutico es imprevisible. Se puede conseguir efecto terapéutico en ciertas condiciones (fuertes concentraciones locales o aumento de la posología).

Existen diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de forma rutinaria, y de manera semi cuantitativa, las CIM (métodos manuales y métodos automatizados o semi automatizados). Se puede realizar mediante:

1.- Difusión en agar: Disco placa y E test

2.- Dilución: Medio sólido y Medio líquido (micro/macrodilución)

3.- Mecanizados y Automatizados.³⁴

III. CMB

Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.

Métodos: En un primer momento, el método estándar utilizado para las pruebas in vitro fue el de dilución en caldo, que proporcionaba un resultado cuantitativo.³⁹

IV. ANAEROBIA FACULTATIVA

Las bacterias facultativas que pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, por lo que también se las llama aerobias facultativas o anaerobias facultativas. Pueden desarrollar un metabolismo respiratorio, usando el oxígeno presente o fermentativo, en ausencia de oxígeno. Las bacterias anaerobias facultativas pueden obtener energía en ausencia de oxígeno, pero el oxígeno no les es tóxico.⁴⁰

V. BACTERIA GRAM POSITIVA

En microbiología, se denominan bacterias grampositivas, o bacterias Gram-positivas, aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram. Esta característica química está íntimamente ligada a la estructura de la pared celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias, y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de Posibacteria. Las restantes son las bacterias gramnegativas.

Incluyen especies tanto móviles (vía flagelos) como inmóviles con forma de bacilo (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Listeria*) o coco (*Staphylococcus*, *Streptococcus*); con gruesas paredes celulares o sin ellas (*Mycoplasma*). Algunas especies son fotosintéticas, pero la mayoría son heterótrofas. Muchas de estas bacterias forman endosporas en condiciones desfavorables.

Realmente, no todas las bacterias del grupo son grampositivas (no se tiñen por la aplicación de ese método), pero se incluyen aquí por su similitud molecular con otras bacterias grampositivas.⁴¹ (Ver Tabla 3 – Anexo)

VI. BACTERICIDA

Un efecto bactericida es aquel que produce la muerte a una bacteria y está provocado por alguna sustancia bactericida. Los organismos secretan sustancias bactericidas como medios defensivos contra las bacterias. Los antimicrobianos de efecto lísico o lítico (lisis) en las bacterias, provocan una reducción en la población bacteriana en el huésped o en el uso de sensibilidad microbiana.⁴¹

VII. AEROFAGIA

Aerofagia (del griego aeros = aire, phagos = comer, deglutir) es un problema de salud que ocurre cuando una persona traga mucho aire que llega al estómago. Causa distensión abdominal y frecuentes eructos y puede causar dolor.⁴¹

VIII. ACEITE ESENCIAL

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

Se trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles por naturaleza (se evaporan rápidamente) y livianos (poco densos). Son insolubles en agua, levemente solubles en vinagre y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales.

Se oxidan por exposición al aire. Se han extraído más de 150 tipos, cada uno con su aroma propio y «virtudes curativas únicas». Proceden de plantas tan comunes como el perejil y tan exquisitas como el jazmín. Para que den lo mejor de sí, deben proceder de ingredientes naturales brutos y quedar lo más puro posible.

El término esencias o aceites esenciales se aplica a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales. El término aceites esenciales puros se utiliza para resaltar la diferencia entre los aceites naturales y los sintéticos.⁴²

IX. BACTERIA ACIDÚRICA

La que se desarrolla en un medio de pH bajo.

X. BACTERIOSTÁTICO

Un efecto bacteriostático es aquel que, aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia. Un efecto bacteriostático está producido por sustancias bacteriostáticas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias.

CAPITULO III

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Streptococcus mutans ATCC 25175.

3.1.2. MATERIAL DE VIDRIO

- Tubos de ensayo con tapa de 15 x 125 mm.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm y 40 de 15 x 125 mm.
- Balones de vidrio de 100, 250, 500 ml.
- Placas Petri de 10 x 100 mm.
- Matraces de 500 ml.
- Matraces de 250 ml.
- Matraces de 100 ml.
- Pipetas de 1 ml.
- Pipetas de 5 ml.
- Pipetas de 10 ml.
- Vasos precipitados de 200 ml.
- Probeta de 100 ml.

3.1.3. MATERIAL DE METAL Y OTROS

- Pinzas, tijeras.
- Espátula.
- Papel aluminio.
- Horno esterilizador.
- Discos de papel para cultivo.
- Asa de kolle.
- Gradillas.
- Papel Kraft.
- Mascarillas.
- Guantes quirúrgicos.
- Guardapolvos.
- Algodón.
- Pabilo.
- Regla milimetrada.
- Marcadores.
- Calculadora.

3.1.4. MATERIALES DE CULTIVO Y REACTIVOS

- Caldo infusión cerebro corazón (BHI).
- Agar Müeller Hinton.
- Dimetil Sulfoxido 10% (DMSO).
- Agua destilada.
- Alcohol 70°.
- Ron de quemar.

3.1.5. EQUIPOS

- Estufa.
- Autoclave.
- Balanza electrónica.

3.2. EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL

a) Extracción del aceite esencial

Las cortezas de canela fueron trozadas en tamaños más pequeños para facilitar la extracción, agrupándose luego en 250 gramos.

Para obtener la fracción cromática del material aromático, a lo largo de los años, se usaron diferentes procesos. Motle ⁴³ en su estudio consideraba los siguientes métodos:

a) Extracción por expresión.

b) Extracción por solución.

Con grasas sólidas y frías.

Con grasas líquidas y calientes.

Con solventes volátiles.

c) Extracción por destilación.

Extracción por destilación con agua caliente.

Extracción por arrastre de vapor.

EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR

Esta técnica resulta una de las más simples y económicas para obtener el aceite esencial de este tipo de planta y en general para cualquier otro. Las ventajas de este método son su simplicidad, bajo costo y el hecho de poder maniobrar grandes volúmenes de materia prima.

Este método se fundamenta en que los aceites esenciales son arrastrados por la corriente de vapor de agua que se genera en la fuente de vapor ⁽³⁹⁾, luego esta mezcla (vapor de agua y aceite) es condensada mediante su paso por un refrigerante de vidrio, para luego separar el aceite del agua por simple diferencia de densidades.

La destilación es una operación farmacéutica que tiene por finalidad separar los principios volátiles (contenidos en una mezcla compleja) de los que no lo son. El equipo de destilación está compuesto por un sistema de destilación de doble balón, en el cual solo uno de los balones que contiene agua, es sometido al calor directo; mientras que el segundo balón que contiene la planta licuada recibe los vapores de agua, para luego liberar el vapor mixto (agua-aceite esencial) hacia el condensador. (Ver Imagen 1)

El método involucra los siguientes pasos: ⁴⁴

- a) Selección de porciones en buen estado de canela.
- b) las cortezas se trozan para obtener un tamaño adecuado, el cual se mezclará con agua destilada todo en balón de destilación.

- c) Se activará el sistema al someter a calor directo (mechero de Bunsen) el balón de agua destilada.
- d) El destilado se recibe en un depósito estéril y cerrado, aquí se observa un estado difásico entre agua y aceite esencial, debido a la diferencia de densidades. Esto permite separar el aceite esencial mediante el uso de pipeta Pasteur a viales estériles.
- e) Los aceites esenciales obtenidos luego son esterilizados por filtración con membrana de Millipore de 0.22 μm ; almacenado a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

f) Determinación de densidad

Donde:

d = densidad (g/ml)

m = masa (g)

v = volumen (ml)

w_1 = peso probeta (g)

w_2 = peso probeta con aceite (g)

vol. Aceite = volumen de aceite (ml)

vol. Aceite = 1000 mg = 1ml

w_1 = 16.2262

w_2 = 17.1871

$$D = m/v$$

$$17.1871 - 16.2262$$

$$0.9609 \text{ g/ml}$$

$$\begin{array}{r} 0.9609 \text{ g/ml} \quad \text{_____} \times \\ 1 \text{ g} \quad \text{_____} \quad 1000 \text{ mg} \\ \\ X = 960.9 \text{ mg} \end{array}$$

3.3. CEPA

3.3.1. RECOLECCIÓN

Se utilizó microorganismo patógeno de importancia clínica brindada por el MINSA, siendo activadas en un caldo infusión cerebro corazón, sabiendo que las bacterias pasando las 24 horas envejecen y entran en un estado estacionario siendo no útil. (Ver Imagen 2)

3.4. PREPARACION DE INÓCULO BACTERIANO DE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175.

Para activar bacterias y ser utilizados en el antibiograma mediante el Método Kirby-Bauer³⁶.

Se activaron en Agar Nutritivo Müller-Hinton e incubadas por el lapso de 6 a 8 horas hasta llegar a una concentración de 1.5×10^8 y comparada con el tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. (Ver Imagen 3-4)

- Método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico}. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas.

3.5. PREPARACION DE DISCOS

La esterilización consistió en la desnaturalización de los discos con antibióticos, que fueron colocados en un vaso precipitado de 100 ml con agua destilada aprox. 80 ml (IMAGEN 5) llevado a autoclave a una presión de 20 BAR (121°C) por 15 minutos (IMAGEN 6). Se realizó una segunda repetición (IMAGEN 7) para descartar cualquier resto antibiótico. Luego se coloca al secado a 170°C por 1 hora. (IMAGEN 08)

3.6. PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD

MÉTODO DE DIFUSION EN DISCO DE SUCEPTIBILIDAD (KIRBY-BAUER)

- Se inoculo la placa de agar Müeller Hilton, utilizando la suspensión estandarizada de bacterias a una concentración de 1.5×10^8 (tubo 0.5 de la escala de Mac Farland). Se depositó 100 ul del inculo bacteriano sobre superficie de agar de cada placa, mediante la técnica de disseminación hasta que el inculo quede distribuido de modo homogéneo.

- Fueron embebidos con una micropipeta de rango variable con volúmenes de 2.5 ul, 5.0 ul, 7.5 ul, 10 ul, 12.5 ul, 15.0 ul, 17.5 ul, 20.0 ul, 22.5 ul, 25.0 ul, 27.5 ul, 30 ul de aceite esencial, teniendo así 96 discos que correspondieron a 4 repeticiones. (Ver Imagen 09-10)

Control negativo: consiste en un disco de sensibilidad de antibiótico desnaturalizado el cual no presenta el antibiótico. (Ver Tabla 4 – Anexo)

Las 3 placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis y llevadas a incubar a 37C° por un periodo de 48 a 72 horas. Se procedió a la lectura de las medidas de los halos de inhibición, con la ayuda del pie de rey o calibrador (Ver Imagen 11 – 22). Para interpretar los resultados se tomó como referencia las pautas dadas por Duraffourd, 1983. (Ver Cuadro 1)

3.7. PREPARACION DE INÓCULO BACTERIANO DE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175.

Se repetirá la activación de bacterias y ser utilizados en la obtención del CMB y CMI, con la preparación de sustancia madre con Dimethyl sulfoxide.

3.8. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)

- a) Preparación de la solución madre (Ver Cuadro 2)

Se preparó una solución total de 3000 ul; 500 ul DMSO

A partir de la densidad: 960.9 mg/ml

$$\begin{array}{r}
 1000 \text{ ul} \text{ -----} 960.9 \text{ mg} \\
 500 \text{ ul} \text{ -----} x \\
 X = 480.45 \text{ mg} \longrightarrow \boxed{+ 500 \text{ DSMO}} \\
 480.45 \text{ mg} \text{ -----} 10000 \text{ ul} \\
 X \text{ -----} 1000 \text{ ul} \\
 X = 48.045 \text{ mg} / 1000\text{ul}
 \end{array}$$

- b) Preparación del CMI (Concentración Mínima Inhibitoria para Streptococcus Mutans ATCC 25175.)

Se utilizó el método de la Macro dilución en tubos con medio Caldo Müller Hilton, preparando diluciones del aceite esencial de Cinnamomum verum a diferentes concentraciones, después de los cuales se agregó una suspensión bacteriana constante de acuerdo al estándar de turbidez de 0.5 de Mc Farland. Se prepararon 8 tubos a los cuales se les agregó: **Sustancia madre, Bacteria** (Ver Imagen 23) Ver Imagen 24)

(Ver Tabla 5 – Anexo)

3.9. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA (CMB)

- a) Obtención del CMB (Concentración Mínima Bactericida para Streptococcus Mutans ATCC 25175.)

Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas. (IMAGEN 23)

MÉTODOS

DILUCIÓN EN CALDO

Se colocan concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano, generalmente diluciones 1:2, en tubos con un caldo de cultivo que mantiene el desarrollo del microorganismo. Los antibióticos se preparan en "soluciones madre" concentradas y luego se diluyen en caldo hasta obtener las concentraciones apropiadas.

Un tubo de caldo se mantiene sin inocular como control negativo de crecimiento. Después de un periodo de incubación adecuada se observa la turbidez de los tubos que indica el desarrollo bacteriano. El microorganismo crecerá en el tubo control y en todos los que no contengan suficiente antibiótico que sea capaz de inhibir su desarrollo. La concentración de antibiótico que presente ausencia de crecimiento es la Concentración Mínima Inhibitoria.

Para medir la CMB se debe realizar la prueba de actividad bactericida, que emplea el mismo sistema de dilución en caldo que para medir la sensibilidad.

A partir de la CMI, se siembra una cantidad conocida de inóculo de cada uno de los tubos de caldo que no tienen turbidez en placas de agar, y el número de colonias que crece en estos subcultivos, después de incubar durante la noche, se compara con el número de UFC/ml del cultivo original.

La mínima concentración del agente antibacteriano que permite sobrevivir a menos de 0,1 % del inóculo original se denomina concentración bactericida mínima (CBM). (Ver Cuadro 3) (Ver Imagen 25)

3.10. RESULTADOS

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Cinnamomum verum* "canela" sobre *Streptococco mutans* atcc 25175.

Cuadro N° 1

Efecto antimicrobiano del Aceite Esencial de *Cinnamomum verum* "canela"

Aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM						
N° TRATAMIENTO	VOLUMEN (UL)	VOLUMEN FINAL (MG/uL)	< 8mm	9-14mm+	15-19mm++	>20mm +++
T ₁	2.5ul	24.0225 mg/ul	-	-	-	+++
T ₂	5.0ul	48.045 mg/ul	-	-	-	+++
T ₃	7.5ul	72.0675 mg/ul	-	-	-	+++
T ₄	10.0ul	96.09 mg/ul	-	-	-	+++
T ₅	12.5ul	120.1125 mg/ul	-	-	-	+++
T ₆	15.0ul	144.135 mg/ul	-	-	-	+++
T ₇	17.5ul	168.1575 mg/ul	-	-	-	+++
T ₈	20.0ul	192.18 mg/ul	-	-	-	+++
T ₉	22.5ul	216.2025 mg/ul	-	-	-	+++
T ₁₀	25.0ul	240.225 mg/ul	-	-	-	+++
T ₁₁	27.5ul	264.2475 mg/ul	-	-	-	+++
T ₁₂	30ul	288.27 mg/ul	-	-	-	+++

Fuente: Ficha observacional

Interpretación

El efecto antimicrobiano *Cinnamomum verum* "canela" sobre *Streptococco Mutans* ATCC 25175 fue al 100% positivo, teniendo así un halo de inhibición mayor a 20 mm; mayor a campo observado.

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum verum* SOBRE *Streptococco mutans* atcc 25175 – CMI

Cuadro N° 2.

Concentración mínima inhibitoria (CMI) de *Cinnamomum verum* sobre *Streptococco mutans* atcc 25175

N° TRATAMIENTO	VOLUMEN SUSTANCIA MADRE	CONCENTRACION INICIAL S.M.	VOLUMEN TOTAL	VOLUMEN FINAL
T ₁	150 ul	7.20675mg/ul	3ml	2.40225 mg/ul
T ₂	152 ul	7.30284 mg/ul	3ml	2.43428 mg/ul
T ₃	154 ul	7.39893 mg/ul	3ml	2.46631 mg/ul
T ₄	156 ul	7.49502 mg/ul	3ml	2.49834 mg/ul
T ₅	158 ul	7.59111 mg/ul	3ml	2.53037 mg/ul
T ₆	160 ul	7.6872 mg/ul	3ml	2.5624 mg/ul
T ₇	162 ul	7.78329 mg/ul	3ml	2.59443 mg/ul
T ₈	164 ul	7.87938 mg/ul	3ml	2.62646 mg/ul

Fuente: Ficha observacional

Interpretación

Diferentes concentraciones, después de los cuales se agregó una suspensión bacteriana constante de acuerdo al estándar de turbidez de 0.5 de Mc Farland; Se observó la ausencia de colonias formadoras de bacteria en: Tratamiento número 6, con una concentración de 7.6872 mg/ul de *Cinnamomum verum*; según la escala de Mc Farland,

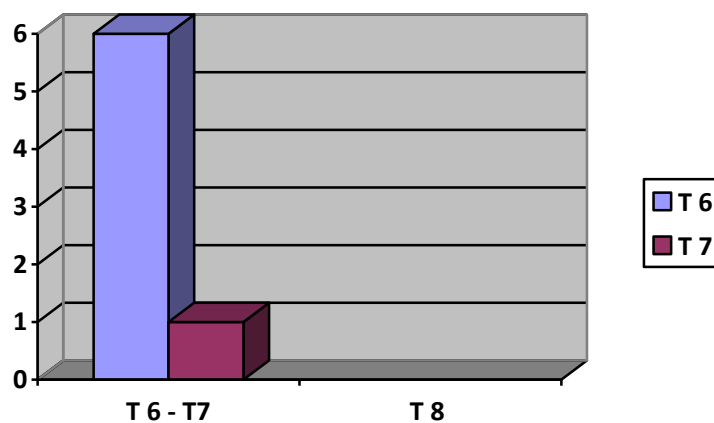
CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum verum* SOBRE *Streptococco mutans* atcc 25175 – CMB

Cuadro N° 3.

Concentración mínima bactericida (CMB) de ***Cinnamomum verum*** sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175

N° TRATAMIENTO	VOLUMEN INICIAL SUSTANCIA MADRE	UFC/PLACA
T ₆	7.6872 mg/ul	6
T ₇	7.78329 mg/ul	1
T ₈	7.87938 mg/ul	0

Grafico N° 1



Interpretación

El número de colonias que crece en estos subcultivos, después de incubar durante doce horas como mínimo, se compara con el número de UFC/ml del cultivo original. La mínima concentración del agente antibacteriano que permite sobrevivir a menos de 0,1 % del inóculo original se denomina concentración bactericida mínima (CBM); siendo el tratamiento número 7 con una concentración de 7.78329 mg/ul de ***Cinnamomum verum*** ; presenta el 0.1% de destrucción del agente bacteriano.

DISCUSIÓN

En el objetivo general que planteábamos en nuestra investigación, determinar el efecto antimicrobiano de *Cinnamomum verum* "Canela". sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Vamos a centrar la discusión en aquellos aspectos más relevantes que se han extraído de los resultados obtenidos, dado que no disponemos de elementos específicos de comparación con los que contrastar nuestros resultados y nuestras aportaciones.

- A. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medicina Veterinaria y Zootecnia. "Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite de canela (*cinnamomum zeylanicum*) sobre cepas de salmonella: como resultado se obtuvo que la cepa *Salmonella choleraesuis* fue sensible al aceite de canela a partir del tratamiento T3 con halos de 19 mm y 26 mm para *S. typhimurium*. Manifestando estadísticamente que el tratamiento con concentraciones de aceite de canela al 50%,70% y 90% son significativos para las dos cepas bacterianas.

En la aplicación de nuestra investigación tuvimos resultados desde la concentración mínima de aceite, 2.5 ul concentración de aceite esencial de *Cinnamomum verum* "Canela".

- B. Universidad de Ciencias Aplicadas. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia Sinensis* (Té verde) frente al *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus Sanguinis* (atcc 10556). Ambos extractos metanólicos de té

verde presentaron efecto antibacteriano contra las cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC10556).

El té verde comercial fue el que presentó mayor efecto antibacteriano que el extracto a granel; como resultado positivo al igual que nuestra investigación fue fundamentada y demostrada.

- C. Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Efecto Antibacteriano In Vitro Del Aceite Esencial De *Minthostachys Mollis* (Muña) En *Streptococcus mutans*. Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano.

A diferencia de nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela".sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.

- D. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología E.A.P. de odontología. Actividad inhibitoria del crecimiento de *streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la matricaria chamomilla manzanilla

El grupo control clorhexidina 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio sobre las tres concentraciones en los grupos de estudios evaluados con excepción de la concentración del 100% el cual no mostró diferencia estadísticamente significativa con el grupo control clorhexidina0.12% sobre cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM.

A diferencia de nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela".sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.

E. UNIVERSIDAD DE TRUJILLO - efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Los resultados nos permiten demostrar que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Podemos comparar con un resultado positivo que en este caso nuestra investigación arrojó desde una concentración mínima.

F. Universidad de Trujillo - Efecto antimicrobiano in vitro de tres concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*.

Se determinó que existe actividad inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre el crecimiento microbiano, siendo dicha actividad dependiente de la concentración utilizada y mayor que los respectivos controles en *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. A diferencia de nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela" sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

G. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral.

Los extractos con mayor efecto antimicrobiano corresponden a las especies *Momordica charantia* L., *Piper dumosum* Rudge, *Byrsonima poeppigiana* A. Juss, *Anacardium occidentale* L., *Psidium guajava* L., *Marcia paivae* O. Berg *Couroupita*

guianensis Aubl., *Vismia angusta* Miq., y cuatro aceites esenciales correspondientes a las especies *Cymbopogon citratos* (D. C.) Staf, *Mentha pulegium* L, y *Minthostachys mollis* (Kunth).

Nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela".sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.

- H. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Minthostachys Mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica.

En las pruebas de susceptibilidad concluyó que la bacteria más sensible al aceite esencial de muña era *Fusobacterium nucleatum* seguido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp. y *Actinomyces* sp. Con una media de halos de inhibición 20.13 mm, 18.42 mm, 16.50 mm, 14.38 mm, 11 mm respectivamente. La propiedad antimicrobiana se debería a las sustancias terpenoides presentes en el aceite esencial del *Minthostachys mollis*.

Nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela".sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.

- I. Oral Microbiology and Immunology. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate.

El efecto de la combinación del aceite esencial-clorhexidina fue mayor en contra de ambos biofilm de *S. mutans* y *Lactobacillus*. La cantidad de

clorhexidina necesarias para lograr un crecimiento equivalente de inhibición en contra de la biopelícula se redujo de 4 a 10 veces en combinación con la canela, Manuka, *L. morrisonii*, timol, y Listerine ®. Llegando a la conclusión de que puede haber un papel para los aceites esenciales en el desarrollo de nuevos tratamientos anticaries.

A diferencia de nuestra investigación que trabajo con una bacteria y/o antibiótico específico y no grupal, el resultado y la ejecución de esta investigación tubo procesos diferentes para hallar el resultado final, no desmereciendo que fue un resultado positivo al 100%.

- J. JPB Bras. Estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebe.

La solución de H₂O₂ (3 por ciento) y NaF (0,02 por ciento) tuvo un efecto significativo ($p < 0,01$) y la solución de H₂O₂ mostró una mayor actividad ($p < 0,01$) que el NaF, independientemente del origen del inóculo.

A diferencia de nuestra investigación que trabajo con una bacteria y/o antibiótico específico y no grupal, el resultado y la ejecución de esta investigación tubo procesos diferentes para hallar el resultado final, no desmereciendo que fue un resultado positivo al 100%.

- K. Universidad San Carlos de Guatemala. Estudió sobre el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos.

Demostó que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.

Nuestra investigación, se demostró la efectividad al 100% de *Cinnamomum verum* "Canela". sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175 con una concentración mínima de 2.5 ul de aceite esencial.

CONCLUSIONES

1. Dada la investigación, se obtuvo un grado de sensibilidad del 100% que presenta el *Streptococco mutans* ATCC 25175. frente al Aceite Esencial del *Cinnamomum verum* "Canela".
2. La concentración bactericida mínima (CMB) del aceite esencial del *Cinnamomum verum* "Canela" sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175, presenta resultado en el Tratamiento número 7 con una concentración de 7.78329 mg/ul de *Cinnamomum verum* "Canela"; el cual presenta el 0.1% de destrucción del agente bacteriano.
3. La concentración mínima inhibitoria (CMI) a la cual el aceite esencial del *Cinnamomum verum* "Canela" ejerce inhibición sobre el crecimiento frente al *Streptococco mutans* ATCC 25175; siendo el resultado en tratamiento número 6, con una concentración de 7. 6872 mg/ul de *Cinnamomum verum* "Canela"; según la escala de Mc Farland, presentando así ausencia de turbidez.
4. La investigación aplicada permitió determinar que la bacteria *Streptococco mutans* ATCC 25175 es altamente sensible frente el Aceite esencial del *Cinnamomum verum* "Canela".

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda hacer nuevos estudios de menor concentración a 2.5 ul descubriendo así nuevas concentraciones de aceite esencial efectivo sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.
2. Se recomienda comparar efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cinnamomum verum* "Canela" en cepas de diferentes bacterias de interés estomatológico.
3. Realizar estudios de comparación efecto antibacteriano de diferentes plantas de nuestra región sobre *Streptococco mutans* ATCC 25175.
4. Realizar estudios de composición química del aceite esencial de *Cinnamomum verum* "Canela" para determinar su componente bactericida.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ministerio de Salud del Perú. MINSA. [Online].; 2012 [cited 2017 Mayo 12. Available from: HYPERLINK
"https://www.minsa.gob.pe/portaIweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=13"
https://www.minsa.gob.pe/portaIweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=13 .
2. Pontigo A, Atitlán A. Carie Dental. Primera ed. Pontigo A, Atitlán A, editors. Hidalgo: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2012.
3. Madigan M. Brock Biology of Microorganisms. Octava ed.: Prentice Hall College Div.; 1996.
4. Acuña R. Cariología. Curso de Odontología Integral del Niño I. Primera ed. Bogotá: Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia; 2005.
5. Keyes P. The Infectious and Transmissible Nature of Experimental Dental Caries: Archives of Oral Biology; 1960.
6. Newburn E. Cariology. Tercera ed. Chicago: Quintessence Pub. Co; 1989.
7. Hamada S. Biology, Inminology and cariogenicity of Streptococcus mutans: Microbiological Reviews; 1980.
8. Ortuño M. Manual Práctico de Aceites Escenciales, Aromas y Perfumes España: Aiyana; 2006.
9. Gonzáles M. Conservación de mora, uvilla, frutilla mediante la Utilización del Aceite Escencial de Canela (Cinnamomum Zeylanicum). Tesis. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo; 2010.
10. Rosero M. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (cinnamomum Zeylanicum) en ratas (rattus novergicus) con hiperglicemia inducida. Tesis. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba; 2010.
11. Alvarado A, Restrep M. Cáncer Bucal, aproximaciones teóricas. Tesis. Manta: Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí; 2016.

12. Rídao D. Desarrollo de un sistema de decisión para tratamientos odontológicos con imágenes digitales. Tesis. Málaga: Universidad de Málaga, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática; 2015.
13. Ardila G. Gabriela Ardila Wordpress. [Online].; 2015 [cited 2017 Mayo 14. Available from: HYPERLINK "<https://gabrielaardila.wordpress.com/patologias/>"
<https://gabrielaardila.wordpress.com/patologias/> .
14. Tondu I, Cedeño I, Arias F. Diagnóstico de las lesiones malignas y benignas de la cavidad oral, hospital traumatológico Doctor Darío Contreras, Septiembre-Diciembre 2015. Revista Científica Universidad Odontológica Dominicana. 2015 Feb; 3(53-57).
15. Universidad de San Buenaventura Cali. 1er Congreso internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas. Informe de Congreso. Cali: Universidad de San Buenaventura Cali, Facultad de Ingeniería Agroindustrial; 2001.
16. UNIMED. Normas para medicamentos naturales, tradicionales y homeopáticos. Informe de investigación. La Paz: Ministerio de Salud y Deportes, Unidad de Medicamentos y Tecnologías en Salud; 2001.
17. Carpio A. Estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral. Primera ed. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
18. Flioché K. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. Oral Microbiology and Immunology. Blackwell Synergy. 2004.
19. Díaz K. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Mintostachys mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima; 2005.
20. Modesto A. Estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebé. JPB Bras. 2003 Enero.
21. Mirón C. Estudió sobre el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos. Tesis. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala; 1997.
22. Dawson B, Trapp G. Bioestadística Médica. Primera ed. México: Manual Moderno; 2005.

23. Thompson W. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. Primera ed. Barcelona: Blume; 1981.
24. Morales A. Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena). Tesis. Lima: UNALM, Lima; 1973.
25. Marques A. Estudo comparativo da actividade antimicrobiana de soluções irrigadoras à base de Clorexidina em diferentes concentrações sobre microorganismos frequentemente encontrados no canal radicular. Tesis. Salvador de Bahía: Universidade Federal da Bahia Salvador, Dissertação de Mestrado; 1997.
26. Duraffourd C, D' hervicourt L,LPJ. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. Primera ed. Paris: Masson; 1983.
27. Look de Ugaz O. Investigación fotoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Primera ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1988.
28. MINSA. Portal Web del Minsa. [Online].; 2017 [cited 2017 Enero 24. Available from: [HYPERLINK "minsa.gob.pe/portalweb/06prevención/prevención_2.asp?sub"](https://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevención/prevención_2.asp?sub)
[minsa.gob.pe/portalweb/06prevención/prevención_2.asp?sub](https://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevención/prevención_2.asp?sub) .
29. Miller E. Fisiología Vegetal. Primera ed. México: Centro Regional de Ayuda Técnica; 1967.
30. Meyer L. Introducción a la Fisiología Vegetal. Tercera ed. Buenos Aires: EUDEBA; 1970.
31. Guenter M. The essential Oils. Primera ed. Nueva York: Van Nostrand Company; 1960.
32. Risse C. Contribución al estudio de la esencia de *Minthostachys setosa* epl. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1962.
33. Agapito T, Sung I. Fito Medicina: 110 Plantas Medicinales Lima: Isabel IRL; 2003.
34. Cano C. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
35. Karkani K, Nai V. Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the seeds of *Aglaiaodoratissima*. Primera ed.; 1982.
36. Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de la región Arequipa. Primera ed. Arequipa: Akwarella; 2000.

37. Malinalli Herbolaria. Malinalli Herbolaria Médica. [Online].; 2017 [cited 2017 Abril 5].
Available from: [HYPERLINK](#)
"MALINALLIHERBOLARIAMEDICA.BLOGSPOT.PE/2010/09/CANELACINNAMON-CINNAMOMUM-VERUM.html."
[MALINALLIHERBOLARIAMEDICA.BLOGSPOT.PE/2010/09/CANELACINNAMON-CINNAMOMUM-VERUM.html](#).
38. CCM. CCM Salud. [Online].; 2017 [cited 2017 Mayo 15. Available from: [HYPERLINK](#)
"SALUD.ccm.net/faq/20686-ANTIMICROBIANO-definicion 15/05/17"
[SALUD.ccm.net/faq/20686-ANTIMICROBIANO-definicion 15/05/17](#) .
39. Jawetz , Melnick , Adelberg. Microbiología Médica. Veinticinco ed.; 2010.
40. Edwin , Jessen. Bacterias Anaerobias Facultativas. Investigación. Universidad Alas Peruanas, Ingeniería Ambiental; 2015.
41. Biologiamedica. Bacterias Gram Positivas y Gram. [Online].; 2017 [cited 2017 Julio 2].
Available from: [HYPERLINK "bacterias-gram-positivas-y-gram.blogspot.pe/2017-07-02"](#)
[bacterias-gram-positivas-y-gram.blogspot.pe/2017-07-02](#) .
42. Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. Biología Celular y Molecular. Séptima ed.: W.H. Freeman; 2012.
43. Augusto W. Fraccionamiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis*(muña) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva. Tesis. Lima: UNALM; 1975.
44. Motle P. Proyecto de factibilidad para la instalación de una planta de extracción de aceite esencial de Menta. Tesis. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 1977.
45. Alzamora L M, L. A, Fernández G. Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Primera ed. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2001.

ANEXOS

Anexo 1.- Matriz de Consistencia

PROBLEMA PRINCIPAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	EFECTO ANTIMICROBIANO "IN VITRO" DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA"	TIPO DE INVESTIGACION	POBLACION	TÉCNICAS	Tesis derivadas de observaciones.
<input type="checkbox"/> ¿Cuál es el efecto antimicrobiano "in vitro" DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" SOBRE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175"	<input type="checkbox"/> Determinar el efecto de la actividad antimicrobiana in vitro DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" SOBRE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175 "	<input type="checkbox"/> EL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" tiene efecto antimicrobiano in vitro frente al STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175".	La canela es una especie aromática utilizada en la mayoría de las cocinas, pero también tiene una utilidad medicinal, que tal vez no sea tan conocida	Investigación aplicada NIVEL DE INVESTIGACION Nivel experimental.	ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA"	Observación.	
PROBLEMAS ESPECÍFICAS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS		STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175		MUESTRA	INSTRUMENTOS	
<input type="checkbox"/> ¿Cuál es el grado de sensibilidad del STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175 frente al ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA"? <input type="checkbox"/> ¿Cuál es el grado de concentración bactericida mínima (CMB) delimitada DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" SOBRE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175" <input type="checkbox"/> ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria(MIC) a la cual DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" ejerce inhibición del crecimiento frente a STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175" <input type="checkbox"/> ¿Cuál es el efecto del ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" frente al crecimiento bacteriano?	<input type="checkbox"/> Evaluar el grado de sensibilidad que presenta el STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175 frente al ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA". <input type="checkbox"/> Delimitar la concentración bactericida mínima (CMB) DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" SOBRE STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175" <input type="checkbox"/> Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) a la cual DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" ejerce inhibición del crecimiento frente al STREPTOCOCCO MUTANS ATCC 25175" <input type="checkbox"/> Determinar el efecto DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA" frente al crecimiento bacteriano.		Streptococcus mutans ha sido implicado como el principal agente etiológico de la caries dental El rol en cuanto a su participación en la iniciación y progresión de la caries dental ha sido estudiado durante muchos años. Algunas características fenotípicas de estas bacterias son determinantes en su cariogenicidad.		STREPTOCOCO MUTANS ATCC 25175	Se caracterizará la materia prima, para obtener el mejor producto, dando paso a realizar los estudios descomponiendo el producto. Toma de muestra in vivo, aislamiento. Diseminación de antibiótico luego proceso de esterilización en horno. Expresión máxima metabólica de la bacteria en etapa logarítmica. Luego se da paso al método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas. Según pautas de Duraffourd, se extraerán resultados de MIC y CMB	

Anexo 2 .- Operacionalización

VARIABLES	CONCEPTO	CONCEPTO OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA	ITEMS
VARIABLE INDEPENDIENTE	El género <i>cinnamomum</i> comprende gran número de especies de canela, todas ellas originarias del sudeste asiático, aunque es el canelo de Ceilán el que produce la canela más apreciada por su delicado aroma.	La canela es una especie aromática utilizada en la mayoría de las cocinas, pero también tiene una utilidad medicinal, que tal vez no sea tan conocida.	Cuantitativo	Diámetro de halo de inhibición según pautas de <i>Duraffourd</i> .	Medido en mm	< 8mm - 9-14mm + 15-19mm ++ >20mm +++
"EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUM VERUM "CANELA"			Cualitativo		Nula (-) Sensible(+) Muy sensible(++) Altamente sensible (+++)	
VARIABLE DEPENDIENTE	Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra normalmente en la cavidad bucal humana, formando parte de la placa dental o <i>biofilm</i> dental. Se asocia al inicio y desarrollo de la caries dental. Es <i>acidófilo</i> porque vive en medio con pH bajo, <i>acidogénico</i> por metabolizar los azúcares a ácidos y <i>acidúrico</i> por sintetizar ácidos a pesar de encontrarse en un medio de tales condiciones. Metaboliza la sacarosa para producir polisacáridos extracelulares (sustancia laxa que facilita su adhesión a las caras libres de las piezas dentarias) e intracelulares (metabolismo energético).	<i>Streptococcus mutans</i> ha sido implicado como el principal agente etiológico de la caries dental El rol en cuanto a su participación en la iniciación y progresión de la caries dental ha sido estudiado durante muchos años. Algunas características fenotípicas de estas bacterias son determinantes en su <i>cariogenicidad</i> .	Cuantitativa	Estándar de <i>McFarland</i>	Turbidez UFC	0.5= 1.5*10 ⁸ 1= 3*10 ⁸ 2=6*10 ⁸ 3=9*10 ⁸ 4=12*10 ⁸ 5=15*10 ⁸ 6=18*10 ⁸ 7=21*10 ⁸ 8=24*10 ⁸ 9=27*10 ⁸ 10=30*10 ⁸
STREPTOCOCO MUTANS ATCC 25175						

Tabla 1.- Taxonomía y Características metabólicas del *Streptococcus Mutans*

TAXONOMÍA	
Dominio:	Bacteria
Filo:	Firmicutes
Clase:	Bacilli
Orden:	Lactobacillales
Familia:	Streptococcaceae
Género:	Streptococcus
CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS	
Requerimiento de O ₂ :	Anaerobio facultativo-catalasa negativo
Fuente de carbono:	Monosacáridos: glucosa, fructuosa, manosa, galactosa. Disacáridos: sacarosa, lactosa:sacarolítico.
Fuente de energía:	Fermentación de azúcares simples – homo o heteroláctica: acidogénico.
Concentración de H ⁺ :	Acidúrico-Acidófilo
Adhesinas:	Lectinas que ligan el glucano GBP, GTF, Ag ½.

Tabla 2.- Taxonomía y Valor Nutricional del CINNAMOMUM VERUM

TAXONOMÍA	
Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lurales
Familia:	Lauraceae
Género:	Cinnamomum
Especie:	Cinnamomum verum
Valor nutricional por cada 100 g	
Energía 247 kcal 1034 kJ	
¡Error! Marcador no definido.	80.59
• Azúcares	2.17 g
• Fibra alimentaria	53.1 g
Grasas	3.99 g
Proteínas	1.24 g
Agua	10.58 g
Retinol (vit. A)	15 µg (2%)
Tiamina (vit. B1)	0.022 mg (2%)
Riboflavina (vit. B2)	0.041 mg (3%)
Niacina (vit. B3)	1.332 mg (9%)
Vitamina B6	0.158 mg (12%)
Vitamina C	3.8 mg (6%)
Vitamina E	2.32 mg (15%)
Vitamina K	31.2 µg (30%)
Calcio	1002 mg (100%)
Hierro	8.32 mg (67%)
Magnesio	60 mg (16%)
Fósforo	64 mg (9%)
Potasio	431 mg (9%)
Sodio	10 mg (1%)
Zinc	1.83 mg (18%)
% de la cantidad diaria recomendada}	

Tabla 3.- Bacterias Gram

BACTERIAS GRAM POSITIVAS	BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
Poseen una pared celular interna y una pared de peptidoglucano. *Peptidoglucano: es un exoesqueleto que da consistencia y forma esencial para replicación y supervivencia de la bacteria.	Poseen una pared celular más compleja: -pared celular interna -pared de peptidoglucano - bicapa lipídica externa
No tiene membrana externa	Membrana externa: forma un saco rígido alrededor de la bacteria, mantiene estructura y es barrera impermeable a macromoléculas, ofrece protección en condiciones adversas
No tiene espacio periplasmático	Espacio periplasmático: espacio entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la interna de la membrana externa.
La red de mureína está muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas La penicilina mata a las gram positivas, ya que bloquea la formación de enlaces peptídicos entre las diferentes cadenas del peptidoglucano	La red de mureína presenta una sola capa La penicilina no mata a las Gram negativas, a causa de la capa de lipopolisacáridos situada en la parte externa de la pared celular.
No contiene LPS	Contiene LPS: estimulador de respuestas inmunes: activa células B, liberación de IL, FNT, IL 6 por macrófagos.
En la tinción de Gram, retienen la tinción azul	Quedan decoloradas.
Conservan el complejo yodocolorante	Pierden el complejo yodocolorante
Son esporulantes y no esporulantes, como Streptococcus, Cisteria, Frankia.	Pueden ser anaerobios o aerobios
Poseen otros componentes: ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos.	Poseen proteínas con concentraciones elevadas.

Tabla 4.- Tratamiento del aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM

Aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM		
N° TRATAMIENTO	VOLUMEN (UL)	□ (MG/ML)
T ₁	2.5ul	2.40225mg
T ₂	5.0ul	4.8045mg
T ₃	7.5ul	7.20675mg
T ₄	10.0ul	9.609mg
T ₅	12.5ul	12.01125mg
T ₆	15.0ul	14.4135mg
T ₇	17.5ul	16.81575mg
T ₈	20.0ul	19.218mg
T ₉	22.5ul	21.62025mg
T ₁₀	25.0ul	24.0225mg
T ₁₁	27.5ul	26.42475mg
T ₁₂	30ul	28.827mg

Tabla 5.- Volumen final del Tratamiento del aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM

Aceite esencial de CINNAMOMUM VERUM				
VOLUMEN INICIAL. SUSTANCIA				
N° TRATAMIENTO	V.SUSTANCIA MADRE	MADRE	VOLUMEN TOTAL	VOLUMEN FINAL.
T ₁	150 ul	7.20675 mg/ul	3 ml	2.40225 mg/ul
T ₂	152 ul	7.30284 mg/ul	3 ml	2.43428 mg/ul
T ₃	154 ul	7.39893 mg/ul	3 ml	2.46631 mg/ul
T ₄	156 ul	7.49502 mg/ul	3 ml	2.49834 mg/ul
T ₅	158 ul	7.59111 mg/ul	3 ml	2.53037 mg/ul
T ₆	160 ul	7.6872 mg/ul	3 ml	2.5624 mg/ul
T ₇	162 ul	7.78329 mg/ul	3 ml	2.59443 mg/ul
T ₈	164 ul	7.87938 mg/ul	3 ml	2.62646 mg/ul

Anexo 03.- Fotografías del trabajo de laboratorio

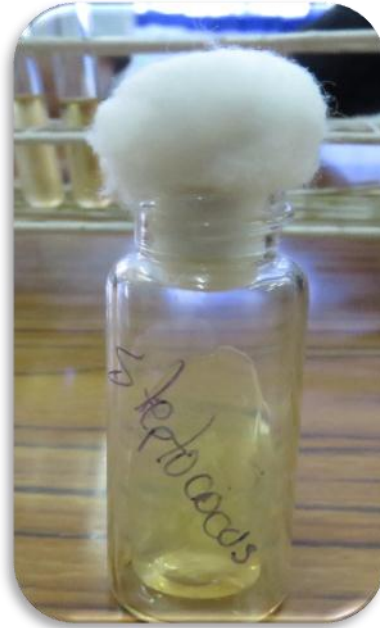
1. EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL POR ARRASTRE DE VAPOR

Fotografía 1



1. CEPA

Fotografía 2



Streptococco Mutans ATCC 25175

Streptococco Mutans ATCC 25175
VISTA – LENTE MICROSCOPICO

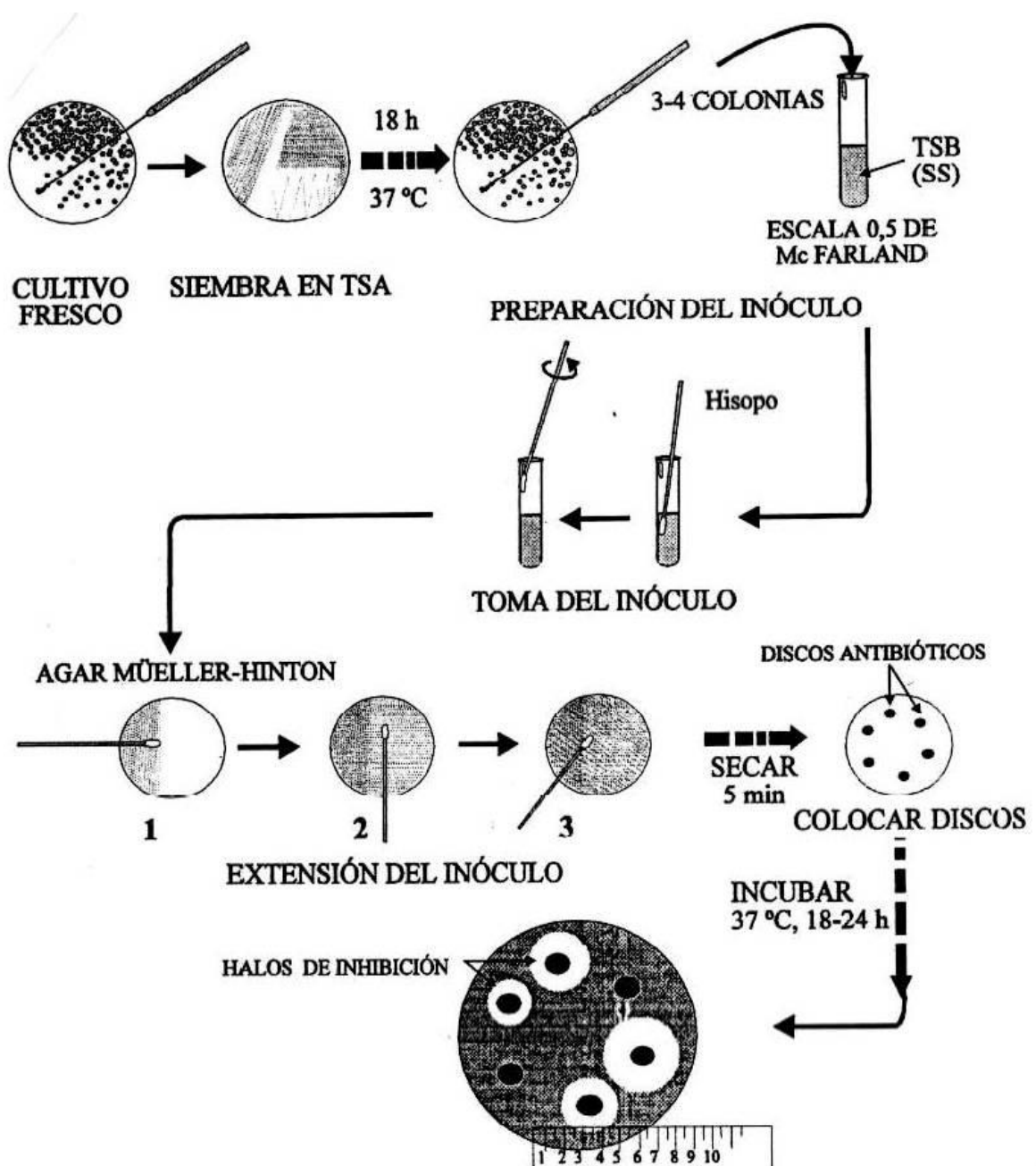
1. PREPARACION DE INÓCULO BACTERIANO DE STREPTOCOCCO

MUTANS

Fotografía 3

Agar Nutritivo Müller-Hinton

Método Kirby-Bauer



Fotografía 4

ESCALA DE MAC FARLAND

TUBO	Cl ₂ Ba 1%	SO ₄ H ₂ 1%	u.f.c/ml
1	0,1	9,9	3,0x10 ⁸
2	0,2	9,8	6,0x10 ⁸
3	0,3	9,7	9,0x10 ⁸
4	0,4	9,6	1,2x10 ⁹
5	0,5	9,5	1,5x10 ⁹
6	0,6	9,4	1,8x10 ⁹
7	0,7	9,3	2,1x10 ⁹
8	0,8	9,2	2,4x10 ⁹
9	0,9	9,1	2,7x10 ⁹
10	1,0	9,0	3,0x10 ⁹

2 REPARACION DE DISCOS

Fotografía 5



SECUENCIA: Vaso precipitado de 100 ml con agua destilada aprox. 80 ml llevado a autoclave a una presión de 20 BAR (121°C) por 15 minutos. Se realizó una segunda repetición para descartar cualquier resto antibiótico. Luego se coloca al secado a 170°C por 1 hora.



Fotografía 6



AUTOCLAVE



Fotografía 7



DISCOS DESNATURALIZADOS



Fotografía 8



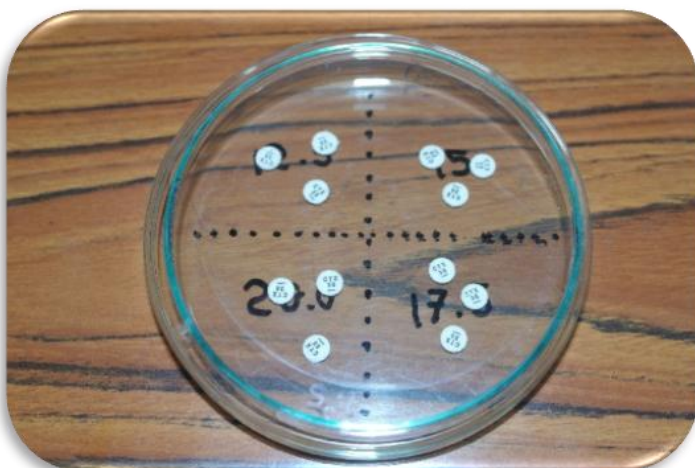
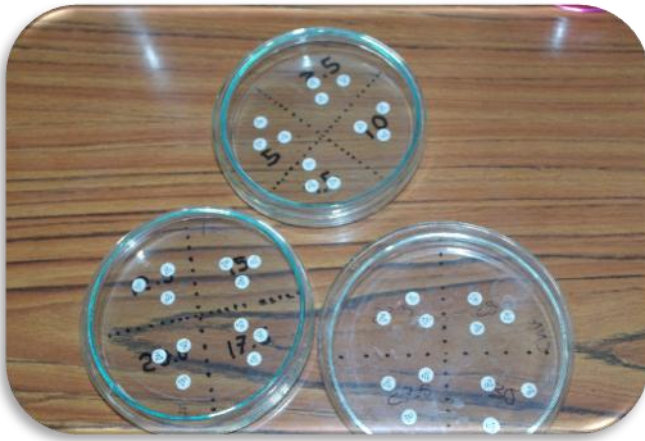
Secado a 170°C por 1 hora – HORNO



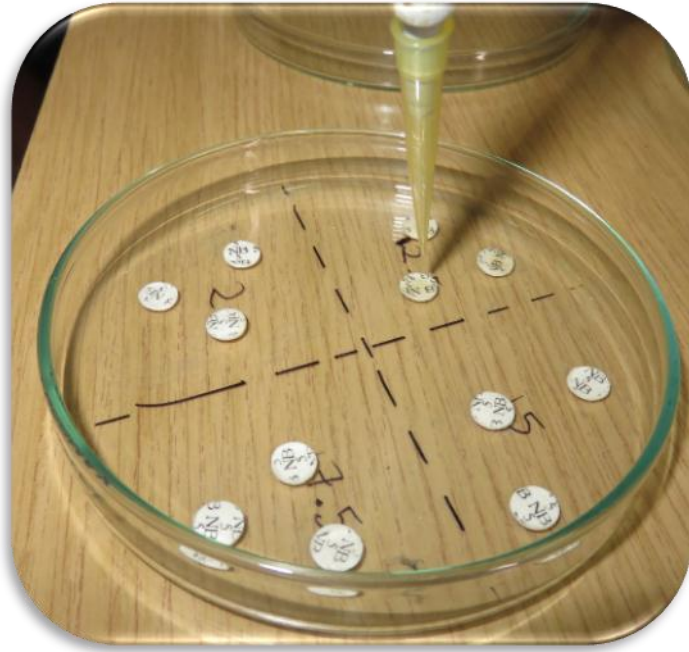
PRUEBA DE SUCEPTIBILIDAD

Fotografía 9

DISCOS DE SENSIBILIDAD EN PLACAS PREVIAMENTE ESTERILIZADAS

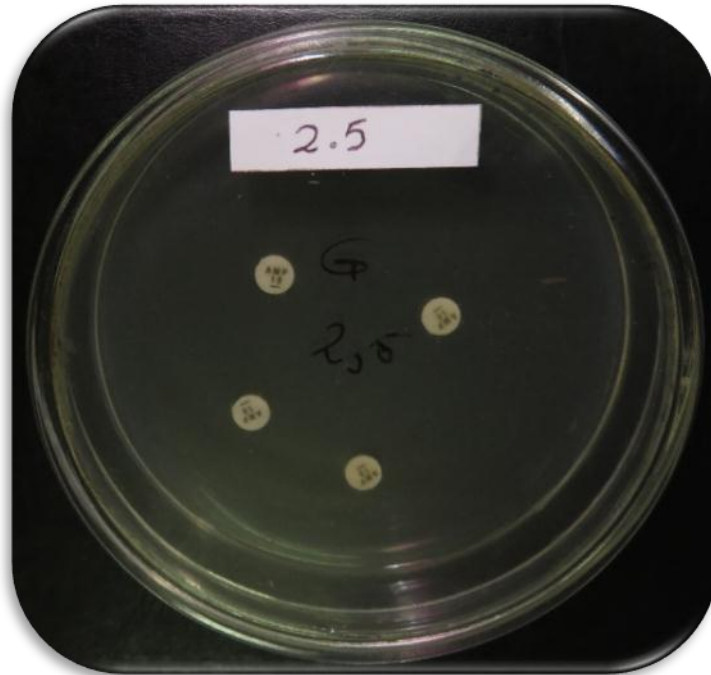


Fotografía 10



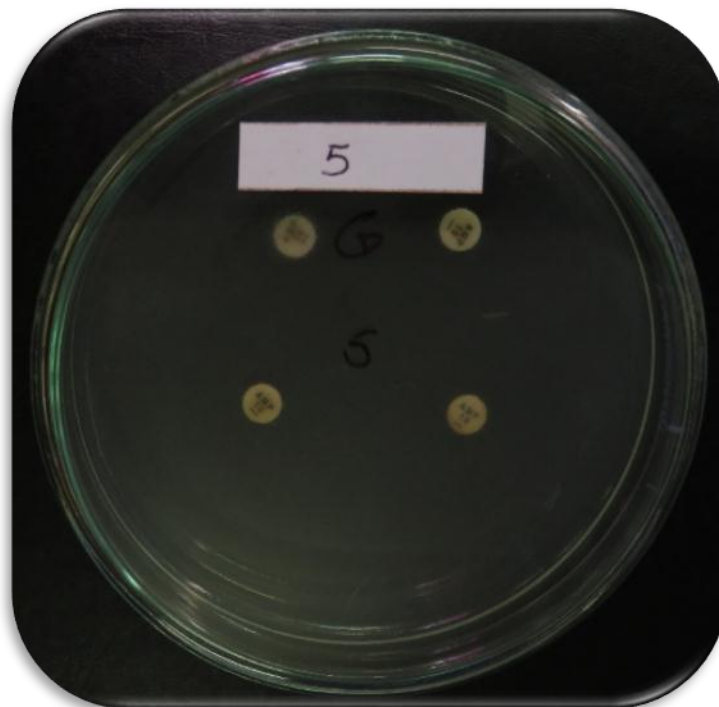
SE EMPAPAN LOS DISCOS CON EL ACEITE ESENCIAL, CADA UNO CON DIFERENTE CONCENTRACION

Fotografía 11



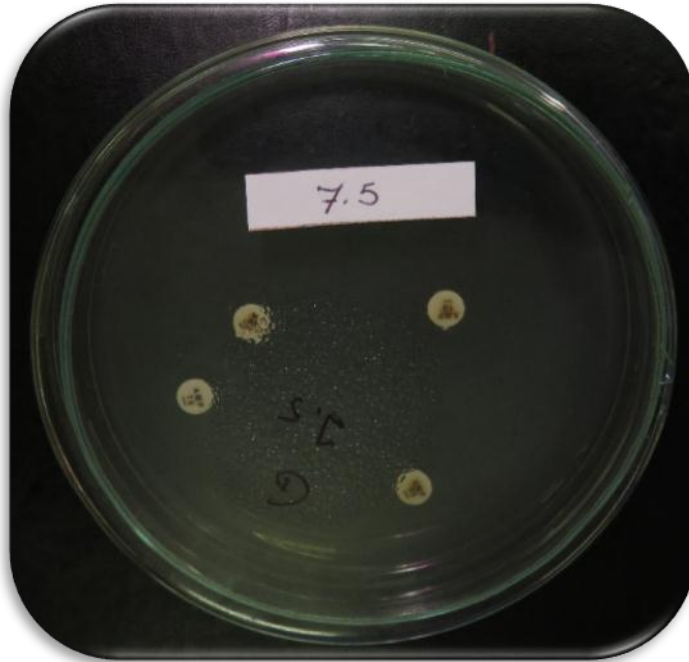
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 12



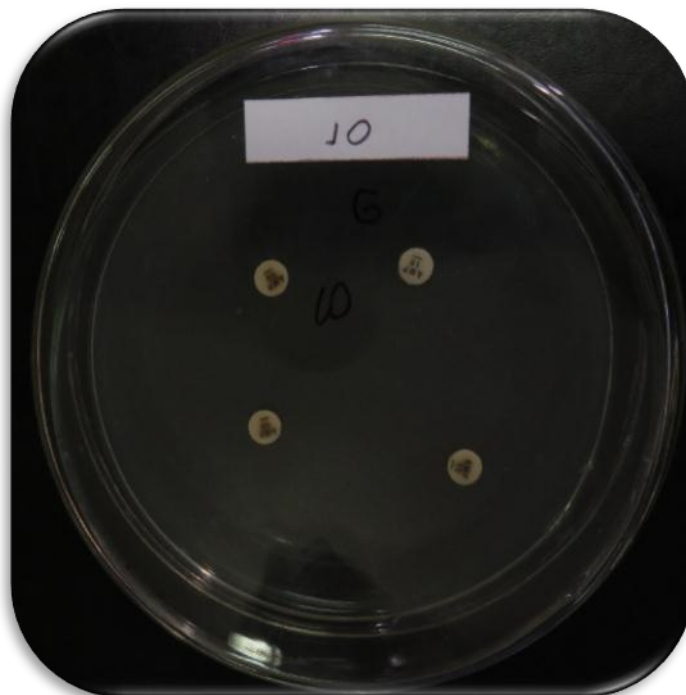
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 13



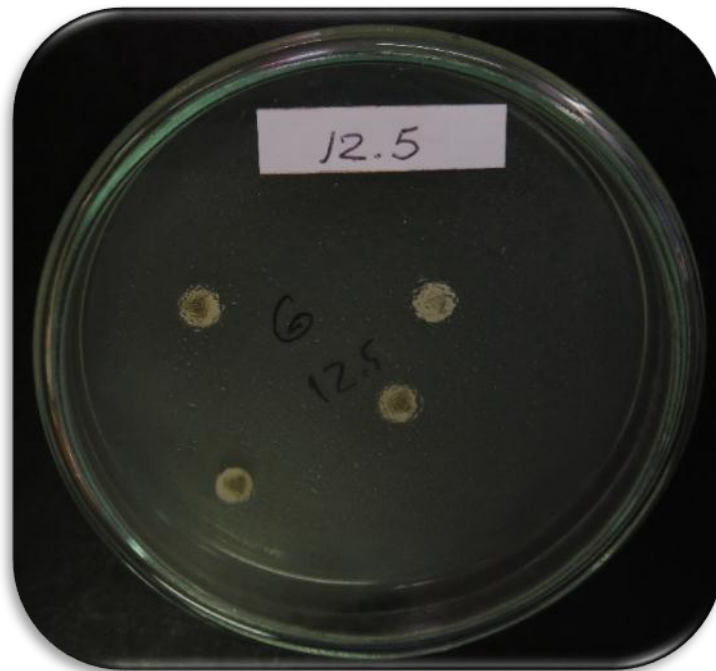
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 14



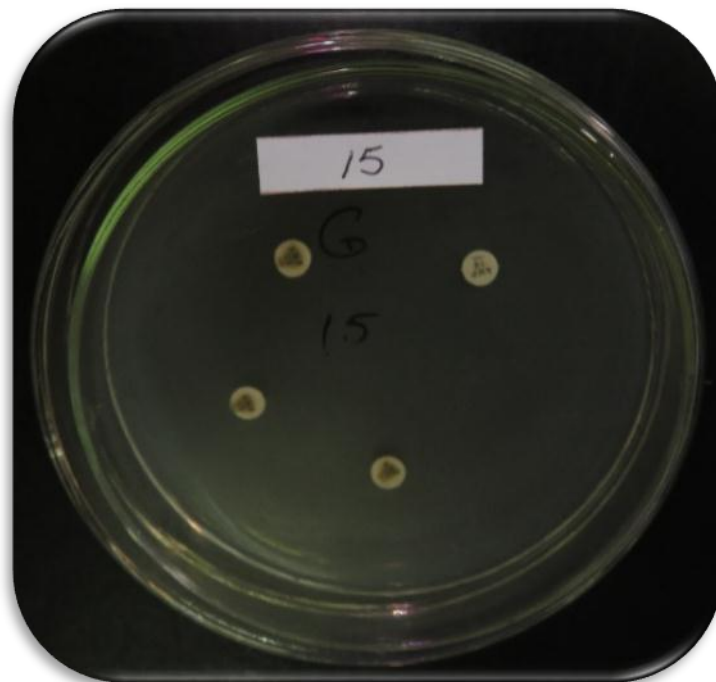
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 15



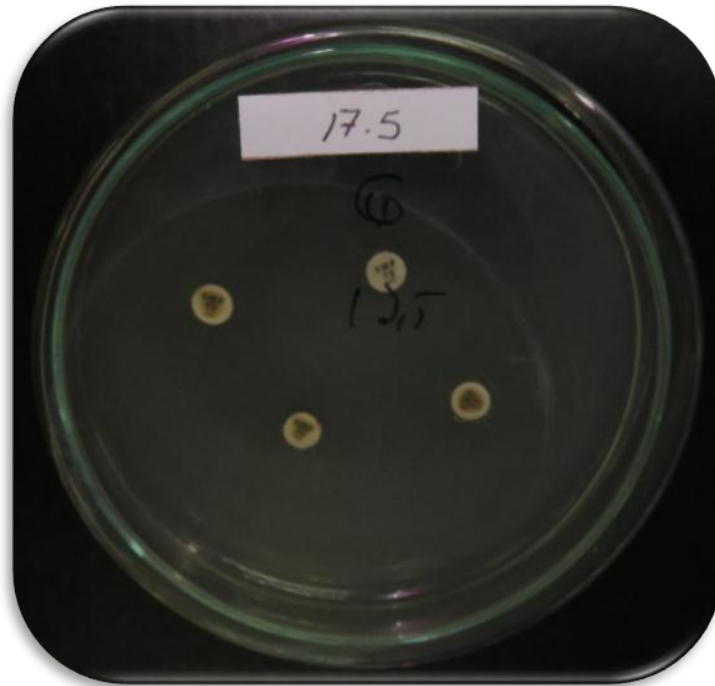
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 16



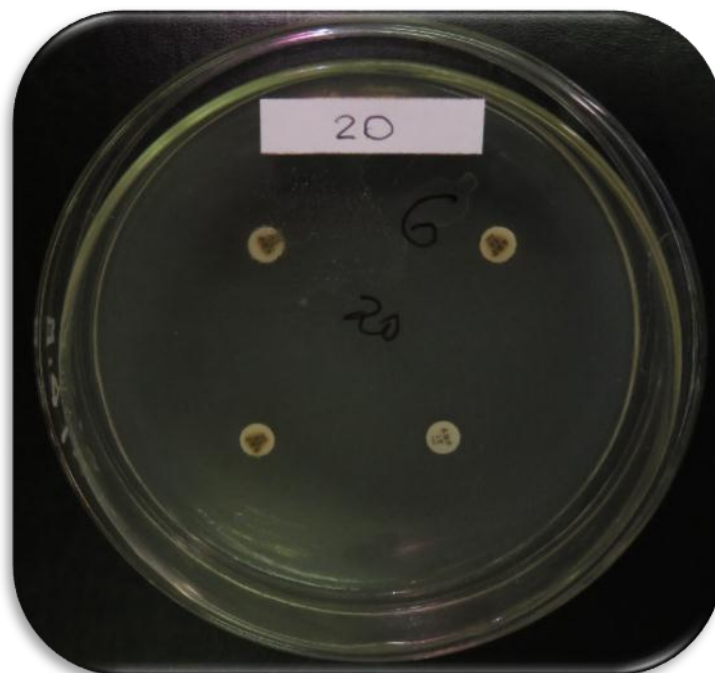
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 17



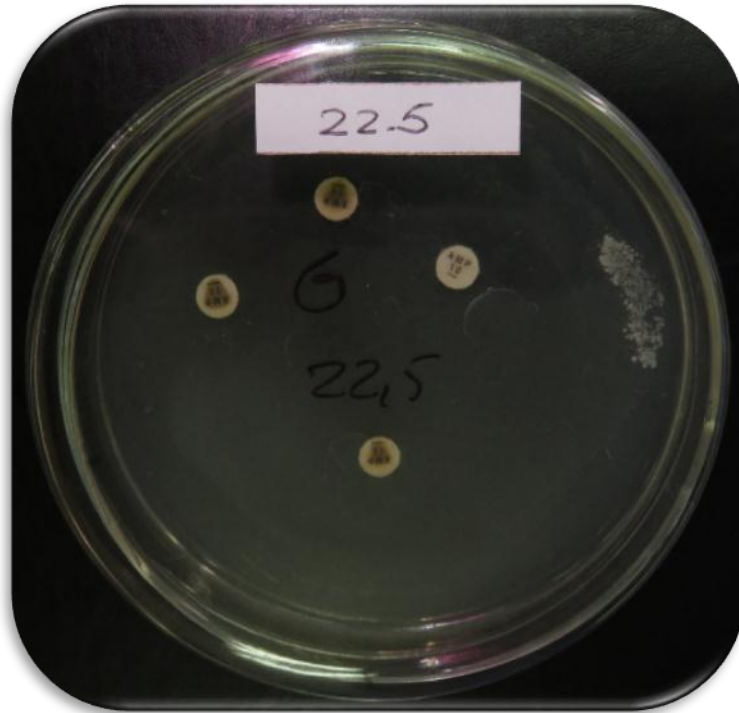
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 18



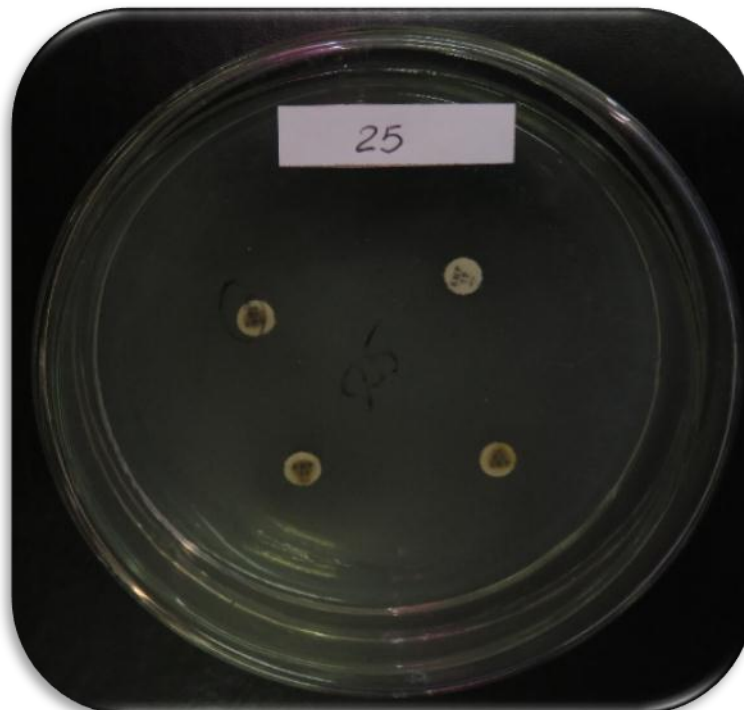
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 19



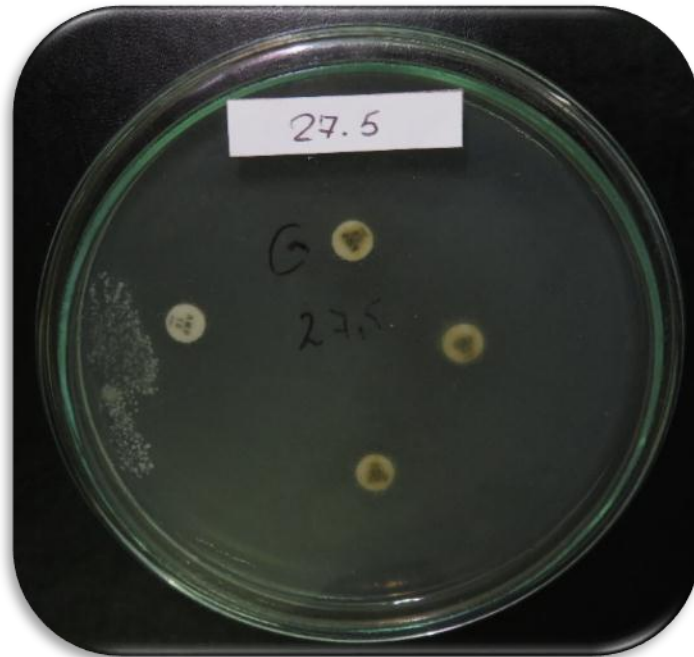
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 20



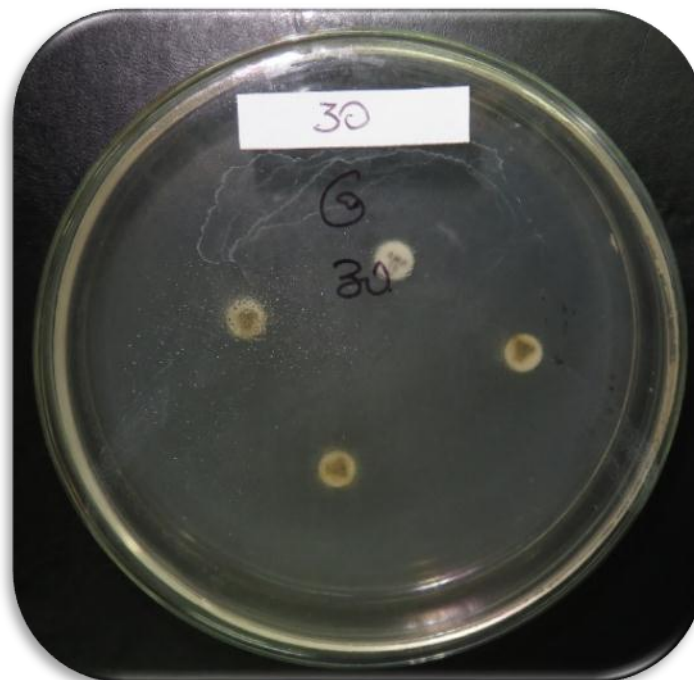
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 21



HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

Fotografía 22



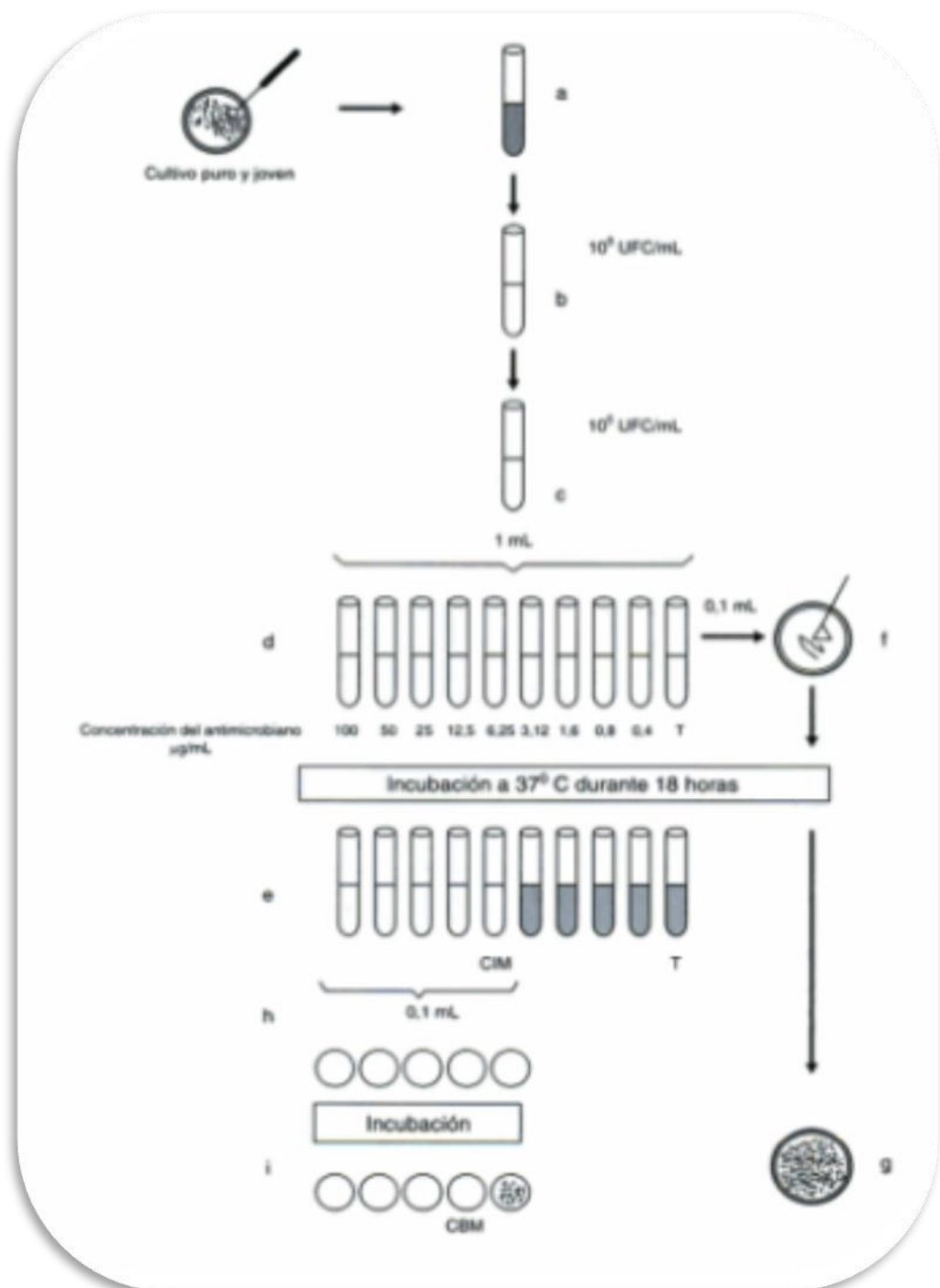
HALO DE INHIBICION MAYOR A CAMPO OBSERVADO

5. CONCENTRACIÓN

Fotografía 23

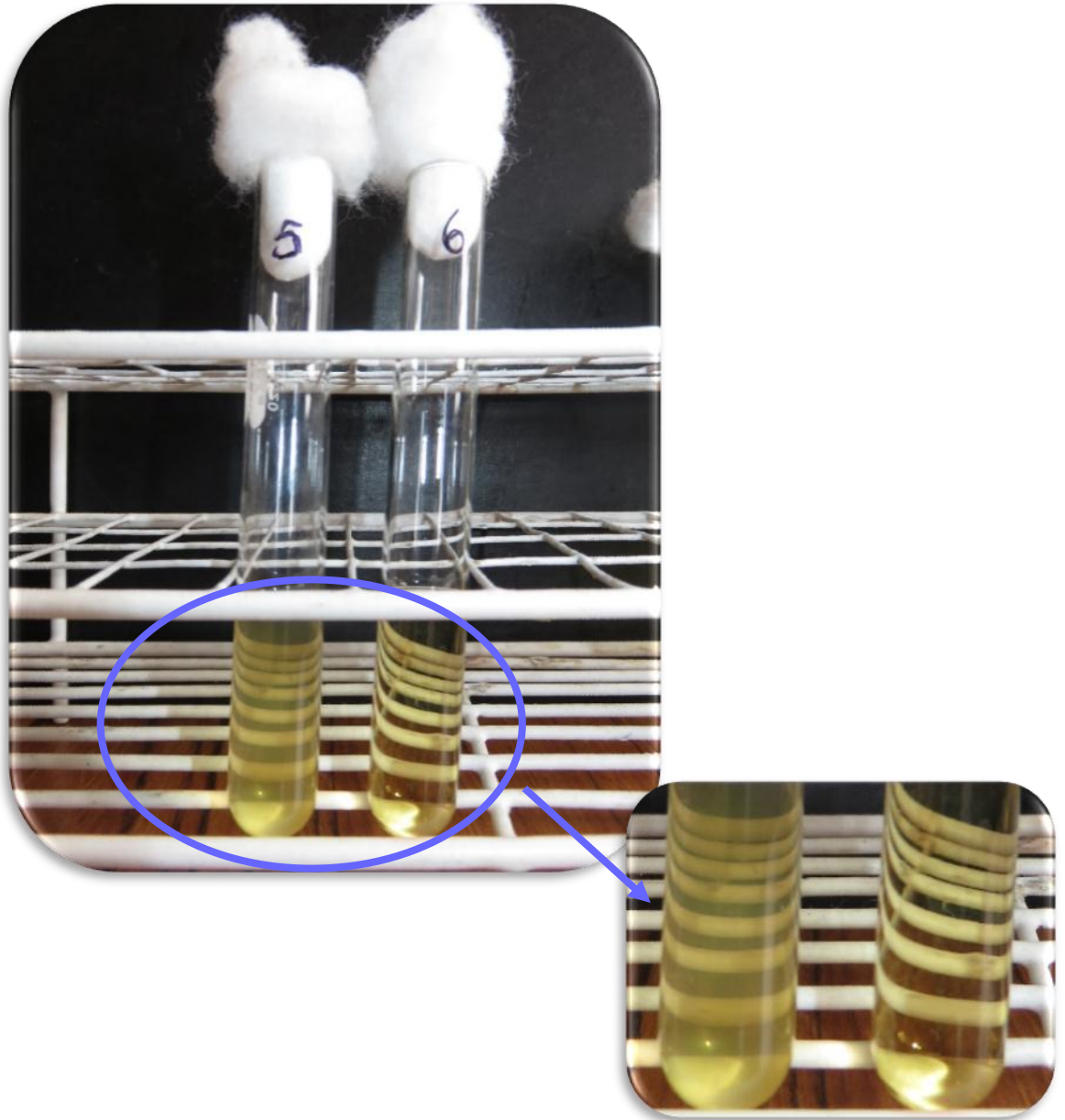
CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA-

CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA



Fotografía 24

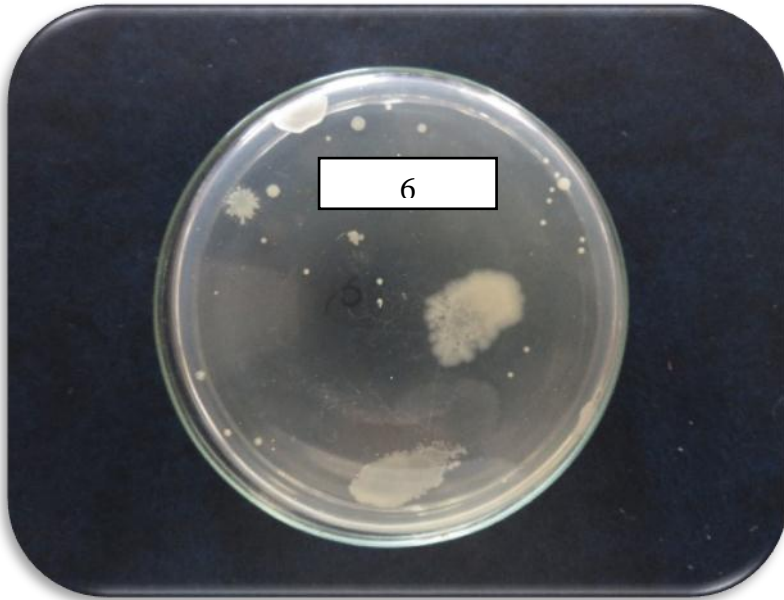
CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA



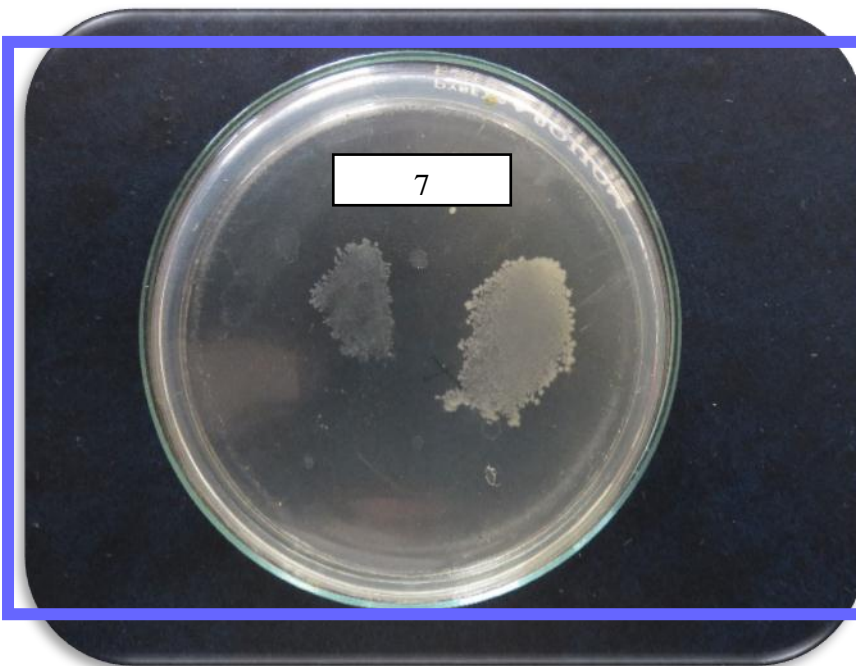
TUBO 6: CON UNA CONCENTRACIÓN DE 7.6872 MG/UL DE CINNAMOMUM
VERUM; SEGÚN LA ESCALA DE MC FARLAND,

Fotografía 25

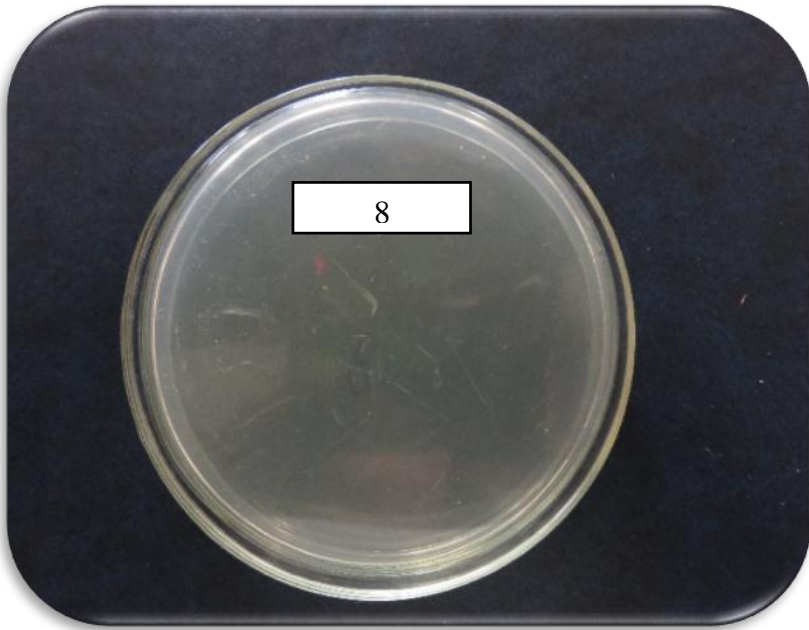
CONCENTRACION MINIMA BACTERICIDA



TUBO 6 :
PRESENCIA DE CUERPOS
PATÓGENOS, MUERTE EN UN 75
%



PLACA 7: CON UNA
CONCENTRACION DE ACEITE
ESENCIAL DE 7.78329 mg/ul .
Presenta el 0.1% de destrucción
del agente bacteriano.



TUBO 8 :
AUSENCIA DE COLONIAS
PATÓGENAS MUERTE EN 100%