



TESIS

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA
IN VITRO ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS
MOLLIS Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE
PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS Y PREVOTELLA
MELANINOGENICA”**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

Bach. Johnston Brean Sánchez Cueto

LIMA – PERU

2016

DEDICATORIA

A Dios, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi querido padre Justo, que ya no se encuentra conmigo en persona pero lo tengo en espíritu y sé que en todo momento me estará acompañando y lo tengo presente.

A mí querida madre Yolanda, quien con todo su esfuerzo y sacrificio me estuvo apoyando en todo momento, por los buenos valores que me ha inculcado y sobre todo por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida.

A mí querida familia: K'rentt, Jennifer, Smith, Walter, Grey, Julio, Fis y Dor por ser parte importante en mi vida, por llenar mi vida de alegrías y amor cuando más lo he necesitado.

AGRADECIMIENTO

A mi Director-Asesor Dr. CD. Eloy Gamboa Alvarado docente del área de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas por sus conocimientos, orientación y su apoyo para poder llevar a cabo el presente trabajo de investigación.

A la Dra. QF. Rosario Villacrez Torrejón, docente del área de Bioquímica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, por su apoyo incondicional, asesoramiento y orientación.

Al Dr. Máximo Ramírez Julca, docente del área de Formación Profesional Científica y Tecnológica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, por su gran aporte y realización del presente trabajo.

"La vida no es la que uno vivió, sino la que uno recuerda, y cómo la recuerda para contarla."

G.G.M.

RESUMEN

Es de conocimiento ancestral el uso de plantas medicinales en el tratamiento y/o cura de diversas enfermedades y que debe ser contrastado científicamente con parte del presente trabajo de investigación “*Estudio comparativo de la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de Minthostachys mollis y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre Peptostreptococcus anaerobius y Prevotella melaninogenica*” siendo prioridad adquirir el aceite esencial de Minthostachys mollis a través de la empresa INKA COMEX S.A.C. y Gluconato de clorhexidina al 0.12% posteriormente se logró la adquisición de Peptostreptococcus anaerobius (ATCC 27337) y Prevotella melaninogenica (ATCC 25845) por intermedio del laboratorio GenLab del Perú S.A.C.

Se procedió a realizar la reactivación de cada una de las cepas que luego fueron sembrados en placas petri que contenían el medio de cultivo Agar Schaedler, los discos fueron previamente embebidos con 10 ul de Aceite esencial de Minthostachys mollis al 100% y Gluconato de clorhexidina al 0.12% siguiendo el método de Kirby-Bauer y luego se procedió a colocarlo en medio de anaerobiosis por un tiempo de 168 horas.

Transcurriendo el tiempo establecido se procedió a la observación e interpretación de los resultados con la medición de los halos de inhibición. Para realizar el análisis se utilizó la prueba de Varianza, mediante el cual se pudo concluir que la efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% es mayor que el aceite esencial de Minthostachys mollis.

Palabras clave: Efectividad antibacteriana, Aceite esencial de Minthostachys mollis, Gluconato de clorhexidina, Peptostreptococcus anaerobius y Prevotella melaninogenica.

SUMMARY

Ancestral knowledge is the use of medicinal plants in the treatment and / or cure various diseases and must be proven scientifically with that part of the present research "*Comparative study of the in vitro antibacterial effectiveness between Minthostachys mollis essential oil and chlorhexidine gluconate 0.12% on Peptostreptococcus anaerobius and Prevotella melaninogenica*" priority being to acquire the essential oil of *Minthostachys mollis* through the company INKA COMEX S.A.C. and Chlorhexidine Gluconate 0.12% subsequently the acquisition of *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) and *Prevotella melaninogenica* (ATCC 25845) was achieved through the laboratory GENLAB of Peru S.A.C.

Then to perform reactivation of each of the strains which they were then grown in petri dishes containing Schaedler Agar culture medium, they were pre-soaked disks with 10 ul of essential oil 100% *Minthostachys mollis* and chlorhexidine gluconate 0.12% following the Kirby-Bauer method and then proceeded to place it in the middle of anaerobiosis for a time of 168 hour.

Lapsing the time set proceeded to the observation and interpretation of the results with the measurement of the inhibition halos. To perform the analysis the Varianza test was used through which it can be concluded that the antibacterial effectiveness of the chlorhexidine gluconate 0.12% it is greater than the essential oil of *Minthostachys mollis*.

Keywords: antibacterial effectiveness, *Minthostachys mollis* essential oil, chlorhexidine gluconate, *Peptostreptococcus anaerobius* and *Prevotella melaninogenica*.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
EPÍGRAFE.....	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	vi
INDICE.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii

CAPITULO I

	Introducción.....	14
1.2	Formulación del Problema.....	15
	Problema Principal.....	15
	Problema Secundario.....	15
1.3	Hipótesis de Investigación.....	15
	Hipótesis General.....	15
	Hipótesis secundaria.....	15
1.4	Objetivo del Problema.....	16
	Objetivo Principal.....	16
	Objetivo Especifico.....	16
1.5	Justificación.....	16

CAPITULO II

	Marco Teórico.....	17
2.1	Antecedentes de la Investigación.....	17
2.2	Base Teórica.....	20
2.2.1	Microbiología.....	20
2.2.2	Ecología de la cavidad bucal.....	21
	Factores de la cavidad bucal que afectan el desarrollo de los microorganismos.....	22
2.2.3	Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal... Bacterias Gram negativas.....	23
	Bacterias Gram Positivas.....	25
2.2.4	Peptostreptococcus anaerobius.....	28

	Morfología.....	28
	Peptostreptococcus y la enfermedad.....	28
	Tratamiento Antimicrobiano.....	28
2.2.5	Prevotella melaminogenica.....	28
	Morfología.....	29
	Prevotella y la enfermedad.....	29
	Tratamiento Antimicrobiano.....	29
2.2.6	Minthostachys mollis.....	30
	Tipos de minthostachys.....	31
	Propiedades de minthostachys.....	31
	Importancia de los aceites esenciales.....	34
2.2.7	Gluconato de clorhexidina.....	35
	Mecanismo de acción.....	35
	Uso clínico de la clorhexidina en Estomatología.....	36
	Concentraciones del gluconato de clorhexidina.....	37
	Toxicidad y efecto del gluconato de clorhexidina.....	37
2.2.8	Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana.....	38
CAPITULO III		
3.1	Diseño Metodológico.....	42
	Tipo y nivel de investigación.....	42
3.2	Población y muestra.....	42
3.3	Variables.....	43
3.4	Técnica de recolección de datos.....	43
3.4.1	Reactivación de las cepas bacterianas.....	43
3.4.2	Preparación del medio de cultivo.....	44
3.4.3	Prueba de Sensibilidad	44
3.4.4	Materiales y equipos.....	45
3.5	Plan de análisis de datos.....	47
3.6	Implicancia Ética.....	47
	Resultados.....	48
	Discusión.....	56

Conclusión.....	58
Recomendaciones.....	59
Referencias Bibliográficas.....	60
Anexos.....	65
Glosario.....	83

LISTA DE TABLAS

TABLA Nº 1 Genero gram negativo.....	23
TABLA Nº 2 Clase Bacilli.....	26
TABLA Nº 3 Clase Clostridia.....	26
TABLA Nº 4 Phylum Actinobacteria	26
TABLA Nº 5 Phylum Fusobacteria.....	27
TABLA Nº 6 Phylum Deinococcus thermus.....	27
TABLA Nº 7 Phylum acidobacteria.....	27
TABLA Nº 8 Phylum Chloroflexi.....	27
TABLA Nº 9 Posología de Antibióticos.....	30
TABLA Nº 10 Composición Físico Química del aceite esencial de Muña Griseb.....	33
TABLA Nº 11 Composición Química del aceite esencial de muña Griseb.....	33
TABLA Nº 12 Composición nutritiva de muña.....	34
TABLA Nº 13 Operacionalizacion de variables.....	47

LISTA DE GRAFICOS

GRAFICO N°1	Comparación de medidas de los halos de inhibición de la <i>Prevotella melaninogenica</i> frente al aceite esencial de <i>Mintostachys mollis</i> y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.....	49
GRAFICO N°2	Comparación de medidas de los halos de inhibición de la <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> frente al aceite esencial de <i>Mintostachys mollis</i> y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.....	51
GRAFICO N°3	Comparación de medidas de los halos de inhibición de la <i>Prevotella melaminogenica</i> y <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> frente al aceite esencial de <i>Mintostachys mollis</i> y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.....	53
GRAFICO N°4	Comparación de la media de los halos de inhibición de la <i>Prevotella melaminogenica</i> y <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> frente al aceite esencial de <i>Mintostachys mollis</i> y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.....	55

LISTA DE FIGURAS

FIGURA N°1	Clasificación taxonómica.....	32
-------------------	-------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- UI : microlitro
- ATP : adenosina trifosfato
- Cmi : concentración mínima inhibitoria
- Cmb : concentración mínima bactericida
- Mv : milivoltio

INTRODUCCIÓN

Existe una gran variedad de bacterias que se encuentran presentes en diversos ambientes como locales y geográficos de acuerdo a las condiciones que estas requieran para poder sobrevivir. Teniendo en cuenta que existe una clasificación de ellos, se va trabajar solamente con bacterias anaerobios.

Las bacterias anaerobios son aquellos que no necesitan oxígeno para poder realizar su metabolismo sino que lo hacen por medio de la fermentación.

En la presente investigación se utilizo cepas de *Peptostreptococcus anaerobius*, reconocido como un coco anaerobio obligado gram positivo y la *Prevotella melaninogenica* reconocido como anaerobio estricto, bacilo gram negativo que se aísla en diversas infecciones de la cavidad bucal.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene muy buenas aplicaciones y propiedades en cuanto al uso y manejo odontológico como combatir la halitosis, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, su uso en problemas digestivos (vómitos, diarrea), es expectorante, antiespasmódico y como condimento en comida.

El Gluconato de clorhexidina al 0.12% es un colutorio bucal que suele ser utilizado en pacientes con periodontitis, después de realizar un serie de tratamiento en el paciente para favorecer la recuperación de la salud bucal.

El propósito del trabajo de investigación es poder determinar cuál de los dos agentes tiene una mejor efectividad antibacteriana in vitro usando las cepas de *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

El resultado que se obtendrá del presente trabajo de investigación será de gran importancia, porque nos podrá decir cuál de los dos agentes siendo el natural o químico tiene un mejor efecto antibacteriano.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

PROBLEMA PRINCIPAL

¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*?

PROBLEMAS SECUNDARIOS

1. ¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*?
2. ¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro del Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*?

1.3 HIPOTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

HIPÓTESIS GENERAL

Existe diferencia significativa en la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *minthostachys mollis* y el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

HIPÓTESIS SECUNDARIA

H₁: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene una mayor efectividad antibacteriana in vitro en comparación al Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

H₂: El Gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene una mayor efectividad antibacteriana in vitro en comparación al aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

1.4. OBJETIVOS DEL PROBLEMA

OBJETIVO GENERAL

Comparar la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *minthostachys mollis* y el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *peptostreptococcus anaerobius* y *prevotella melaninogenica*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* sobre *peptostreptococcus anaerobius* y *prevotella melaninogenica*.
2. Determinar la efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *peptostreptococcus anaerobius* y *prevotella melaninogenica*.

1.5 JUSTIFICACIÓN

Las infecciones es un padecimiento que tiene una alta prevalencia en la población peruana. En el presente trabajo de investigación pretendemos realizar el uso del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* “muña”; para demostrar que tan efectivo puede ser al utilizar como agente natural.

La presente investigación se justifica ampliamente al tratar de demostrar que no solo los agentes químicos producidos por un laboratorio como es el caso del gluconato de clorhexidina al 0.12% pueda cumplir una acción terapéutica eficaz, en comparación al aceite esencial de *minthostachys mollis* como agente natural sobre cepas de *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*. Los efectos logrados corroborarían la existencia en plantas naturales que gozan de propiedades antibacterianas y antifúngicas usadas en la estomatología y a su vez incentivarían la investigación de plantas autóctonas medicinales y su utilización en el campo de la odontología dado que su costo industrial no sería tan costoso.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

La presente investigación nos encamino a realizar una revisión bibliográfica sobre estudio del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el Gluconato de clorhexidina en importantes investigaciones. Desde el año de 1983 hasta la actualidad, cuyos resúmenes se presentan a continuación:

HUARI (2014). En su investigación acerca del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. Demostró que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100%, presento un mayor efecto antibacteriano en *Streptococcus mutans* con un halo promedio de 10.79mm, comparando con las diluciones al 50% y 25%. A su vez que la escala de Duraffound, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% presento actividad sensible (+) en *Streptococcus mutans*¹

GONZALES y Col. (2013). Demostraron la actividad antibacteriana de *Minthostachys mollis* frente a bacterias enteropatógenas, sin embargo frente a microorganismos de interés estomatológico, son escasos. Por lo que, establecieron la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB), para demostrar el efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. Para el análisis estadístico emplearon la prueba ANOVA y la de KRUSKALL-WALLIS. Concluyendo en que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Streptococcus mutans*, siendo la CMI de 0.31 µl/ml y la CMB, de 0.62 µl/mL a 0.75 µl/ml.

AZAÑA (2010). En su investigación acerca de la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico donde demostró que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* que presenta una efectividad antibacteriana, cualitativamente, mayor en comparación a las diluciones del 50% y 25% frente a las cepas *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaminogenica*, *Enterococcus faecalis* y muestras de conducto radicular.³

MALPARTIDA (2009). En su estudio acerca del efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y Gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* en un estudio in vitro. Concluyó que el efecto inhibitor del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) es menor que el paramonoclorofenol alcanforado y Gluconato de clorhexidina al 2% en el cultivo bacteriano de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 72 horas.⁴

MORA y Col. (2009) En enero del 2008, exploraron y analizaron los compuestos químicos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (kunth) Griseb var Vaught, procedentes de la localidad de Tuñame, estado de Trujillo, Venezuela a través de un análisis de cromatografía de masas. La hidrodestilación fue el medio que por comparación identificó a trece componentes procedentes del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* destacándose, el Pulegona (55.2%) y transmentona (31.5%). Además este aceite esencial demostró poseer un efecto inhibitor significativo contra bacterias Gram (+) y Gram (-), especialmente con *Bacillus subtilis* y *Salmonella typhi* (4ug/ml).⁵

CANO y Col. (2008). Ejecutaron un estudio sobre la actividad antimicótica del aceite esencial de muña, mediante el método de difusión en agar por pozos. Midió la inhibición del crecimiento fúngico de *Candida albicans* ATCC 32148, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes* destacando la acción de los monoterpenos encontrados: Pulegona, mentona y limoneno.⁶

CHICA y Col. (2006). Realizaron un estudio acerca de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* utilizando diferentes concentraciones (3.5 a 100 ug/ ml. y puro), frente a un grupo de bacterias patógenas propias de la papa (*Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata*). Utilizaron como grupo control, la oxitetraciclina y acrobat®. Señalaron la sensibilidad de todas las bacterias frente al aceite esencial *Minthostachys mollis*, hallando una relación directamente proporcional entre la concentración y tamaño de la inhibición. Además determinaron la composición química del aceite esencial *Minthostachys mollis* mediante cromatografía de gases demostrando la presencia de carvacril acetato, carvacrol, Pulegona y mentona.⁷

DIAZ (2005). En su investigación determino la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, mediante la técnica de arrastre de vapor agua. Utilizó amoxicilina de 30gr. como grupo positivo y agua destilada como grupo negativo frente a las cepas *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Actinomyces sp* y *Fusobacterium nucleatum*. Demuestra que el *Fusobacterium nucleatum* presento el mayor diámetro de inhibición (media=20.13mm) y el menor fue para el *Actinomyces sp*. (media= 11.00 mm). Concluye indicando que el aceite esencial de *minthostachys mollis* tiene una acción antibacteriana frente a las cinco especies de bacterias que se estudiaron.⁸

PALACIOS y Col (2004). Organizaron una evaluación sobre la capacidad bacteriana in vitro de los preparados a base de *Minthostachys mollis* y agua destilada. Lo realizaron a varias concentraciones (2, 4,6 y 8 gr.) frente al *Streptococcus*, obteniendo escasa efectividad antibacteriana.⁹

FERREIRA y Col. (2002). Determinaron la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio al 10%, paramonoclorofenol alcanforado, digluconato de clorhexidina al 2% y detergente de aceite de ricino al 10% mediante pruebas de dilución en caldo frente a las bacterias anaerobias estrictas: *Prevotella nigrescens* ATCC33563, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Clostridium perfringens* ATCC 13124 y *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 en el cual se obtuvo la CMI y CMB. Demostrando que el digluconato de clorhexidina es el más eficaz con la CMI más baja, seguido por el detergente de aceite de ricino, el Paramonoclorofenol alcanforado y por último el hidróxido de calcio. Las bacterias *Clostridium perfringens* y *Bacteroides fragilis* fueron los más resistentes a todas las sustancias utilizadas.¹⁰

FUERTES y MUNGUÍA (2001). En un estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" de las tres regiones peruanas. Obtuvieron sus componentes principales, de acuerdo al lugar de procedencia de cada una de ellos, donde demostraron que: el aceite esencial proveniente de Tarma presento como composición: 1-tetradeceno, 2s-trans-mentona, Destacaron a la Pulegona como componente principal y un porcentaje importante de timol.¹¹

INGA y GUERRA (2000). Demostraron las propiedades bactericidas/bacteriostáticas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *B. cereus* MC, *Salmonella typhi*, *S. sonnei* MC, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 10031. A su vez la acción fungistático/fungicida para *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus niger*.¹²

POBLETE (1998). Demuestra que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" tiene efecto contra *Phytophthora infestans*, *Fusarium solanaceum* y *Erwinea carotovora* que son patógenos de la papa.¹³

ELDRIGE y Col. (1998). Explicaron en su estudio que el enjuagatorio de clorhexidina al 0.12% sin presentar contenido de alcohol y usando por un tiempo de 21 días demuestra una efectividad antimicrobiana eficaz en la disminución del *Streptococcus mutans*, a su vez otorga menos efectos adversos que el enjuagatorio de clorhexidina con contenido alcohólico.¹⁴

SALMON (1994). De su investigación sobre los análisis en aspectos fotoquímicos, toxicológicos, antimicrobianos y bromatológicos de muña *Minthostachys mollis*. Informo que no logró halos de inhibición a ninguna concentración y en ninguna cepa. (*Candida albicans* ATCC10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) Por lo que no logró determinar una actividad antimicrobiana.¹⁵

CONTRERAS (1983). En su estudio acerca de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), demostrando cualitativamente su efecto antimicrobiano frente a las bacterias *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, logrando demostrar que la *Shigella dysenteriae* es la más sensible al aceite esencial de Muña.¹⁶

2.1.BASES TEÓRICAS

2.2.1 MICROBIOLOGIA

La microbiología es la rama de la biología que se encarga del estudio de los microorganismos o microbios. Bajo esta denominación se incluyen seres de tamaño microscópico y organización muy simple, de estructura subcelular, unicelular o pluricelular, aunque en este último caso no forman tejidos diferenciados. La microbiología incluirá en sus estudios:

- a) Microorganismos celulares como las bacterias (bacteriología), algas y hongos microscópicos (ficología y micología respectivamente).
- b) Microorganismos sub o acelulares como virus (virologia)
- c) Partículas subvirasicas como los viroides (patógenos para plantas) y los priones.

La parte de la microbiología que tiene un carácter general se ocupa del análisis de la morfología, estructura, fisiología, genética, sensibilidad in vitro a diversos agentes, hábitat de los microorganismos, etc. Mientras que la que tiene un carácter sistemático lo hace del estudio pormenorizado de los distintos grupos o taxones en los que se reúnen los microbios.

La microbiología oral, es parte de la microbiología médica y clínica, tendrá tanto en los aspectos generales como sistémicos, se enfoca en el estudio de los microorganismos propios de la cavidad bucal y la respuesta de esta frente a dichos agentes (microbiología general y sistemática y aquella inmunología microbiana oral). Igualmente, su estudio se extenderá a las relaciones que los microbios se establecen entre sí y con los tejidos de la boca (ecología oral) y al papel que desempeñan en las enfermedades infecciosas, tanto en las que tienen un carácter localizado en dicha cavidad como también extendiendose a otros puntos del organismo.¹⁷

2.2.2 ECOLOGIA DE LA CAVIDAD BUCAL

La ecología comprende el estudio de las relaciones que existen entre los microorganismos y el ambiente. La cavidad bucal se considera como un ambiente, sus propiedades influyen en la composición y la actividad de los microorganismos que en él se encuentran.

El sitio donde los microorganismos crecen es el hábitat. Los microorganismos que permanecen y se desarrollan en un hábitat particularmente constituyen una comunidad microbiana formada por especies individuales. La comunidad en su hábitat específico, junto con los elementos abióticos, con los cuales los microorganismos están asociados, constituye un ecosistema.

El nicho ecológico se describe como la función de los microorganismos en un hábitat particular y marca su papel en la comunidad. Este papel está dado por las propiedades biológicas de cada población microbiana.

Las distintas interacciones ecológicas que se producen en la cavidad bucal son las que determinan las características cualitativas y cuantitativas de la totalidad de su microbiota, en los distintos nichos ecológicos y en las distintas situaciones de salud y enfermedad.

Los microorganismos que componen la microbiota bucal coexisten en ecosistemas que están regulados por una serie de factores conocidos como determinantes ecológicos internos y externos.¹⁸

Factores de la cavidad bucal que afectan el desarrollo de los microorganismos.

Son diversos los factores que regula la composición, el desarrollo, la cantidad, la coexistencia y la distribución de la microbiota oral entre ellos:

- **Temperatura.** La temperatura de la cavidad bucal es más baja que la temperatura normal del cuerpo (oscila entre 35 y 36° C). Esta temperatura resulta óptima para el desarrollo de un amplio espectro de microorganismos. Los factores que pueden ser influidos por la temperatura incluyen pH, actividad iónica, solubilidad de los gases y agregación de macromoléculas.
- **Potencial de Oxido-Reducción.** La cavidad bucal es rica en oxígeno y puede ser colonizada por una variedad de microorganismo aerobios, anaerobios facultativos y aun anaerobios si no hubiera oxígeno. Los niveles de óxido-reducción suelen ser expresados como potencial redox. Se han demostrado potenciales de óxido-reducción de +30 a 310 mv para la lengua, saliva y la encía adherente y otros tan bajos como – 200 para la biopelícula coronaria y 360 mv para el área del surco gingival.
- **Concentración de hidrogeniones.** La mayoría de los microorganismos presentes en la cavidad bucal requieren un pH cercano a la neutralidad. El pH está regulado por la saliva normal que oscila entre 6.5 y 7. Los niveles de acidez de la biopelícula dental pueden diferir notablemente y dependen de la cantidad de ácido producido por los microorganismos presentes en cada sector del biofilm.

- **Dióxido de Carbono.** El crecimiento y el desarrollo de numerosos microorganismos depende de la presencia de dióxido de carbono; para muchas especies la concentración necesaria es de alrededor del 0.03%
- **Nutrientes.** La microbiota oral obtiene sus nutrientes de tres fuentes distintas: de los tejidos o secreciones del hospedador (fuentes endógenas), de otros microorganismos (fuentes bacterianas) y de la dieta (fuentes exógenas).¹⁹

2.2.3 GENEROS Y ESPECIES MICROBIANAS PRESENTES EN LA CAVIDAD BUCAL

La mayor parte de los microorganismos de la cavidad bucal son cocos, bacilos grampositivos, gramnegativos, aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, según el nicho ecológico que los alberga.

Alrededor del 50% de la biota de la cavidad bucal no es aislada en medios de cultivo. Actualmente, las comparaciones filogenéticas, a partir del reconocimiento de los genes que codifican para RNAr 16S permiten reconocer más de setecientas especies de microorganismos o filotipos en la cavidad bucal.²⁰

TABLA: N° 1 BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

PHYLUM	MORFOLOGIA Y RESPIRACION	GENEROS
BACTEROIDETES	Bacilos Anaerobios	Bacteroides
	Bacilos Anaerobios	Tannerella
	Bacilos Anaerobios	Prevotella
	Bacilos Anaerobios	Porphyromonas
	Bacilos Capnofilos	Capnocytophaga
SPIROCHAETES	Espiroquetas Anaerobias	Treponema
SYNERGISTES	Bacilos Anaerobios	Synergistes Desulfovibrio
PROTEOBACTERIAS	Bacilos Anaerobios	Campylobacter
	Cocobacilos Aerobios Fac. o Anaerobios	Haemophilus

	Cocobacilos Capnofilos	Aggregatibacter
	Cocobacilos Aerobios	Kingella
	Fac.	Eikenella
	Cocos Aerobios o Microaerofilos	Neisseria
CHLAMIDAE	Formas Coccoidea Parásitos Intracelulares	Chlamidophila

FUENTE: Negroni, Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica. 2º ed. Buenos Aires. Medica Panamericana. 2009. pág. 236-237

Se denominan bacterias Gram negativas a los microorganismos que tiene una reacción con la tinción Gram en su pared celular diferente a las Gram positivas, pues no se tiñen de color azul oscuro o violeta, sino de color rosa.

Las bacterias Gram negativas no retienen el colorante de cristal violeta durante el proceso de coloración porque presenta una capa muy delgada de peptidoglucano en su pared celular y su capa más externa está cubierta por una membrana de lipoproteínas.

Hay muchas especies de bacterias Gram negativas, agrupadas en varias familias y existen diferentes formas de clasificarlas según su: forma, óptimo de temperatura, pH en el que se desarrollan, requerimiento de oxígeno para poder permanecer con vida. ²¹

- **PHYLUM BACTEROIDETES.** Los Bacteroides es un Phylum de bacterias con amplia distribución en el medio ambiente. En la cavidad bucal se los relaciona con el biofilm de la placa subgingival en las distintas enfermedades periodontales y en conductos radiculares infectados.
- **PHYLUM SPIROCHAETES.** Forman parte de la microbiota comensal; se las encuentra en alto número en sitios con patología periodontal y en conductos radiculares infectados.
- **PHYLUM SYNERGISTES.** Los géneros representativos de la cavidad bucal son Synergistes y Desulfovibrio. Recientemente se han aislado en bolsas periodontales, lesiones de caries en humanos. Con metodología molecular, es común encontrar estas bacterias en abscesos dentoalveolares.

- **PHYLUM PROTEOBACTERIAS.** Las Proteobacterias filogenéticamente se agrupan en cinco grupos designados como subdivisiones y son nombradas por las letras del alfabeto griego: alfa, beta, gamma, delta y épsilon. Los subgrupos alfa y beta son los más cercanos entre sí.
- **PHYLUM CHLAMIDIA** Este grupo de bacterias cuyos miembros son endosimbiontes o patógenos intracelulares obligados de células eucariotas.²²

BACTERIAS GRAM POSITIVAS

En microbiología se denominan 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 envoltura celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana.

Los cocos Gram positivos son bacterias que forman parte del reino procariota, el cual es representado por un conjunto de microorganismos, que carecen de membrana nuclear y presentan ribosomas 70s. Estos microorganismos unicelulares o micrococos, cuya característica principal es la forma esférica se presentan asociados de manera diferente, de tal modo que por el número de células esféricas y la forma que adoptan se denominan diplococos, tetracocos, sarcinas, estafilococos y estreptococos.

El conocimiento de la capacidad patogénica de estos microorganismos, es de mucha importancia debido a que cada una de las especies presenta distintos factores determinantes de patogenicidad, que le permiten a la bacteria tener la capacidad de producir patologías en un organismo susceptible o inmunosuprimido.²³

1. PHYLUM FIRMICUTES

El Phylum Firmicutes predomina en las biopelículas de la cavidad bucal, tanto en la salud como en la enfermedad de las personas. Estos están en mayor interés en la etiopatogenia de caries dental y enfermedades periodontales.²

TABLA: N° 2. CLASE BACILLI

AEROBIOS O FACULTATIVOS	
FAMILIA BACILLALES	FAMILIA LACTOBACILLALES
Gemella	Streptococcus
Filifactor	Enterococcus
Filobacillus	Abiotrophia
Stomatococcus	Granulicatella
Micrococcus	Lactobacillus

TABLA: N° 3. CLASE CLOSTRIDIA

ANAEROBIOS	
COCOS GRAM POSITIVOS	COCOS GRAM NEGATIVOS**
Finegoldia	Veillonella**
Micromonas	Megasphaera**
Peptostreptococcus	Dialister**
Peptoniphilus	Bacilos Curvos Gran Negativos
Anaerococcus	Selenomonas**

**Aunque tintorialmente se comportan como gram negativos, su pared celular es gram positiva, con un contenido de peptidoglucano no inferior a lo normal.

2. PHYLUM ACTINOBACTERIA

Están los géneros y especies de interés odontológico como: Bifidobacterium, Actinomyces, A. viscosus, A. naeslundii, A. odontolyticus, A. israelii, Propionibacterium, Rothia, Corynebacterium.²⁴

TABLA: N° 4

ANAEROBIOS FACULTATIVOS	
BACILOS	COCOS
Atopobium	Corynebacterium
Parascardovia	Filamentosos
Scardovia	Actinomyces
Bifidobacterium	Rothia
Propionibacterium	

3. PHYLUM FUSOBACTERIA

Comprende los géneros Fusobacterium y Leptotrichia. Son bacterias anaerobias que, si bien se tienen como las bacterias gram negativas, son consideradas actualmente dentro de las gram positivas.²⁴

TABLA: N° 5

BACILOS ANAEROBIS
Fusobacterium
Leptotrichia

4. PHYLUM DEINOCOCCUS- THERMUS

Es un pequeño filo de bacterias gram positivas altamente resistentes a los cambios en el medio ambiente.²⁴

TABLA: N° 6

COCOS AEROBIOS FACULTATIVOS
Deinococcus

5. PHYLUM ACIDOBACTERIA

Incluye bacterias aeróbicas o fermentativas productoras de azufre.²⁴

TABLA: N° 7

BACILOS AEROBIS
Acidobacterium

6. PHYLUM CHLOROFLEXI

Son bacterias verdes sulfurodas. Obtienen energía mediante la fotosíntesis. Su vía de fijación del carbono difiere de otras bacterias fotosintéticas.²⁴

TABLA: N° 8

FILAMENTOS CHLOROFLEXI
Filamentos Aerobios Facultativos
Chloroflexus

2.2.4 PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS

El Peptostreptococcus a. es una bacteria anaerobia, se aísla frecuentemente en procesos infecciosos supurados que tienen carácter mixto y polimicrobiano. También se detectan con el mismo carácter en lesiones de caries de dentina, a nivel de la placa dental, en enfermedad periodontal y en el conducto radicular infectado.²⁵

Morfología

El peptostreptococcus a. es un coco anaerobio gram positivo y no formadora de esporas, presentan cadenas cortas. Estas bacterias son de crecimiento lento y pueden presentar resistencia creciente a fármacos antimicrobianos.²⁶

Peptostreptococcus y la enfermedad

El peptostreptococcus anaerobius se encuentra ampliamente distribuido en la flora humana. El organismo también se encuentra implicado como un agente causante de varias infecciones sistémicas como la endocarditis, genitourinario, gastrointestinal y a nivel de la cavidad bucal.²⁷

Se encuentra presente en enfermedades inmunosupresoras o traumáticas, convirtiéndose en patógenos. También ocasiona abscesos cerebrales, a niveles hepáticos, mamarios y pulmonares.²⁸

Tratamiento Antimicrobiano

En tratamiento sistémico como la amoxicilina de 500 mg y Ácido clavulánico de 125 mg x 5-7 días, Ampicilina/Sulbactam de 1.5-3.0 gr. Intravenoso (IV) /6h., Penicilina V k de 500 mg VO/6h., Penicilina G de 1-2''u IV/6h.²⁹

2.2.5 PREVOTELLA MELANINOGENICA

La Prevotella melaninogenica es un anaerobio estricto más común en los estudios de las vías respiratorias, no son móviles, se encuentra en la flora oral en personas normales logrando ubicar a nivel de la lengua, surco gingival, saliva y placa dental.

Se realizó exámenes en niños donde también que se puede lograr encontrar en boca después de la erupción de los dientes.³⁰⁻³¹⁻³²

Morfología

Prevotella melaninogenica es un bacilo Gram negativo que anda en pares y ocasionalmente aparece en cadenas cortas, presentan una pigmentación de color negro. Presenta un periplasma donde se realiza la degradación de las enzimas, proteínas y otros componentes.

Hidroliza la esculina pero no almidón. Esculina es azul fluorescente glucósido que consigue hidroliza en glucosa y esculetina (6,7-dihidroxi-cumarina) debido al calor y ácido. Este método se puede proceder también a través de la fermentación amilolítica utilizando ATP. Este ATP se crea a través del proceso de fosforilación a nivel del sustrato que genera ATP durante el catabolismo y establece el gradiente de membrana³³

Prevotella y la enfermedad

Se encuentra en los sitios como absceso extra orales como osteomielitis vertebral, piomiositis, orales, periamigdalino, infecciones vaginales, etc. A nivel de la cavidad bucal se puede encontrar en placa supragingival, subgingival, saliva, mucosa oral, área de las amígdalas y de la superficie oclusal.

Teniendo la capacidad de producir una gama de posibles factores de virulencia tales como hemolisina, betalactamasas, fibrinolisisina, proteasa Ig A, Ig G proteasa y lipasa.³⁴⁻³⁵

Tratamiento Antimicrobiano

El tratamiento de las infecciones es por drenaje quirúrgico más terapéutica antimicrobiana.

Siendo la clindamicina, metronidazol y penicilinas son las que tienen una sensibilidad a las cepas mayor al 80%, a su vez macrolidos y doxiciclina tiene una sensibilidad entre 30 a 80% frente a cepas.

TABLA: N° 9

POSOLOGIA DE ANTIBIOTICOS³⁶⁻³⁷⁻³⁸

ANTIBIOTICO	DOSIS ADULTO	DOSIS NIÑOS
PENICILINA V	500mg/ 6h.	
AMOXICILINA	500mg/ 8h. 1000mg/ 8-12h	50mg/Kg/día (3 dosis)
AMOXICILINA/AC. CLAVULANICO	500+125mg/ 8h. 875+125mg/ 8h.	40-80mg/Kg/día (3 dosis)
DOXICICLINA	100mg/ 12h	NO RECOMENDADA
CLINDAMICINA	300mg/ 8h.	10-25mg/Kg/día (3 dosis)
METRONIDAZOL	500-750mg/ 8h.	30-45mg/Kg/día (3 dosis)
CLARITROMICINA	250-500mg/ 12h.	7.5-15mg/Kg/día (3 dosis)
AZITROMICINA	500mg/ 24h.	10mg/Kg/día

2.2.6 MINTHOSTACHYS MOLLIS

Etimológicamente, el nombre común de *Minthostachys mollis*, "muña", proviene del quechua. Es una planta silvestre oriunda del Perú. Crece entre los 2700- 3400 m.s.n.m. Su cultivo es muy difundido en las regiones andinas, en Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno donde se la conoce con diversos nombres como huaycho, coa o ismuña.³⁹

La muña es una planta arbustiva leñosa que alcanza de 0.8 a 1.5 m, de altura, es frondosa en la parte superior pubescente, erecta. Su tallo es ramificado desde la base y posee hojas pequeñas. Sus flores son blancas y se encuentran reunidas en cortos racimos. Se desarrolla en lugares cercanos a acequias, manantiales sin requerir grandes cantidades de agua. Siendo unas de las plantas que durante el invierno desaparecen sus hojas para brotar nuevamente con las primeras lluvias en la primavera.

TIPOS DE MINTHOSTACHYS

Existe una variedad muy diversa destacándose un total de 12 especies las que se encuentran distribuidas en un área geográfica de Argentina a Venezuela.⁴¹

En nuestra patria, están distribuidos en la zona andina destacándose por el norte con el departamento de Cajamarca y hasta el sur por el Cusco. Encontramos una mayor distribución en la región central logrando una amplia clasificación entre las que mencionamos: ⁴²⁻⁴³

- *Minthostachys glabrescens*
- *Minthostachys salicifolia*
- *Minthostachys cetosa*
- *Minthostachys spicata*
- *Minthostachys tomentosa*
- *Minthostachys mollis* griseb

PROPIEDADES DE LA MINTHOSTACHYS ⁴⁴⁻⁴⁵

La planta de *Minthostachys mollis* o “muña” es de considerable importancia para los pueblos andinos, debido a los aceites esenciales que se encuentran en sus hojas. Se utiliza en diferentes regiones andinas extendiéndose en la medicina tradicional. Entre las propiedades tenemos:

- ✓ Son analgésicos
- ✓ Es carminativas
- ✓ Son antifúngicos
- ✓ Son antibacterianos
- ✓ Es un antiparasitario
- ✓ Son antiinflamatorios
- ✓ Se utiliza para la halitosis
- ✓ Se utiliza para problemas respiratorios
- ✓ Se utiliza para aromatizar y dar sabor a las comidas
- ✓ El aceite de muña se utiliza en frotaciones antirreumáticas
- ✓ En casos de soroche o mal de altura, se encarga de aliviar el mareo

CLASIFICACION TAXONOMICA

FIGURA: 1



División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: Minthostachys

Especie: Minthostachys mollis

Nombre Vulgar: "muña "

TABLA: N° 10

COMPOSICION FISICO-QUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA GRISEB ⁴⁶⁻⁴⁷

Aspecto	:	liquida, clara, transparente
Color	:	incoloro
Olor	:	característico en menta
Sabor	:	Picante
Densidad relativa	:	0.92
Índice de refracción	:	1.4699
Solubilidad en alcohol al 70%	:	5
Índice de mentona	:	33.88%
Índice de menta	:	22%
Índice de acidez	:	1.683
Índice de esteres	:	5.819
Rotación específica	:	-2ª 45
Índice de éter	:	16.80 %
Contenido de mentol total	:	4.042 %
Solubilidad en etanol	:	95 %

TABLA: N° 11

COMPOSICION QUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA GRISEB

COMPOSICION DEL ACEITE	%
PULEGONA	: 46.70
MENTONA (Monoterpenonas)	: 15.89
ISOMENTONA(Monoterpenonas)	: 13.34
LINALOL	: 2.94
CARIOFILENO	: 2.03
CARVACROL ACETATO	: 1.85
ESPATULENOL	: 1.65
LIMONENO	: 1.43
ISOPULEGON	: 1.18
COMPONENTES MENORES	: 12.99
TOTAL	: 100%

FUENTE: INKA COMEX S.A.C. Empresa

TABLA: N° 12**COMPOSICION NUTRITIVA DE MUÑA.¹³**

En 100 gr. de parte comestible

COMPONENTES MAYORES		
AGUA	:	16 ug. %
PROTEINAS	:	3.20 ug. %
GRASAS	:	2.80 ug. %
CARBOHIDRATOS	:	66.30 ug. %
FIBRAS	:	9.40 ug. %
CENIZAS	:	11.70 ug. %
MINERALES		
CALCIO	:	2.24 ug. %
FOSFORO	:	269 ug. %
HIERRO	:	22.40 ug. %
VITAMINAS		
RETINOL	:	306 ug. %
TIAMINA	:	0.35 ug. %
RIBOFLAVINA	:	1.81 ug. %
NIACINA	:	6.85 ug. %
ACIDO ASCORBICO	:	21.10 ug. %
OTROS COMPONENTES		
ACIDOS DEBILES	:	2.54 ug. %
ESTERES	:	14.02 ug. %
TANINOS	:	Positivo
RESINAS	:	Positivo
FENOLES	:	Positivo
ALCOHOLES	:	Positivo
ALDEHIDOS	:	Positivo
CETONAS	:	Positivo
CARBONILO	:	22.06 ug. %
MENTOL	:	40.42 ug. %

IMPORTANCIA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales de plantas naturales han sido utilizados desde hace mucho tiempo para poder obtener aromas y sabores. Las propiedades funcionales del aceite varía de acuerdo a la proporción de los compuestos presentes en ellos, para especies diferentes se obtienen respuestas diferentes en su actividad antimicrobiana de acuerdo a las condiciones que se procesan. Hay varios métodos de extracción pudiendo ser por destilación por arrastre de vapor, por disolventes, por fluidos supercríticos, por microondas, etc.⁴⁸

Se caracterizan por sus propiedades físicas, como la densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica. Siendo que en la mayoría de los aceites presentan una densidad menor a la del agua.⁴⁹

Presentan los aceites esenciales una actividad antimicrobiana, actuando como agentes bacteriostáticos o antifúngicos muy importante que actúan como antioxidantes, también actúan como antioxidantes, retrasando o inhibiendo la oxidación de aceites y lípidos en general.⁵⁰

2.2.7 GLUCONATO DE CLORHEXIDINA

El gluconato de clorhexidina es una solución antiséptica que fue desarrollado en Inglaterra por la década de los 40 en la Imperial Chemical Industries. En medio de la pandemia por la malaria un grupo de científicos fueron capaces de desarrollar un conjunto de compuestos denominados polibiguanidas, los que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano; saliendo al mercado en 1954 como un medio aséptico para heridas de la piel. Debido a lo beneficioso de sus propiedades terapéuticas, posteriormente se promovió a usarse tanto en medicina general como en cirugía en beneficio integral del paciente.⁵¹

La solución de gluconato de clorhexidina es ampliamente activa contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias facultativas y aerobias, en menor medida contra hongos y levaduras. Tiene escasa actividad contra *Mycobacterium tuberculosis* y no es esporicida. Una de sus características más destacadas es su actividad in vitro contra virus encapsulados, tales como el herpes simple, el VIH, el citomegalovirus, el de la influenza y el virus sincitial respiratorio, aunque presenta menor actividad contra virus no encapsulados.⁵²⁻⁵³

MECANISMO DE ACCION

El gluconato de clorhexidina al ser reconocido como compuesto con propiedades de base fuerte con un pH superior a 3.5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno le otorga una característica de naturaleza dicationica⁵⁴, convirtiéndola en una molécula extremadamente interactiva con los aniones.

Al penetrar las membranas de las células bacterianas precipitando el citoplasma e interfiriendo con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y originando la muerte celular.⁵⁵

Como solución antiséptico bacteriostática a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio, antagonistamente en concentraciones altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita.⁵⁶

USO CLINICO DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA EN ESTOMATOLOGIA

Los efectos terapéuticos otorgados de la solución del gluconato de clorhexidina en la práctica estomatológica dependerán básicamente de la concentración que pueda presentar para prevenir la infección, reinfección o contaminación de los conductos en caso de percolación marginal de la obturación provisional.

Asimismo ayuda a prevenir la proliferación de los microorganismos remanentes dentro del sistema de conductos radiculares. Además de minimizar las pulpitis postoperatorias y la sensibilidad limpiando y desinfectando a fondo la preparación antes de sellar y restaurar. También para el uso úlceras bucales recurrentes, en el tratamiento de estomatitis protésicas, como enjuague e irrigación preoperatorios en las cirugías, en pacientes que presentan algún compromiso sistémico y estén predispuestos a alguna infección bucal, en pacientes portadores de aparatos de ortodoncia, extraíbles o fijos y como enjuagatorio bucal en pacientes que presenten enfermedad gingival o periodontal.⁵⁷

CONCENTRACIONES DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA

La solución del gluconato de clorhexidina suele presentarse en el mercado farmacéutico bajo diferentes concentraciones: al 0,12% y al 0,2%. Por lo que se recomienda el uso bajo la forma de colutorio, es recomendando realizar un buche con 10 ml del producto si la concentración es de 0,2%. Si la solución es al 0,12% se indica el uso de 15 ml. Estas soluciones son de uso frecuente en la odontología como medio de control de la placa bacteriana. Prevención de infecciones por gérmenes de la cavidad bucal. Tratamiento sintomático de la inflamación de encías, úlceras bucales. Antisepsia de impresiones dentales o tejidos bucales y en el tratamiento de halitosis (mal aliento).⁵⁸

TOXICIDAD Y EFECTOS DEL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA

No se ha observado resistencia bacteriana en los casos de uso prolongado del gluconato de clorhexidina en boca, tampoco registraron evidencias de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. El uso prolongado puede producir un leve desplazamiento de la flora hacia microorganismos menos sensibles.

El efecto adverso con mayor evidencia es la pigmentación de un color marrón en los dientes, muchas veces en ciertos materiales de restauración y en menor consideración en las mucosas y sobre todo del dorso de la lengua.

La causa por la que el gluconato de clorhexidina produce tinción no es del todo clara, existiendo distintas teorías al respecto. Lo que sí parece claro es que se produce una interacción entre la molécula que por un grupo catiónico está unida a la superficie del diente y por el otro grupo en vez de unirse a bacterias, se une a sustancias dietéticas ricas en taninos, produciéndose una pigmentación; así productos como el té, el vino tinto o el café potencian la pigmentación hacia los dientes.⁵⁹

2.2.8 PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA

La actividad antimicrobiana se mide in vitro para poder determinar principalmente la potencia de un agente en solución, su concentración en los líquidos del cuerpo o en los tejidos y la susceptibilidad de un microorganismo dado a concentraciones conocidas del fármaco.

Los métodos más usados son los siguientes:

1. METODO DE DILUCION

Se incorporan cantidades graduables de las sustancias antimicrobianas en medios bacteriológicos líquidos o sólidos, los medios se inoculan después con las bacterias de prueba y se incuban. El punto final se toma como la cantidad de sustancia antibacteriana requerida para inhibir el crecimiento o para matar las bacterias.

Las pruebas de sensibilidad por dilución en agar consumen tiempo y su uso está limitado a circunstancias especiales. Sin embargo, el advenimiento de series preparadas de dilución de caldos para muchos fármacos distintos en placas con microdilución ha aumentado y simplificado de manera considerable al método. La ventaja de las pruebas con microdilución es que permite informar un resultado cuantitativo que indica la cantidad de un fármaco dado necesaria para inhibir (o matar) a los microorganismos sujetos a la prueba.⁶⁰⁻⁶¹

2. METODO DE DIFUSION

Este método, que sufrió diferentes modificaciones hasta que fue estandarizado por Kirby- Bauer en los Estados Unidos en 1996, representa la prueba de susceptibilidad más ampliamente utilizada en bacteriología clínica porque permite obtener resultados bastantes exactos mediante un medio cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo, este último es el más utilizado.

El comité de expertos de la OMS (NCCLS en su documento M7-T) publico las "Normas" para efectuar algunas modificaciones al descrito por Bauer, de manera que los resultados sean comparables en todas partes del mundo. Estas normas tienen en cuenta.⁶²⁻⁶³

Condiciones de la cepa⁶²⁻⁶³

- Debe aislarse del material de estudio
- Debe obtenerse en forma de cultivo puro
- Se podrán utilizar cepas de referencia cuando existan dudas del material que se usa.

Cuidados del disco de papel⁶²⁻⁶³

- Debe tener un tamaño de 5 a 7 mm y un espesor de 0.02 mm
- Deben cargarse con una concentración de antimicrobiano selectivo de manera que se obtenga una zona de inhibición no mayor a 40 mm.
- La cantidad de antimicrobiano selectivo que contiene cada disco debe ser justa porque una sobrecarga falseara los resultados.
- Deben mantenerse almacenadas a temperatura de 4°C o según las instrucciones del fabricante, para que no haya deterioro en la potencia de la droga.
- Tienen que estar en un ambiente con sustancias desecadoras para evitar los vapores de condensación al almacenamiento en el refrigerador.

Indicaciones para la preparación de las placas

- El medio deberá distribuirse uniformemente en la placa.
- La altura del medio debe ser de 4 mm para que se pueda estandarizar la difusión de la droga porque si se disminuyera el espesor de la capa de agar se obtendrá halos de inhibición más amplios.

-Este método requiere experiencia de laboratorio y conocimiento de bacteriología porque de lo contrario se pueden cometer errores que repercutirán clínicamente. A continuación se detallara los pasos a seguir para realizar esta prueba.

-Se realizará la siembra de la placa con el agar selectivo para el microorganismo específico, esta siembra puede ser por diseminación en la superficie, por inundación o por agotamiento por estrías.

- Se deja secar entre 3 y 5 minutos.

-Con una pinza estéril de puntas finas se colocan sobre la superficie del agar sembrado discos individuales o en estrella; estos llevan impresa la abreviatura del antimicrobiano selectivo en el cual se encuentran embebidos y la serie a la cual pertenecen.

-Con respecto a los discos se debe tener en cuenta que para asegurar el contacto adecuado y por lo tanto una difusión uniforme se los debe presionar suavemente. Para permitir la lectura de los resultados se los debe colocar con la inscripción hacia arriba en el medio de cultivo. Para impedir la superposición de los halos de inhibición deben estar a una distancia no menor de 15 mm entre sí y a 1.5 cm. del borde de la placa.

-Se deja la placa no menos de media hora a temperatura ambiente para que el disco absorba agua del medio de cultivo y así permita la difusión radial del antimicrobiano selectivo, lo que produce un gradiente de concentración, es decir que cuanto más nos alejamos del disco menor será la concentración del antimicrobiano. Para reducir una posible causa de error.

-Luego se incuba de acuerdo a las características de cada microorganismo. Una vez transcurrido el tiempo indicado se procede a la medición e interpretación de la zona circunda del disco, llamada halo de inhibición. Este informa si el microorganismo es sensible, resistente o intermedio.

La falta de desarrollo alrededor del disco indica que la bacteria es "sensible" al antimicrobiano selectivo, lo que significa que después de tratar al paciente infectado por el microorganismo con las dosis habituales de dicho antimicrobiano se observará una respuesta favorable al tratamiento.

El crecimiento del microorganismo alrededor del disco indica una cepa "resistente", es decir, una con la cual no se obtendrá ninguna respuesta terapéutica. Existe un tercer tipo de cepa, la cepa "intermedia", que es la que exige la administración de dosis de antimicrobianos superiores a las habituales para obtener una respuesta terapéutica favorable.

-Como el tamaño de cada halo de inhibición depende de la sensibilidad de la cepa al antimicrobiano, de la velocidad de crecimiento del microorganismo, de la cantidad (carga) de antimicrobiano selectivo presente en el disco y de la capacidad para difundir en el medio, etc. Un halo más grande no siempre indica mayor actividad antimicrobiana.⁶²⁻⁶³

CAPITULO III: DISEÑO METODOLOGICO

La presente investigación está planteado en un método experimental. En el estudio se considerará la formulación de hipótesis, cuyas variables se han trabajado a partir de sus dimensiones las que a su vez se formularán indicadores convertidos en ítems en fichas preparadas bajo la forma de categorías de análisis hasta obtener una precisión de la realidad.

La contrastación de las hipótesis específicas, permitirán progresivamente la comprobación de la hipótesis principal de la Investigación.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo, conforme a sus propósitos y naturaleza se ubica como una investigación experimental, in vitro y de corte transversal.

Es experimental porque dos sustancias tanto el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% se usaron para poder determinar la efectividad antibacteriana sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

Es in vitro porque es un estudio que se realizó en medios de cultivo que sirvieron para el desarrollo de las bacterias.

Es de corte transversal porque se observo los resultados solamente en un momento establecido del tiempo.

3.2 POBLACION Y MUESTRA DE LA INVESTIGACION

POBLACION

Las bacterias presentes en diversas manifestaciones clínicas y patológicas que tienen repercusión en la cavidad bucal.

MUESTRA

Se realizó un estudio comparativo in vitro con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el Gluconato de clorhexidina al 0.12%, se utilizaron cepas de *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337) y *Prevotella melaninogenica* (ATCC 25845).

3.3 VARIABLES

Las consideraciones teóricas relacionadas con el objeto problema y la hipótesis planteada, nos permitirán identificar las siguientes variables:

V 1: Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

V 2: Efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*.

3.4 TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1 REACTIVACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS

Al momento de la recepción de las cepas se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 2 a 6 °C. desde el momento de la entrega hasta la reactivación en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud. Las cepas contenidas en sus respectivos envases Kwik –Stick™, se procedió a retirar cada una de ellas y se siguió con las instrucciones del fabricante respectivamente.

- *Prevotella melaninogenica* (ATCC 25845)
- *Peptostreptococcus anaerobius* (ATCC 27337)

Una vez reactivada las cepas se procedió al sembrado en el medio de cultivo que fue el agar schaedler, que se eligió por ser un medio de cultivo enriquecido y por presentar las condiciones de anaerobiosis que se necesita.

3.4.2 PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO

El medio de cultivo el cual fue el agar Schaedler fue preparado según las instrucciones del fabricante que se utilizo en placas petri. En un espesor de 4 mm. por cada placa.

Se dejo solidificar a temperatura ambiente en un tiempo de 20 minutos, se procedió a rotular las placas en la parte inferior con el nombre de la sustancia a utilizar que fue (aceite esencial de *minthostachys mollis* y gluconato de clorhexidina al 0.12%).

3.4.3 PRUEBA DE SENSIBILIDAD

Una vez reactivada las cepas se va proceder a realizar la siembra de estas en las placas petri correspondiente (por duplicado).

Con el hisopo del envase del Kwik –Stick™ se realizo el depósito de la suspensión en las placas con agar Schaedler. Tanto para el sembrado de la *Prevotella melaninogenica* como del *Peptostreptococcus anaerobius*.

Se utilizo una pinza estéril en la cual sirvió para colocar en cada placa petri 2 discos de papel filtro, cada uno de estos discos de papel filtro esta embebido en 10 ul de aceite esencial de *minthostachys mollis* y gluconato de clorhexidina al 0.12%. Colocándose a una distancia no menor de 15 mm entre estos 2 discos y a 1.5 cm. del borde de la placa petri, presionándose firmemente sobre la superficie externa del agar.

Antes de la colocación de las sustancias a los estos discos se calculó la cantidad necesaria de 10 ul por medio de la micropipeta y se colocó en vasos dappen previamente esterilizado.

Luego de esto se procedió al sellado completo de cada una de las placas petri y se colocó posteriormente a un medio de anaerobiosis a su vez se llevo a la estufa para la incubación a 37° C por un tiempo de 1 semana (168h), pasado el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura macroscópica de las placas y determinar los resultados obtenidos y llenar las fichas de recolección de datos.

3.4.4 MATERIALES Y EQUIPOS

a) Materiales y equipo para el medio de cultivo

- agar Schaedler
- placas petris
- Alcohol
- Autoclave
- Agua destilada
- Matraz de Erlenmeyer
- Pipetas
- micropipeta
- Mecheros
- Encendedor
- Probetas
- balanza
- estufa
- Refrigeradora
- Guantes estériles
- Mascarillas N° 95

b) Materiales y equipo para el sembrado

- Prevotella melaninogenica (ATCC 25845)
- Peptostreptococcus anaerobius (ATCC 27337)
- Aceite esencial de minthostachys mollis
- Gluconato de clorhexidina al 0.12%
- Micropipeta
- Puntas para micropipeta
- mecheros
- encendedor
- Vasos dappen
- Discos de papel
- Pinzas estériles
- Guantes estériles
- Mascarilla N° 95

c) Materiales y equipo para cuantificar los resultados

- Cámara fotográfica
- Lapicero
- Computadora Pentium IV
- Ficha de recolección de datos

d) Infraestructura

Se trabajo en el Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud en la UAP.

e) Recursos Humanos

- Operador (autor de este trabajo)
- Personal técnico del Laboratorio Central

3.5 PLAN DE ANALISIS DE DATOS

Los datos fueron procesados en una computadora Pentium IV, mediante la obtención de los resultados se realizó mediante cuadros y gráficos respectivamente. Las pruebas estadísticas de comparación entre ambas muestras, así como también el análisis varianza.

VARIABLES	INDICADOR	Naturaleza	TIPO
Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de <i>minthostachys mollis</i> sobre <i>peptostreptococcus anaerobius</i> y <i>prevotella melaninogenica</i> .	Concentración al 100%	Cuantitativo	Nominal
	Concentración al 0.12%	Cuantitativo	Nominal
Efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre <i>peptostreptococcus anaerobius</i> y <i>prevotella melaninogenica</i>	Concentración al 100%	Cuantitativo	Nominal
	Concentración al 0.12%	Cuantitativo	Nominal

3.6 IMPLICANCIA ETICA

En este trabajo de investigación se tuvo en consideración los tipos de bacterias a utilizar, sabiendo la patogenicidad que comprenden estas. Se realizó un protocolo de bioseguridad tanto para las personas que trabajan en el Laboratorio Central como también para el operador. Se tuvo un manejo responsable, adecuado y conveniente de estas cepas sin realizar otro acto que no sea con el propósito acerca de la investigación a trabajar.

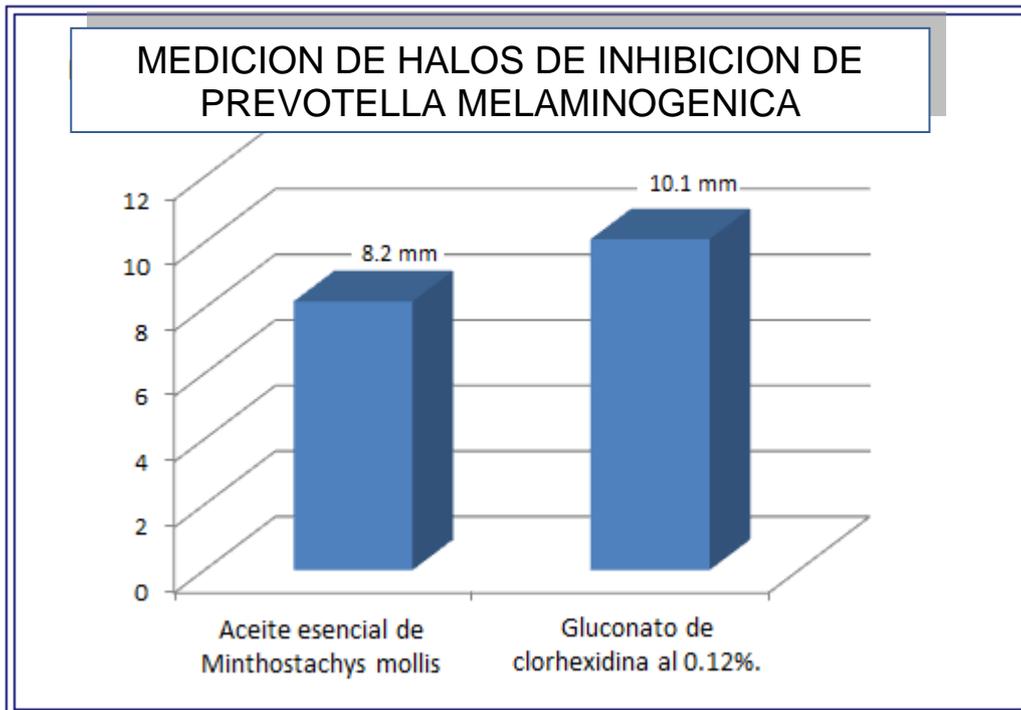
RESULTADOS

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS Y PREVOTELLA MELANINOGENICA.

- La media de los halos formado por la Prevotella melaminogenica mediante el método de difusión según Kirby- Bauer después de 1 semana (168h) resulto en un valor de 9.15 mm frente al Aceite esencial de Minthostachys mollis y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.
- La media de los halos formado por el Peptostreptococcus anaerobius mediante el método de difusión según Kirby- Bauer después de 1 semana (168h) resulto en un valor de 8.3 mm frente al Aceite esencial de Minthostachys mollis y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

GRAFICO Nº 1

Comparación de medidas de los halos de inhibición de la *Prevotella melaninogenica* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.



FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima. Bach. Johnston Brean Sánchez Cueto

ANALISIS E INTERPRETACION

En el gráfico se puede observar que en la muestra perteneciente a *Prevotella melaninogenica* después de 1 semana (168h) formó un halo de inhibición con una medición de 8.2 mm al uso del Aceite esencial de *Minthostachys mollis* mientras que al uso del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, da como respuesta una medición de 10.1 mm.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS y PREVOTELLA MELANINOGENICA.

CUADRO N° 1

Halo de inhibición de la cepa Prevotella melaninogenica frente al aceite esencial de Minthostachys mollis y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

TIEMPO	168 Horas
MEDIA	9.15 mm
VARIANZA	1.8 mm
DESVIACION STANDAR	1.34 mm
RANGO	1.9 mm

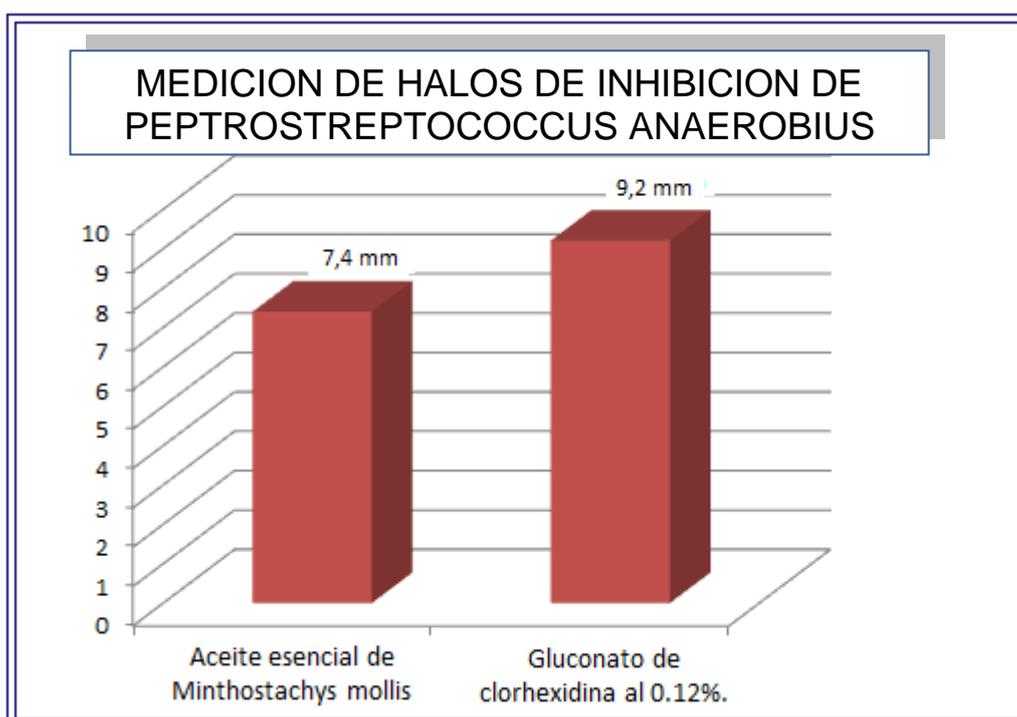
FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima.

ANALISIS E INTERPRETACION

Como se puede observar que la media de halo de inhibición formado por la Prevotella melaminogenica después de 1 semana (168h) es de 9.15 mm frente al Aceite esencial de Minthostachys mollis y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

GRAFICO Nº 2

Comparación de medidas de los halos de inhibición de la *Peptostreptococcus anaerobius* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.



FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima. Bach. Johnston Brean Sánchez Cueto

ANALISIS E INTERPRETACION

En el gráfico se puede observar que en la muestra perteneciente a *Peptostreptococcus anaerobius* después de 1 semana (168h) formó un halo de inhibición con una medición de 7,4 mm al uso del Aceite esencial de *minthostachys mollis* mientras que al uso del Gluconato de clorhexidina al 0.12%, da como respuesta una medición de 9,2 mm.

CUADRO N° 2

Halo de inhibición de la cepa *Peptostreptococcus anaerobius* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

TIEMPO	168 Horas
MEDIA	8.3 mm
VARIANZA	1.62 mm
DESVIACION STANDAR	1.27 mm
RANGO	1.8 mm

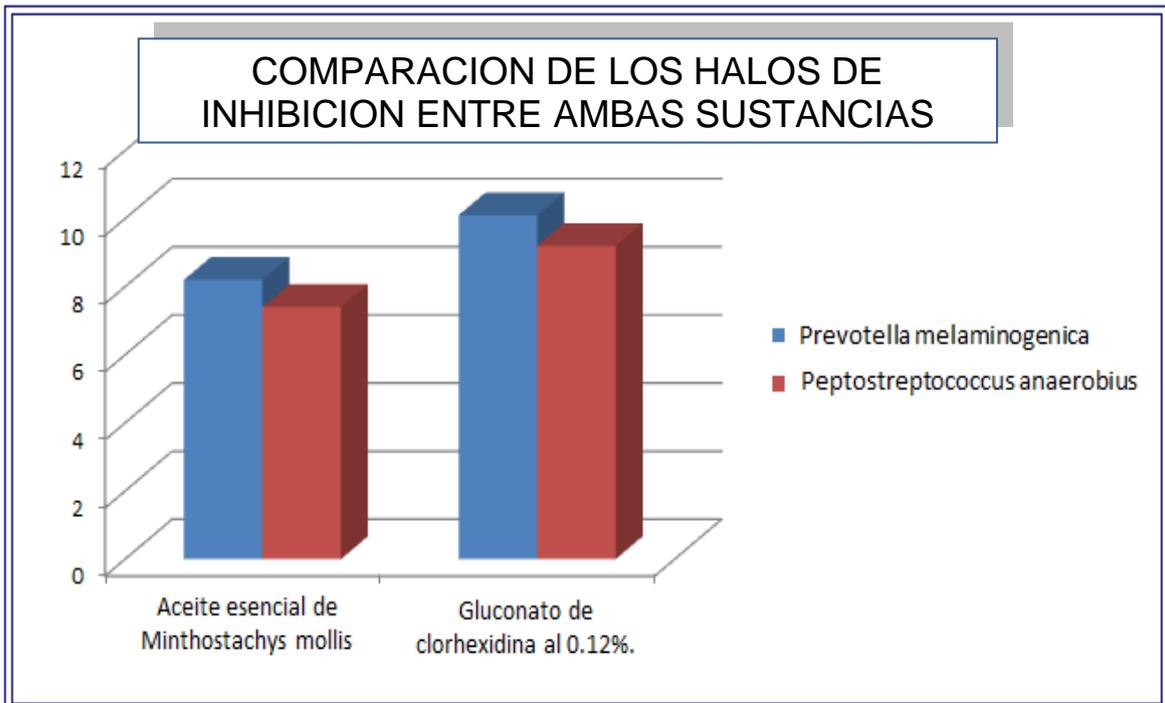
FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima.

ANALISIS E INTERPRETACION

Como se puede observar que la media de halo de inhibición formado por la *Peptostreptococcus anaerobius* después de 1 semana (168h) es de 8.3 mm frente al Aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

GRAFICO Nº 3

Comparación de medidas de los halos de inhibición de la *Prevotella melaminogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.



FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima. Bach. Johnston Brean Sánchez Cueto

ANALISIS E INTERPRETACION

En el gráfico se puede observar que en los dos casos el Gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene una mejor respuesta a la inhibición de los halos formados tanto para la *Prevotella melaminogenica* y el *Peptostreptococcus anaerobius* en comparación al aceite esencial de *Minthostachys mollis*.

CUADRO N° 3

Comparación de halos de inhibición entre las cepas de *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

168 Horas	MEDIA	VARIANZA	ESVIACION STANDAR	RANGO
<i>Prevotella melaminogenica</i>	9,15 mm	1,8 mm	1,34 mm	1,9 mm
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	8,3 mm	1.62 mm	1.27 mm	1.8 mm

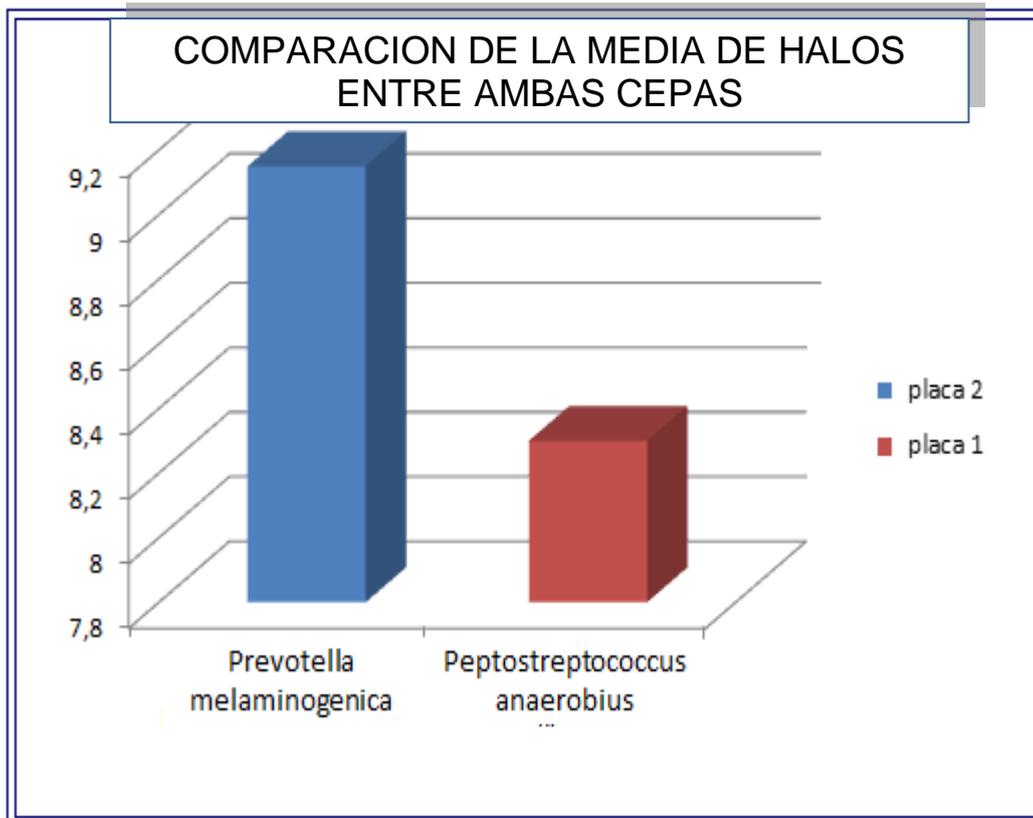
FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima.

ANALISIS E INTERPRETACION

Como se puede observar que la media de los halo de inhibición formado después de 1 semana (168h) por la *Prevotella melaminogenica* es de 9.15 mm en comparación al *Peptostreptococcus anaerobius* es de 8.3 mm frente al Aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

GRAFICO N° 4

Comparación de la media de los halos de inhibición de la *Prevotella melaminogenica* y *Peptostreptococcus anaerobius* frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.



FUENTE: Laboratorio Central Universidad Alas Peruanas Sede Lima. Bach. Johnston Brean Sánchez Cueto

ANALISIS E INTERPRETACION

En el grafico se puede observar que en la placa 1 y 2: están contenidos el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Se observa la comparación de medias proporcionales por los halos de inhibición.

DISCUSIONES

En este trabajo se eligió comprar el producto, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* que fue adquirido con su certificado correspondiente, respetando mucho la forma como obtuvieron el producto: Azaña (2010), Malpartida (2009), entre otros autores.

En el presente estudio de investigación se trabajo con aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* siendo estos anaerobios gram negativas prevalentes en la cavidad bucal, obteniendo el efecto inhibitor muy similar, tal como lo muestra en su estudio llevado a cabo por Malpartida (2009) usando el Gluconato de clorhexidina frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, en la cual obtuvo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presento halos de inhibición mucho menores al paramonoclorofenol alcanforado y Gluconato de clorhexidina al 2% en el cultivo bacteriano en un tiempo de 24 y 72 horas.

En nuestro estudio realizo la prueba de susceptibilidad de diluciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12% por el método de difusión, estandarizado por Kirby-Bauer en los Estados Unidos en 1966, se utiliza mucho para ensayos in vitro. Se fundamenta en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de sustancias activas en un medio solido y posteriormente se observara la formación de halos. Se decidió utilizar este método de difusión en agar con disco con el propósito de comparar cuantitativamente la efectividad antibacteriana de las 2 diluciones a diferencias de otras investigaciones que solamente utilizaron 1 dilución como: Azaña (2010), Huari (2014) entre otros.

En el presente estudio se obtuvo halos de inhibición en las placas de *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* usando al aceite esencial de *minthostachys mollis* en comparación a Salmón (1994) que no obtuvo halos de inhibición, pudo haberse sido por algún factor como: el lugar de almacenamiento, la temperatura, contaminación del medio de cultivo entre otros.

Se obtuvo como resultado que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* en una concentración del 100% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* presentó un valor de 7.4 mm y *Prevotella melaminogenica* con un valor de 8.2 mm y el Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* con valor de 9.2 mm y *Prevotella melaminogenica* en 10.1 mm obteniendo un mayor efecto antibacteriano la segunda sustancia en comparación a la primera.

No se halló halos de inhibición mayor a 20 mm, siendo este valor un rango que corresponde a la escala de Duraffourd, dando como resultado ser sumamente sensible (+++). Siendo que aceite esencial de *minthostachys mollis* en una concentración al 100% en promedio con respecto al *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* tuvo un valor de 7.8 mm que se considera nula (-) y el gluconato de clorhexidina al 0.12% con respecto al *peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* que tuvo un valor de 9.65 mm siendo este sensible (+), a diferencia de estudios que realizó Díaz (2005) que obtuvo con respecto al *Fusobacterium nucleatum* un halo con un valor de 20.13 mm siendo este sumamente sensible y menor al *Actinomyces sp.* con un valor de 11 mm siendo este sensible (+).

A su vez, la cepa que presentó menor diámetro de halo de inhibición fue el *Peptostreptococcus anaerobius* en comparación a la *Prevotella melaminogenica*, frente aceite esencial de *minthostachys mollis* y gluconato de clorhexidina al 0.12%.

CONCLUSIONES

Al ultimar “*El estudio comparativo de la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*”* llegamos a la siguientes conclusiones:

1. El Gluconato de clorhexidina al 0.12% presento mayor efecto antibacteriano sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaminogenica* con un promedio de halo de inhibición de 9.65 mm que se considera sensible según la escala de Duraffourd en comparación del aceite esencial de *Minthostachys mollis* que tuvo un promedio de 7.8 mm y se considera nula.
2. La efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* después de 1 semana (168h) presento un valor en el halo de inhibición de 7.4 mm en *Peptostreptococcus anaerobius* y 8.2 mm en *Prevotella melaminogenica*.
3. La efectividad antibacteriana del Gluconato de clorhexidina al 0.12% después de 1 semana (168h) presento un valor en el halo de inhibición de 9.2 mm en *Peptostreptococcus anaerobius* y 10.1 en *Prevotella melaminogenica*.

RECOMENDACIONES

Después de analizar las conclusiones de la investigación “*El estudio comparativo de la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Peptostreptococcus anaerobius* y *Prevotella melaninogenica*”* se procede a recomendar:

1. Realizar estudios comparativos entre varias especies de *Minthostachys* y observar cuál de estas tiene un mayor efecto.
2. Se sugiere realizar estudios acerca de la efectividad antibacteriana en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* usando bacterias aerobias.
3. Realizar estudios comparativos acerca del efecto antibacteriano del en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* y otras plantas naturales.
4. Evaluar el efectividad antibacteriana del Gluconato de clorhexidina al 0.12% y al 2% sobre bacterias periodontopatogenas.
5. Investigar más acerca del aceite esencial de *minthostachys mollis* y sus beneficios a un futuro plazo en el campo de la Estomatología.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **HUARI GUERRERO, G.** Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*, UNMSM, 2014.
2. **GONZÁLEZ y Col.** Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) Frente *Streptococcus mutans*, UPAO. 2013
3. **AZAÑA ESPINOZA, I.** Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis*(muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico, Tesis de bachiller para Cirujano Dentista, Facultad de Odontología-UNMSM.2010
4. **MALPARTIDA QUISPE, F.** Efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* en un estudio in vitro, Tesis par optar el grado Académico de Maestro, UAP, 2010.
5. **MORA y Col.** Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* from Venezuela Andes. *Natural Product Communications.* 4(7): 997-1000.2009
6. **CANO y Col.** Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). *Rev Perú Med Exp Salud Pública.* 25(3): 298-301.2008
7. **CHICA y Col.** Antimicrobial activity of *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) essential oil. *APS Caribbean Division;* 97(7) (Suppl).2007
8. **DÍAZ K.** Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. Tesis de bachiller para Cirujano Dentista. Lima: UNMSM; 2005.
9. **PALACIOS y Col.** Efecto bactericida in vitro de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Streptococcus oral*. Instituto de Investigación Estomatológica. Lima UNMSM 2004
10. **FERREIRA y Col.** Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J.* 13(2): 118-22.2002
11. **FUERTES C, MUNGUÍA Y.** Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “muña” de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e Investigación.* IV (1): 23-39.2001
12. **INGA A, GUERRA B.** Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico. Lima: UNMSM; 2000.

13. **POBLETE, E.** Plantas medicinales en Bolivia, farmacopea. Calla waya. 2^{da} edición, Editorial los amigos del libro; 1998
14. **ELDRIGE K, FINNIE S, MAUAD A,** Efficacy of an alcohol – free clorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. The Journal of Prosthetic Dentistry. 80: 685-690.1998
15. **SALMÓN L.** Contribución al estudio de la especie vegetal *Minthostachys mollis* Kunt Griseb "Muña" en los aspectos fitoquímico, toxicológico, antimicrobiano y bromatológico. Lima. pág. 5-15.1994
16. **CONTRERAS G.** Actividad antimicrobiana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a bacterias enteropatógenas. Tesis de bachiller para Biólogo. Lima: UNALM; 1983
17. **LIÉBANA UREÑA, José.** Microbiología oral, 2^a Edición, 2002.pág. 26-27
18. **NEGRONI, Martha,** Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2^o ed. Medica Panamericana.2009. pág. 225-226
19. **NEGRONI, Martha,** Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2^o ed. Buenos Aires. Medica Panamericana.2009. pág. 229
20. **NEGRONI, Martha,** Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2^o ed. Buenos Aires. Medica Panamericana.2009. pág. 235
21. **MOLLINEDO PATZI, Marcela y GONZALES VILLALOBOS, Cynthia.** Bacterias Gram negativas. Rev. Act. Clin. Med [online]. 2014, vol.49
22. **NEGRONI, Martha,** Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2^o ed. Buenos Aires. Medica Panamericana.2009. pág. 236-237
23. **QUISPE P, Gabriela; LIMBERD, Hilari.** Cocos Gram positivos. Rev. Act. Clin. Med [online]. 2014, vol.49
24. **NEGRONI, Martha.** Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2^o ed. Buenos Aires. Medica Panamericana.2009. pág. 238-242
25. **LIÉBANA UREÑA, José.** Microbiología oral. 2.^a Edición.pág. 382. 2002
26. **HIGAKI, S. KITAGAWA, T. KAGOURA, M. YAMAGISH, T.** Characterization of *Peptostreptococcus* species in skin infections. J Int Med Res 28(3):143–7.2000
27. **HOLDEMAN, MOORE, L. JOHNSON, J. MOORE, W.** Genus *Peptostreptococcus*. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 2. Baltimore, Williams & Wilkins. pág.1083–1092.1986
28. **MADER, J., CALHOUN, J. Bone,** Joint, and Necrotizing Soft Tissue Infections. In: *Baron's Medical Microbiology* .Baron S et al, Univ. of Texas Medical Branc. eds. 4th ed. 1996
29. **BADEN, L. EISENSTEIN, B.** Impact of Antibiotic Resistance on the Treatment of Gram-negative Sepsis. Curr. Infect Dis. Rep. pág.409-416.2000

30. **DUERDEN, B.** The isolation and identification of *Bacteroides* spp. from the normal human gingival flora. *J Med Microbiol.* 13(1):89-101.1980
31. **KÖNÖNEN, E.** Pigmented *Prevotella* species in the periodontally healthy oral cavity. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 6(2):201-5.1993
32. **BAILIT, H. BALDWIN, D. HUNT, E.** The increasing prevalence of gingival *Bacteroides melaninogenicus* with age in children. *Arch Oral Biol.*9 (4):435-8. 1964
33. **HARDING, G. SUTTER, V. FINEGOLD, S. & BRICKNELL, K.** "Characterization of *Bacter melaninogenicus*." *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.* p. 354-359.1976
34. **MUKHOPADHYAY, S. ROSE, F. FRECHETTE, V.** Vertebral osteomyelitis caused by *Prevotella (Bacteroides) melaninogenicus*. *South Med J.*98(2):226.2005
35. **ALAUZET C, MARCHANDIN H, LOZNIOWSKI A.** New insights into *Prevotella* diversity and medical microbiology. *Future microbiology.*5(11):1695-718.2010
36. **BASCONES, A. AGUIRRE, J. BERMEJO, A. GAY-ESCODA, C. GONZÁLEZ-MOLES, M.** et al. Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *Med. Oral Patol Oral Cir. Bucal;* 9, pág.: 363-376. 2004
37. **MAESTRE, J.** Opciones terapéuticas en la infección de origen odontogénico. *Med. Oral Patol Oral Cir. Bucal;* 9 Suppl: S19-S31. 2004
38. **POVEDA RODA, R. BAGAN, J. SANCHIS BIELSA, J. CARBONELL PASTOR, E.** Antibiotic use un dental practice. A review. *Med. Oral Patol Oral Cir. Bucal;* 12(3): 186-192. 2007
39. **HERBOTECNIA.** Tecnología en producción de plantas medicinales, aromáticas y tintoreas. [Sitio en internet] Disponible en: <http://www.herbotecnia.com.ar/aut-muna.html>.
40. **MORALES, A.** Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena). Tesis de bachiller para Químico. Lima. UNALM. 1973
41. **SOTTA, N.** Plantas aromáticas y medicinales de la. región Arequipa.1ª edición. Arequipa: Editorial Akuarella: 99-100.2000
42. **WEBERBAUER, M.** El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1ª edición. Lima: Editorial Lumen S.A. 1945
43. **JAROSLAV, S.** Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana.1ª edición. Lima: Editorial Salesiana. 1970.
44. **HIERONYMUS, J.** *Plantae diaphoricae Florae Argentinae.* Buenos Aires: Library of The New York Botanical Garden.1882
45. **BARDALES, A. YARLEQUÉ, M. RUEDA,L.** Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". En: I Congreso

Internacional de Biología-XIII Congreso Nacional de Biología-VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Resúmenes de Trabajos de Investigación del I Congreso Internacional de Biología-XIII Congreso Nacional de Biología-VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas; 1999

46. **MORALES A.** Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena). Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1973
47. **AUGUSTO, W.** Fraccionamiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis*(muña) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva. Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1975
48. **THONGSON, Davison, Mahakarnchanakul, Weiss.** Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent- extracted spices. *Letters in Applied Microbiology.* 39:401-406.2004
49. **ORTUÑO, M. F.** Manual Práctico de Aceites Esenciales, Aromas y Perfumes. Aiyana, España. 274p. 2006
50. **HIRASA, Takemasa.** Ciencia y Tecnología de las especies. Editorial Acribia, S.S. Zaragoza. España. 241p.2002
51. **ALBANDAR, J.** Chlorhexidine use after two decades of over-the counter availability. *Journal of Periodontology.* 2,109-112.1998
52. **TORRES, M.** La Clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología *Gaceta Médica Espirituana.* 2009
53. **MILSTONE, A; PASSARETTI, C.** Chlorhexidine: Expanding the armamentarium for infection control and prevention. *Clin Infect Dis.*;46: 274-81.2008
54. **LARSON, E; BUTZ, A LAUGHON, B.** Alcohol for surgical scrubbing? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 11:139-43.1990
55. **FARDAL, O. and TURNBULL, R.** A review of the literature on use of chlorhexidine in destistry. *Journal of the American Dental Association* 112,: 863- 869.1986
56. **YANKELL, S; MORENO, O; LOWARY, R y GOLD, W.** Effects of chlorhexidine and four antimicrobial compounds on plaque, gingivitis and stainingin beagle dogs. *J Dent Res.* 61:1089-93.1982
57. **SEQUEIRA CAMPBELL, Carlos.** Art. Acerca de Metronidazol y Clorhexidina en un estudio comparativo en bolsas periodontales. 2008
58. **STEENBERGHE, V; QUIRYNE, M; ROUCHE, W.** Effect Of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol.*2001
59. **ADDY, M; Moran, J; NEWCOMBE, R.** The comparative tea staining potencial of phenolic, chlorexidine and antiadhesive mouthrinses. *J Clín Periodontol.* 1995

60. **BROOKS, G; BUTEL, J; ORNSTON, N.** Microbiología Médica de Jawetz, Melnicky Adelberg. 15º edición. México: Editorial Manual Moderno. 1996
61. **NEGRONI, Martha.** Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 1º edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. pág. 203 – 215. 1999
62. Agencia de cooperación técnica del Perú (ACT) del Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA).

Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo. Perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari (curso regional). Ayacucho (Perú). pág. 237– 246. 1999
63. **OBLITAS, E.** Plantas medicinales en Bolivia: farmacopea Callawayana. 2ª Edición. La Paz: Editorial los amigos del libro. pág. 8. 1998
64. **PATRICIA CAMPOS BEDOLLA.** Biología. 1º Edición pág. 97. 2003
65. **ROGER Y. STANIER, JOHN L. INGRAHAM.** Microbiología. 2ª Edición, pág. 49. 1992
66. Alga agar agar-Botanica online [sede Web]. Publicado: 1999- Disponible en: http://www.botanicalonline.com/agar_agar.htm
67. **WALSH, C.** Antibiotics: Actions, Origins, Resistance, ASM Press: Washington, 2003
68. **ROMERO CABELLO RAUL.** Microbiología y Parasitología Humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias, 3º Edición, pág. 49. 2007
69. **KONEMAN,** Diagnostico microbiológico: 6ta Ed. Médica Panamericana. pág. 163.
70. **CLAVELL, L.; PEDRIQUE de Aulacio.** Microbiología. Manual de Métodos Generales (2da edición). 1992
71. **KELLUM, J.** Disorders of acid-base balance. Crit Care Med; 35:2630–2636. 2007
72. Enfoque Actual de la terapia antibiótica. En: Presencia UPR en la reforma de Salud y Educación Continua para el Médico Primario. 1999

ANEXOS

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS Y PREVOTELLA MELANINOGENICA”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
<p>PROBLEMA GENERAL</p> <p>¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de minthostachys mollis y el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica?</p> <p>PROBLEMAS SECUNDARIOS</p> <p>1. ¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de minthostachys mollis sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica?</p> <p>2. ¿Cuál es la efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Comparar la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de minthostachys mollis y el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica.</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS</p> <p>1. Determinar la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de minthostachys mollis sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica.</p> <p>2. Determinar la efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica.</p>	<p>HIPOTESIS GENERAL</p> <p>Existe diferencia significativa entre la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de minthostachys mollis y el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica.</p> <p>HIPOTESIS SECUNDARIAS</p> <p>H₁: El aceite esencial de Minthostachys mollis tiene una mayor efectividad antibacteriana in vitro en comparación al Gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre Peptostreptococcus anaerobius y Prevotella melaninogenica.</p> <p>H₂: El Gluconato de clorhexidina al 0.12% tiene una mayor efectividad antibacteriana in vitro en comparación al aceite esencial de Minthostachys mollis sobre Peptostreptococcus anaerobius y Prevotella melaninogenica.</p>	<p>V 1: Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de minthostachys mollis sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica.</p> <p>V 2: Efectividad antibacteriana in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre peptostreptococcus anaerobius y prevotella melaninogenica</p>	<p>METODO DE INVESTIGACION</p> <p>Experimental</p> <p>TIPO DE INVESTIGACION</p> <p>El estudio conforme a sus propósitos y naturaleza se ubica como:</p> <p>Experimental, in vitro y de corte transversal</p> <p>POBLACION y MUESTRA</p> <p>Población</p> <p>Bacterias presentes en diversas manifestaciones clínicas y patológicas que tienen repercusión en la cavidad bucal.</p> <p>Muestra</p> <ul style="list-style-type: none"> - Peptostreptococcus anaerobius - Prevotella melaninogenica

ANEXO N° 2.

RECIBO DE COMPRA DEL ACEITE ESENCIA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS

INKA COMEX S.A.C.
Calle Marquez de Monterrico N°151 Dpto. 101 Urb. Portada del Sol
La Molina - Lima - Lima
Telf.: 365-8012 / Cel.: 96941-4648 / RPM: #969414648
E-mail: zuliyrios@inkacomex.com

R.U.C. 20556582182
BOLETA DE VENTA
001- Nº 000365

Señor(es): JOHNSTON BREAÑ SANCHEZ CUETA DIA 16 MES 02 AÑO 16

Dirección: D.I.:

CANT.	DESCRIPCION	P.UNIT.	IMPORTE
01	Aceite de Menta x 10 ml TATAMAYUBA	30.00	30.00

TALLER GRAFICO VIGRAFSA
De: Villa Rosco Giovanna Milagros
RUC: 10409898721 TELF: 250-0884
Serie 0001 del 00101 al 00600
Aut. N° 11062701023 F. Imp. 18/10/2014

Zuliyrios
CANCELADO

TOTAL S/ 30.00

USUARIO

ANEXO N° 3.

CERTIFICADO DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTOSTHACHYS MOLLIS

 ASOCIACIÓN SEMPA <small>Servicios Empresariales Porfirio Astete</small>	 florvital
CERTIFICADO	
<p>La responsable de producción de aceites esenciales de la marca registrada Florvital, perteneciente a la Asociación SEMPA, con razón social en el distrito de Andahuaylillas, departamento del Cusco, hace constar que el producto Florvital, denominado "Aceite esencial de muña" es aceite esencial 100 % puro (sin ningún aditivo) y que está elaborado de la especie de planta <i>Minthostachys mollis</i>.</p>	
<p>La clasificación taxonómica es la siguiente:</p>	
<p>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA CLASE: MAGNOLIOPSIDA SUBCLASE: ASTERIDAE ORDEN: LAMIALES FAMILIA: LAMIACEAE GENERO: <i>Minthostachys</i> ESPECIE: <i>Minthostachys mollis</i></p>	
<p>Nombre vulgar: "muña" Se extiende la siguiente constancia a solicitud del interesado, para fines de estudio.</p>	
<p>Andahuaylillas, 9 de febrero del 2016</p>	
 Meritzell Oms Arias Bióloga Responsable de producción FLORVITAL	
<p>Calle Garcilaso 707 Andahuaylillas Quispicanchi-Cusco 084-307211 asociacionsempa@gmail.com</p>	

ANEXO N° 4.

CERTIFICADO DE CEPA:

PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS

Microbiologics®
 Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Peptostreptococcus anaerobius Catalog Number: 0322 Lot Number: 322-19 Reference Number: ATCC® 27337™ Purity: < 0.1% Total Pile CFU Recovery: > 1000 CFU/g per Pallet Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2017/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kestha L. Nogen Release Date: 2015/6/15
---	--

Performance

Macroscopic Features: Small, gray to white, circular colonies Microscopic Features: Small gram positive cocci ID System: Vitek ANC (1) See attached ID System results document.	Medium: A/R SSAP Method: Gram Stain (1)
--	--


 Brad Goskowitz, President
 AUTHORIZED SIGNATURE

Customer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packaging slip is merely a packaging asset number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.
 Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique composition of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.
 Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.
 (1) The ATCC Licensed Developer (Logan), the ATCC Licensed Developer word mark and the ATCC logo are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. It is licensed to use these trademarks and its cell products derived from ATCC® cultures.
 (2) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



 TESTING CERT #2605-01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC 296

MicroBiologics

BioReference Customer: 05871 Laboratory Report Printed Jun 15, 2015 11:33 CDT
 System #: C21105 Printed by: kh Report Version: 1 of 1
 Isolate Group: 322 79-1 Bench: KN
 Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A6D6328 (1116)

Bionumber: 020000000003
 Organism Casualty:

Comments:

Identification Information Card: ANC Completed: Jun 11, 2015 19:58 CDT Lot Number: 244351510 Status: Final Expires: Jul 29, 2016 13:00 CDT Analysis Time: 6.00 hours	Selected Organism 99% Probability Bionumber: 020000000003 Peptostreptococcus anaerobius Confidence: Excellent Identification
---	--

SRF Organism
 Analysis Organisms and Tests to Separate:
 Analysis Messages:
 Contradicting Typical Biopattern(s)

4	AGAL	5	LeuA	6	ELLM	7	PheA	8	ProA	10	PyrA	-
11	ACEL	13	TyrA	15	APPA	18	dGLU	20	GMNE	22	GMAL	-
28	SAC	30	AFB	33	NAG	34	BGLU	36	URE	37	BGUR	-
39	BGALJ	41	AARA	42	AGALJ	43	BMAN	44	AFG	45	PVATE	-
51	MTE	53	ESC	54	BGFUC	55	BNAGI	56	AMANI	57	AFUC	-
59	PHOS	60	AARA	61	RFIB2	62	OPS	63	AARAF	64	SKYL	-
	GRAM	+	MORPH	+	AERO	-						-

Installed VITEK 2 System Version: 07.01 Therapeutic Interpretation Guideline:
 MIC Interpretation Guideline:
 AES Parameter Set Name: AES Parameter Last Modified:
 Page 1 of 1

ANEXO N° 5.

CERTIFICADO DE CEPA:

PREVOTELLA MELAMINOGENICA

Microbiologics®
 Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Prevotella melaninogenica</i> Catalog Number: 0110 Lot Number: 110-24 Reference Number: ATCC® 25845™ Purity: ~ 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2017/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2015/6/12
---	---

Performance

Macroscopic Features:
 More than one colony types may be present. The predominant type is medium to large, circular, convex, entire edge (edge may spread), tan, smooth and opaque. Another is medium to large, circular, convex, tan, and also a brown, larger, convex colony type, which may be circular or irregular in shape; may be seen. All are beta hemolytic.

Medium:
 A/R SBAP

Microscopic Features:
 Gram negative coccobacillus to short bacillus

Method:
 Gram Stain (1)

ID System: Vitek ANC (1)
 See attached ID System results document.


 Brad Goskowitz, President
 AUTHORIZED SIGNATURE

Customer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packaging is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.
 Note for Vitek®: Although the Vitek panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.
 Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and biosecurity information.
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.
 (1) The ATCC Licensed Derivative System, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. or licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC cultures.
 (2) These tests are accredited to ISO/IEC 17020:2005.



 TESTING CERT #2635.01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.288

Microbiologics
Laboratory Report

bioMérieux Customer: 05871 Printed Jun 3, 2015 16:02 CDT
 System #: C21105 Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 110 24-1 Bench: CC

Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A606328 (1116)

Bionumber: 0040003005100
 Organism Quantity:

Comments:

Identification Information	Card: ANC	Lot Number: 244351510	Expires: Jul 29, 2016 13:00 CDT
	Completed: Jun 2, 2015 20:38 CDT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours

Selected Organism
 99% Probability *Prevotella melaninogenica*
 Bionumber: 0040003005100 Confidence: Excellent identification

SRP Organism

Analysis Organisms and Tests to Separate:

Analysis Messages:

Contradicting Typical Biopattern(s)

	4	5	6	7	8	9	10	11
4	MAL	LeuA	ELM	PhaA	PhaA	PhaA	PhaA	PhaA
11	MCL	TPA	APP	ACL	UMN	UMN	UMN	UMN
28	SAC	ARB	NAG	BGL	URE	URE	URE	URE
39	BAL	ARA	AGL	BMAN	ARG	ARG	ARG	ARG
51	MTE	ESC	BIF	BIN	AMN	AMN	AMN	AMN
59	PHOS	ARA	ARB	OPS	AAR	AAR	AAR	AAR
GRAM	MORPH	AERO						

Installed VITEK 2 Systems Version: 07.01 Therapeutic Interpretation Guidelines:
 MIC Interpretation Guideline: AES Parameter Last Modified:
 AES Parameter Set Name: AES Parameter Last Modified:

Page 1 of 1

ANEXO N° 6.

COMPOSICION DEL AGAR SCHAEGLER



Technical Data

Schaedler Agar M291

Schaedler Agar is used for the enumeration of various aerobic and anaerobic bacterial species present in the gastrointestinal tract.

Composition**

Ingredients	Gms / Litre
Casein enzymic hydrolysate	5.670
Proteose peptone	5.000
Papaic digest of soyabean meal	1.000
Yeast extract	5.000
Dextrose	5.830
Sodium chloride	1.670
Dipotassium hydrogen phosphate	0.830
Tris hydroxymethyl aminomethane	3.000
L-Cystine	0.400
Hemin	0.010
Agar	15.000
Final pH (at 25°C)	7.6±0.2

**Formula adjusted, standardized to suit performance parameters

Directions

Suspend 43.41 grams in 950 ml distilled water. Heat to boiling with frequent agitation to dissolve the medium completely. Sterilize by autoclaving at 15 lbs pressure (121°C) for 15 minutes. Cool to 45-50°C and add 5% sterile defibrinated blood if desired. Mix well before dispensing. Avoid overheating and photooxidation of the medium, as it will retard the growth of bacteria.

If desired, add rehydrated contents of 1 vial each of Vitamin K1 Supplement (FD114) and CNA Supplement (FD115) to prepare Schaedler CNA Agar or to prepare Schaedler KV Agar, aseptically add rehydrated contents of 1 vial each of Vitamin K1 Supplement (FD114) and KV Supplement (FD116) respectively to 1000 ml of Schaedler Agar.

Principle And Interpretation

Schaedler Agar was originally formulated by Schaedler et al (1) and further modified by Mata et al (2) with formulation changes (3) for cultivation and enumeration of aerobic and anaerobic microorganisms. Schaedler Agar supplemented with Vitamin K1 and 5% sheep blood is used for the recovery of fastidious anaerobic bacteria such as *Bacteroides*. Inclusion of Colistin and Nalidixic acid in the formulation (Schaedler CNA Agar) along with 5% sheep blood is used for the selective isolation of the anaerobic gram-positive cocci (4), *Peptococcus* and *Peptostreptococcus* species. Inclusion of Kanamycin and Vancomycin in the formulation (Schaedler KV Agar) along with 5% sheep blood is used for selective isolation of gram-negative anaerobes.

Schaedler Agar serve as an excellent basal media to which blood or other enrichments can be added to enhance the recovery of fastidious anaerobic organisms.

The combination of casein enzymic hydrolysate, proteose peptone and papaic digest of soyabean meal, Yeast extract and Lcystine provide nitrogenous growth factors, vitamins and other essential growth nutrients.

Dextrose serves as energy source. Hemin and sheep blood stimulates the growth of fastidious microorganisms and stimulates growth of other *Bacteroides* species and gram-positive spore formers (5).

Addition of Sodium Polyanethol Sulphonate (SPS) is recommended when using this medium for blood culture (6). It inhibits phagocytosis and neutralizes the antibacterial activity of fresh blood components (7,8).

Vitamin K1 enables the cultivation of *Bacteroides melaninogenicus* (9) and stimulates growth of other *Bacteroides* species and gram-positive spore formers (5).

Appearance

Cream to yellow homogeneous free flowing powder

Gelling

Firm, comparable with 1.5% Agar gel

Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slightly opalescent gel forms in Petri plates

Reaction

Reaction of 4.34% w/v aqueous solution at 25°C. pH : 7.6±0.2

pH

7.40-7.80

Cultural Response

Cultural characteristics observed after an incubation at 35-37°C for 18-48 hours under anaerobic condition.

Storage and Shelf Life

Store below 30°C in tightly closed container and the prepared medium at 2-8°C. Use before expiry date on the label.

Reference

1. Schaedler R.W., Dubos R. and Castello R., 1965, J. Exp. Med., 122:59.
2. Mata L.J., Carrillo C. and Villatoro E., 1969, Appl. Microbiol., 17:596.
3. MacFaddin J., 1985, Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria, Vol.I, Williams and Wilkins, Baltimore.
4. Estevez, 1984, Lab Med., 15:258.
5. Finegold et al, 1974, Manual of Clinical Microbiology, 2nd ed., Lennette and others (Eds.), ASM, Washington, D.C.
6. Rosner, 1968, Am. J. Clin. Pathol., 49:216.
7. Garrod, 1966, J. Pathol. Bacteriol., 91:621.
8. Lowrence and Traub, 1969, Appl. Microbiol., 17:839.
9. Gibbons R. J. and MacDonald J. B., 1960, J. Bacteriol., 80:164.

ANEXO N° 7.

CERTIFICADO DE LA COMPRA DEL AGAR SCHAEGLER

HIMEDIA Certified: ISO 9001:2008, ISO 13485:2003 and WHO G

Himedia Laboratories Private Limited
23, Vaidhyan Industrial Estate, E. B.S. Marg, Mumbai - 400066
Website: www.himedialabs.com, Email: info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M291	Material Name : Schaefer Agar	Lot No : 0000247369
Report No.: 04000060430	Date of Report : 02.11.2015	Expiry Date : Oct-2019

Appearance
Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

Gelling
Firm, comparable with 1.5% Agar gel

Colour and Clarity of prepared medium
Light amber coloured clear to slightly opalescent gel forms in Petri plates

Reaction
Reaction of 4.34% w/v aqueous solution at 25°C.

pH
pH Range (7.40-7.80 Observed : 7.78

Cultural Response
Cultural characteristics observed after an incubation at 35-37°C for 18- 48 hours under anaerobic condition.

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Recovery
Cultural Response			
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	50-100	luxuriant	~>50%
<i>Clostridium butyricum</i> ATCC 25262	50-100	luxuriant	~>50%
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 25264	50-100	luxuriant	~>50%
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 25267	50-100	luxuriant	~>50%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	~>10 ⁶	inhibited	0%
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 25961	50-100	luxuriant	~>50%

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :
For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

All ISO 11133 : 2014 (E) control strains are included in the Quality parameter
Himedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001-2008, ISO 13485-2003 and WHO GMP.

Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH <= 7.0 and/or a temperature in excess of 73°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform

PARP

MicroBiologics
Laboratory Report

BioMerieux Customer: 05871 Printed Jun 3, 2015 16:02 CDT
System #: C21105 Report Version: 1 of 1

Isolate Group: 110 24-1 Bench: CC

Card Type: ANC Testing Instrument: 0000AGD6328 (1116)

Biomarker: 0040003005100
Organism Quantity:

Comments:

Identification Information	Card: ANC	Lot Number: 244351510	Expires: Jul 29, 2016 13:00 CDT
	Completed: Jun 2, 2015 20:38 CDT	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours

Selected Organism
99% Probability: *Prevotella melaninogenica*
Biomarker: 0040003005100 Confidence: Excellent identification

SRF Organism

Analysis Organisms and Tests to Separate:

Analysis Messages:

Contraindicating Typical Biopattern(s)

Biochemical Details											
4	BGL	5	URA	6	ELLM	7	PheA	8	PheA	10	PyA
11	BGL	13	TyrA	15	APPA	18	dGLU	20	IMNE	22	dMAL
26	SAC	30	AFB	33	NAG	34	BGLU	36	URE	37	BIUFR
39	BGL	41	AAFA	42	AGAJ	43	BMAN	44	ARG	45	PVATE
51	MTE	53	ESC	54	BdFUC	55	BNAG	56	AMANI	57	AFUC
59	PHOS	60	ARA	61	dRIB2	62	OPS	63	AAATAF	64	dXYL
	GRAM		MORPH	7	AERO						

Installed VITEK 2 Systems Version: 07.01
MIC Interpretation Guidelines: Therapeutic Interpretation Guidelines
AES Parameter Set Name: AES Parameter Last Modified

Page 11

ANEXO N° 8.

SOLICITUD DE PERMISO DE LABORATORIO

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



Pueblo Libre, 6 de Abril del 2015

Dra. CARMEN AQUIJE BAPOZZO
Jefa De Laboratorio de la UAP


14 ABR. 2015

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a el Bachiller **SANCHEZ CUETO JOHNSTON** con código **2009146880**, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud -Universidad Alas Peruanas, quien necesita recoger información en la el área que usted dirige y que pueda usted permitir realizar el trabajo de investigación (tesis).

TÍTULO: "ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO ENTRE EL ACEITE ESCENCIAL DE MINTHSTACHYS MOLLIS Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAEROBIUS Y PREVOTELLA MELANINOGENICA"

A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde a la presente.

Atentamente,


Dr. MIRIAM DEL ROSARIO PASQUEZ SEGURA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

ANEXO N° 9.

CERTIFICADO DE LABORATORIO



CERTIFICACION

La que suscribe Mg. Carmen Aquije Dapozzo Coordinadora del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, certifica que el Sr. Johnston Brean Sánchez Cueto Bachiller de la Carrera Profesional de Estomatología, realizó la parte experimental de su trabajo de investigación con el título: Estudio comparativo de la efectividad antibacteriana in vitro entre el aceite esencial de *minthostachys mollis* y gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *peptostreptococcus* y *prevotella melaninogenica* en las instalaciones de nuestro laboratorio del 6 de Abril hasta el 15 de Abril.

Se expide la presente certificación para los fines pertinentes.

Atte

UAP | UNIVERSIDAD
ALAS PERUANAS
Mg. CARMEN AQUJE DAPOZZO
Jefe de Laboratorio Central
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ANEXO N° 10.

PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD

1. RECEPCION DE CEPAS (MANTENER REFRIGERADAS DE 2 - 6⁰)
2. IMPLEMENTOS PARA EL OPERADOR (MASCARILLA N° 95, GORRO, MANDIL, LENTES Y GUANTES).
3. PREPARACION DEL MEDIO A TRABAJAR.
4. SE COMIENZA A TRABAJAR LAS CEPAS (SIGUIENDO LAS INSTRUCCIONES DEL FABRICANTE "Kwik –Stick™").
5. UNA VEZ TERMINADO DE USAR LAS CEPAS, SE PROCEDE A DESECHAR EL SOBRE Y EL ENVASE EN UN RECIPIENTE PREVIAMENTE ROTULADO.
6. UNA VEZ OBTENIDO LOS RESULTADOS DE LAS PACAS SE PROCEDE A SU AUTOCLAVADO Y ELIMINACION CORRESPONDIENTE.

ANEXO N°11.

MATERIA PRIMA PARA LA INVESTIGACION.

**PREVOTELLA
MELAMINOGENICA**



**PEPTOSTREPTOCOCCUS
ANAEROBIUS**



**ACEITE ESENCIAL DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS**



**GLUCONATO DE CLORHEXIDINA
AL 0.12%**

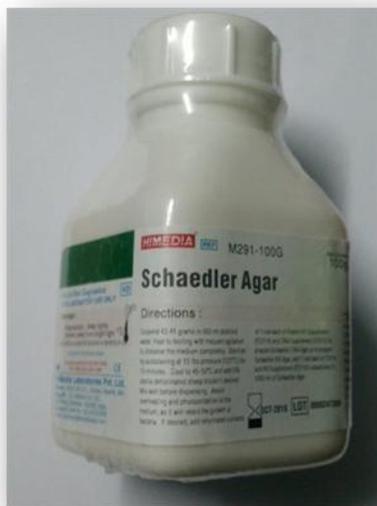


MATERIAL DE TRABAJO.



MATERIAL DE TRABAJO.

PLACAS DE AGAR SCHAEGLER



REACTIVACION DE LAS CEPAS



1. Se abre el sobre



2. Se retira del sobre



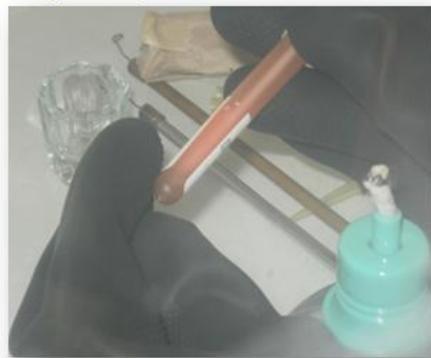
3. Retirar el sticker del centro del envase y colocarlo en la placa petri



4. Hacer presión en la parte superior del envase hasta romper la ampolla.



5. Inclinar el envase para que el líquido llegue a la parte inferior.



6. Retirar el hisopo del envase.



7. Realizar el sembrado en la placa.



8. Se realizar nuevamente el procedimiento anterior para la nueva cepa.



**Uso del aceite esencial de
Menthostachys mollis.**



**Uso de la micro pipeta para usar la
cantidad necesaria.**



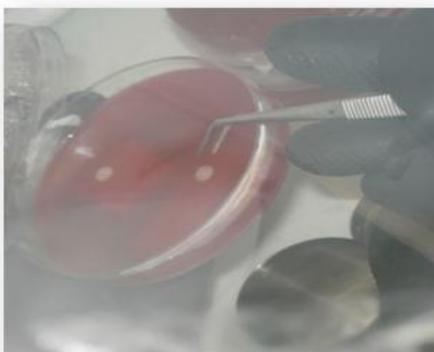
Desenvolver las pinzas.



Uso de los discos.



**Colocación de los discos en el medio
de cultivo.**



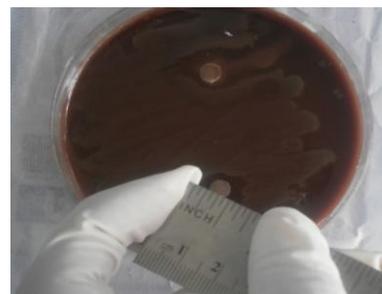
**Colocación de las placas en el medio
de anaerobiosis.**



PLACA PREVIAMENTE ROTULADA...



Medición de los halos



GLOSARIO

AEROBIO: Son aquellos microorganismos que pueden desarrollarse en presencia de oxígeno.⁶⁴

ANAEROBIO: Son aquellos que no utilizan oxígeno en su metabolismo, lo realizan mediante la fermentación.⁶⁵

AGAR: Es un polisacárido de galactosa y galactomanano que se obtiene de algas rojas (echema, gelidium, gracilaria). Poseen un tallo de color rojizo y son muy ricas en mucilagos.⁶⁶

ANTIBIÓTICO: Son compuestos naturales sintéticos que son capaces de inhibir el crecimiento o llevar a la muerte de bacterias u hongos. Se clasifican como bactericidas o bacteriostáticos.⁶⁷

BACTERICIDA: Es aquel fármaco que destruye microorganismos dentro de un huésped.⁶⁸

BACTERIOSTATICO: Es aquel producto que inhibe el crecimiento de los microorganismos dentro de un individuo.⁶⁸

CEPA BACTERIANA: Se deriva de un único microorganismo aislado en cultivo.⁶⁹

MEDIO DE CULTIVO: Es un sustrato o una solución de nutrientes que va permitir el desarrollo de un microorganismo.⁷⁰

pH: Potencial de hidrógeno, es una medida convencional que permite expresar la concentración de iones hidrógeno de manera simplificada.⁷¹

RESISTENCIA BACTERIANA: Es una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida, por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico.⁷²

