



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

TESIS

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE  
MINTHSTACHYS MOLLIS (Muña) COMPARADO CON EL  
ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (Romero) EN  
CONCENTRACIÓN 50 Y 100% SOBRE CEPAS DE  
ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA. 2018.

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:  
BACHILLER DINA BORDA GAMARRA

ASESOR:  
MG. IDALUZ VICTORIA FLOREZ SUCLLA

AREQUIPA, PERÚ  
ABRIL 2019

## DEDICATORIA

A las personas que me acompañaron durante todo el periodo de estudio, en especial a mi madre Juana Miranda Aguilar por su cariño, ayuda y comprensión, mi padre Santos Borda Miranda y a Rufina Borda Miranda por su perseverancia Y ejemplo, por sus consejos que día a día nunca rendirme a pesar de las dificultades de la vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todo poderoso quien me ilumina y me guía en el camino de preparación profesional, por acompañarme siempre y ser mi refugio.

A mi asesora Mg. Idaluz Victoria Florez Suclla Docente de la Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad Alas Peruanas Filial\_ Arequipa, quien me brindo asesoría durante todo el periodo de la investigación hasta la culminar la tesis.

Al Blgo Leoncio Mariño Herrera Director del laboratorio de Biología Celular 102 B de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; por permitirme ejercer mi proyecto de investigación en el área de laboratorio.

AL Blgo Alex Paul dueñas Gonza Docente del laboratorio de Biología Celular 102 B de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; gracias por la paciencia, tolerancia y entusiasmo por todo en cuanto a los procedimientos microbiológicos.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación de tipo experimental, IN VITRO tuvo como objetivo el efecto antibacteriano del aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración de 50 y 100 % sobre cepas *Enterococcus faecalis*, se realizó la preparación de los aceites esenciales de (Muña) y (Romero) mediante el equipo de soxhlet; posteriormente se procedió a la activación de la cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante el uso del caldo BHI (Brain Heart Infusion) y el agar base sangre. Luego se procedió a preparar las diluciones de los aceites esenciales de (Muña) y (Romero) al 50 y 100% utilizando el método de difusión en discos que se utilizaron 20 placas Petri con agar base sangre donde se sembraron las cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a temperatura de 37 °C. Se añadieron las diluciones de Muña y Romero y se procedió a evaluar las placas midiendo el halo de inhibición a las 24 y 48 horas utilizando una regla milimetrada. Resultados: para el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” a la concentración de 50% a las 24 horas tuvo un halo inhibición de 14.72 mm, y a las 48 horas de 14.65 mm; con respecto al concentración de 100%, a las 24 horas el halo inhibición fue de 23.99 mm, y a las 48 horas de 23.57 mm; para el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” a la concentración de 50% a las 24 horas tuvo un halo inhibición de 10.62 mm, y a las 48 horas de 10.49 mm; y respecto al concentración de 100% a las 24 horas el halo inhibición fue de 14.94 mm y a las 48 horas de 14.82 mm. Conclusión: el efecto antibacteriano el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” fue mayor en comparación con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” al 100% a las 24 horas con un halo de sensibilidad de 23.99 mm sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

**Palabra clave:** Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” en concentración de 50 y 100% sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*.

## ABSTRACT

The aim of this experimental research work, IN VITRO, was to compare the antibacterial effect of the essential oil of *Minthostachys mollis* (Muña) and of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Romero) at 50 and 100% concentration on strains and *Enterococcus faecalis* ". The preparation of the essential oils of (Muña) and (Romero) was carried out by the soxhlet team; Subsequently, the activation of the *Enterococcus faecalis* strains "ATCC 29212 was carried out, using the BHI (Brain Heart Infusion) broth and the blood-based agar. Then proceeded to prepare the dilutions of the essential oils of (Muña) and (Romero) to 50 and 100% using the disc diffusion method that were used 20 Petri plates with blood agar where the strains were seeded *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 at a temperature of 37 ° C. The dilutions of Muña and Romero were added and the plates were evaluated by measuring the inhibition halo at 24 and 48 hours using a millimeter ruler. Results: for the essential oil of *Rosmarinus officinalis* "Romero" at the concentration of 50% at 24 hours had a halo inhibition of 14.72 mm, and at 48 hours of 14.65 mm; with respect to the 100% concentration, at 24 hours the inhibition halo was 23.99 mm, and at 48 hours, 23.57 mm; for the essential oil of *Minthostachys mollis* "Muña" at the concentration of 50% at 24 hours had an inhibition halo of 10.62 mm, and at 48 hours of 10.49 mm; and regarding the concentration of 100% at 24 hours, the inhibition halo was 14.94 mm and at 48 hours, 14.82 mm. Conclusion: the antibacterial effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* "Romero" was higher in comparison with the essential oil of *Minthostachys mollis* "Muña" at 100% at 24 hours with a sensitivity halo of 23.99 mm over strains of *Enterococcus faecalis*.

**Key word:** Antibacterial effect of the essential oil of *Minthostachys mollis* "Muña" compared with the essential oil of *Rosmarinus officinalis* "Romero" in 50 and 100% concentration on the *Enterococcus faecalis* strains.

# ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
RESUMEN .....	III
ABSTRACT .....	IV
INTRODUCCIÓN .....	XII
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>1</b>
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA .....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.3.1. Objetivo general.....	2
1.3.2. Objetivos específicos .....	2
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.4.1. Importancia .....	3
1.4.2. Viabilidad de la Investigación.....	4
1.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO .....	5
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
2.1.1. Antecedentes Internacionales.....	6
2.1.2. Antecedentes Nacionales .....	7
2.1.3. Antecedentes locales.....	8
2.2. BASES TEÓRICAS .....	9
2.2.1. Muña.....	9
2.2.1.1. Descripción General .....	9
2.2.1.2. Taxonomía .....	10
2.2.1.3. Descripción Geográfica.....	10
2.2.1.4. Descripción Botánica .....	10
2.2.1.5. Composición Química.....	10
2.2.1.6. Mecanismo de acción .....	12
2.2.1.7. Efecto Antimicrobiano .....	12
2.2.2. Romero.....	12

2.2.2.1. Historia.....	12
2.2.2.2. Taxonomía .....	13
2.2.2.3 Distribución Geográfica .....	13
2.2.2.4. Descripción Botánica .....	13
2.2.2.5. Composición Química.....	14
2.2.2.6. Mecanismo de Acción.....	15
2.2.2.7. Actividad Antibacteriano .....	16
2.2.3. Enterococcus Faecalis.....	16
2.2.3.1. Historia.....	16
2.2.3.2. Enterococcus faecalis.....	16
2.2.3.3. Características.....	17
2.2.3.4. Taxonomía.....	18
2.2.3.5. Morfología.....	18
2.2.3.6. Patologías.....	18
2.2.3.7. Diagnóstico .....	23
2.2.3.8. Tratamiento.....	24
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	25
<b>CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>26</b>
3.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS .....	26
3.1.1. Hipótesis Principal .....	26
3.1.2. Hipótesis Derivada.....	26
3.2. VARIABLES; DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL .....	27
<b>CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA .....</b>	<b>28</b>
4.1. DISEÑO METODOLÓGICO .....	28
4.2. DISEÑO MUESTRAL.....	29
4.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	29
4.4. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	30
4.5. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	34
4.6. ASPECTOS ÉTICOS .....	34

<b>CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	35
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO .....	35
5.2 ANÁLISIS INFERENCIAL.....	49
5.3. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	51
5.4. DISCUSIÓN .....	53
CONCLUSIONES.....	57
RECOMENDACIONES .....	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
ANEXOS .....	66
<b>ANEXO N° 1: FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS</b> .....	66
<b>ANEXO N° 2: MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN</b> .....	68
<b>ANEXO N° 3: DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA</b> .....	70
<b>ANEXO N° 4: OBTENCIÓN, SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL, ESTABILIZACIÓN, TRITURACIÓN EMPAQUETADO DEL VEGETAL DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> “ROMERO”</b> .....	74
<b>ANEXO N° 5: OBTENCIÓN, SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL, ESTABILIZACIÓN, TRITURACIÓN, EMPAQUETADO DEL VEGETAL DE <i>MINTHOSTACHYS MOLLIS</i> “MUÑA”</b> .....	75
<b>ANEXO N° 6: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS ACEITE ESENCIAL</b> .....	76
<b>ANEXO N° 7: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS ACEITE ESENCIAL MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOXHLET PARA EL ACEITE ESENCIAL <i>MINTHOSTACHYS MOLLIS</i> “MUÑA</b> .....	77
<b>ANEXO N°8: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN</b> .....	78
<b>ANEXO N°9: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL MATERIAL MICROBIOLÓGICO</b> .....	79
<b>ANEXO N° 10: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM) DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> “ROMERO” Y <i>MINTHOSTACHYS MOLLIS</i> “MUÑA”</b> .....	82
<b>ANEXO N° 11: DETERMINACIÓN DE HALO INHIBICIÓN PREPARACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> “ROMERO”</b> .	84

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA N° 1</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	35
<b>TABLA N° 2</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	37
<b>TABLA N° 3</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	39
<b>TABLA N° 4</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	41
<b>TABLA N° 5</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> a las 24 horas y 48 horas de aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” y <i>Minthostachys mollis</i> “Muña”, sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	43
<b>TABLA N° 6</b> : Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	47
<b>TABLA N° 7</b> : Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	48

**TABLA N° 8** : Prueba de Análisis de Varianza para comparar la actividad antibacteriana *IN VITRO* de las concentraciones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” a las 24 y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.... 49

**TABLA N° 9** : Prueba T de Student para comparar la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% con las concentraciones de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ..... 50

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>GRÁFICO N° 1</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	36
<b>GRÁFICO N° 2</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	38
<b>GRÁFICO N° 3</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	40
<b>GRÁFICO N° 4</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	42
<b>GRÁFICO N° 5-A</b> : Actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> de los aceites esenciales de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” y <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” a las 24 y 48 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> . .....	44
<b>GRÁFICO N° 5-B</b> : Prueba de comparación múltiple TUKEY de la actividad antibacteriana <i>IN VITRO</i> entre los aceites esenciales de <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero”, <i>Minthostachys mollis</i> “Muña” y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	45

**GRÁFICO N° 5-C** : Prueba de comparación múltiple TUKEY de la actividad antibacteriana *IN VITRO* entre los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, *Minthostachys mollis* “Muña” y Clorhexidina 0.12 % a las 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis* .....

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, hay un interés grande por realizar investigaciones con nuevas formas terapéuticas para prevenir la periodontitis que es una enfermedad Inflamatoria que afecta a los tejidos, con patogénesis compleja que incluyen microorganismos como el *Enterococcus faecalis* anaerobios y puede crecer en medios donde existe poca cantidad de oxígeno y deficiencia de nutrientes con capacidad de formar biopelículas entre microorganismos de su misma especie u otros microorganismos<sup>(2)</sup>

Ante esta problema se busca nuevas alternativas de tratamiento que ayuden a mejorar en la enfermedad periodontal, se valora por el interés en especies vegetales que contengan una actividad antimicrobiana; actualmente se emplean como es el uso del aceite esencial de (Romero) y (Muña), plantas de la sierra del Perú por sus usos ampliamente utilizados en diferentes regiones del país, se debe principalmente por sus propiedades y componentes que actúa principalmente dentro de la estructura de pared celular que interviene en la fase de metabolismo de los microorganismos.<sup>(3)</sup>

Los aceites esenciales son de gran utilidad de diversas maneras como en productos farmacéuticos por presentar una variedad de propiedades. Así como podemos mencionar el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) es una planta que viene desde la época prehistórica como medicinas, que producen compuestos fitoquímicos presentes en principios activos y propiedades antibacteriano sobre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas;<sup>(4)</sup> contiene componentes Terpenoides, Fenólicos, flavonoides y Alcaloides, Taninos.<sup>(5)</sup> *Minthostachys mollis* (Muña), es una planta oriunda de la sierra Peruana que se utiliza comúnmente como antioxidante, antifúngica, antimicrobiana; y componentes principalmente por monoterpenos como: mentona, pulegona, carvacrol, limoneno, isomentona, mentol y eucaliptol; y de los cuales el carvacrol es el más resaltado por poseer mayor potencial actividad antimicrobiana<sup>(6)</sup>

# CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta al periodonto, que son tejidos, ligamento, huesos que rodean los dientes. (7) Según la OMS del 15% al 20% de adultos presentan periodontitis, en cuya etiología está presente el *Enterococcus faecalis* (8) que se colonizan el área supra y subgingival el cual ocurre formación de las bolsas periodontales en donde la encía se empieza a separarse del diente y como las bacterias nocivas siguen creciendo en estos espacios la infección se extiende y causa daño en el hueso y estructuras alrededor de los dientes, provocando finalmente la pérdida de piezas dentarias. (9)

El *Enterococcus faecalis* es un patógeno oportunista de la cavidad oral, anaerobio facultativo, Gram positivo, y fermenta la glucosa sin producir gas no esporulado que se encuentra en pares o cadenas, que pueden causar endocarditis bacteriana y bacteremias. el tamaño de cada célula mide entre 0,5 y 0,8 micrómetros, comúnmente aislada en infecciones orales asociada a canales radiculares, abscesos perirradiculares y enfermedad periodontal y tiene la capacidad de soportar condiciones adversas como la falta de nutrientes hasta por 4 meses, utilizando como fuente de nutrientes el fluido crevicular gingival y el hueso adyacente y se caracteriza por sobrevivir en ambientes que puede ser tóxicos para otras bacterias. (10)

En la actualidad, hay un interés muy importante por realizar investigaciones para disminuir las enfermedades de la cavidad oral. los aceites esenciales como tratamiento farmacológicos en la actualidad se orientan hacia las plantas medicinales que han adquirido gran importancia, entre ellos el *Rosmarinus officinalis* (Romero) es una planta que se caracteriza por poseer principios activos de acción antibacteriano natural sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (11) y el *Minthostachys mollis* (Muña) es una planta que se caracteriza por poseer principios activos que exhiben una acción antibacteriano. (12)

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) será mayor comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas?

## **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.3.1. Objetivo general**

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sobre cepas *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en concentración 50 y 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.
- Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial *Rosmarinus officinalis* (Romero) y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en concentración 50 y 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

## 1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.4.1. Importancia

Las plantas naturales en la medicina tradicional han sido utilizadas como tratamiento terapéutico desde tiempos prehistóricos. En la actualidad es muy poca información de las plantas que apor to al campo Odontológico; la importancia del presente investigación radica en el uso de plantas en la enfermedad periodontal, así mismo, basándose en estudios de investigación, por lo que se plantea la preparación de aceites esenciales de Romero y Muña para determinar el efecto antibacteriano natural sobre el *Enterococcus faecalis*.

El presente trabajo de investigación se realiza con el objetivo de ampliar la visión sobre plantas naturales que servirá para evaluar y demostrar si estos insumos naturales de Romero y Muña extraídos de dos plantas milenarias del Perú, son efectivas contra el *Enterococcus faecalis* y más aún saber cuál de las dos plantas tiene un mayor efecto antibacteriano, que beneficiarán a los pacientes, puesto que será más accesible por su valor económico reducido en el campo odontológico se utilizará por tener beneficios naturales con menos posibilidades de fracaso con mayor confiabilidad y se le indicaría a sus pacientes para tratamiento de enfermedad periodontal.

Si demostramos que ambas plantas o una de ellas tiene el efecto antibacteriano, se basara en la utilización de una nueva sustancia se llevara a emplear para medicación con un producto derivado de las plantas autóctonas del Perú que se utilizaría para tratamiento de enfermedad periodontal asociada a presencia de *Enterococcus faecalis*, para mejorando la salud periodontal de los pacientes.

### **1.4.2. Viabilidad de la Investigación**

La investigación es viable puesto que se cuenta con los recursos necesarios.

#### **A. Recursos Humanos**

Investigadora: Bachiller. Dina Borda Gamarra.

Asesora: Mg. Idaluz Victoria Florez Suclla.

#### **B. Recursos Financieros**

La presente investigación será financiada en su totalidad por la investigadora.

#### **C. Materiales de Laboratorio**

- Soporte
- Refrigerante de bolas o serpentín
- Licuadora
- Vaso de precipitado
- Agua destilada
- Recipientes
- Estufa
- Balanza
- Pipetas
- Pinzas estériles
- Placas Petri
- Puntas para micropipeta
- Probetas
- Refrigeradora
- Balón de fondo plano
- Microscopio
- Asa de kolle

- Guantes
- Mascarillas
- Gorras
- Regla venier

#### **D. Materiales Insumos**

- Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña).
- Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero).
- Cepa de *Enterococcus faecalis*.
- Medios de cultivo enriquecidos Agar base sangre.
- Caldo BHI (Brain Heart Infusion).

#### **E. Recursos Institucionales**

- Laboratorio: Universidad Nacional de San Agustín Escuela Profesional de Biología.

### **1.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO**

La presente investigación no tuvo limitaciones, puesto que es IN VITRO, por lo tanto, si hubiera cualquier tipo de error o falla en el proceso o medición de los datos, se podrían repetir, los protocolos aplicados.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

#### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

Gaje Sierra Alexis Iván. **“EFECTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (TIPO) AL 25, 50, 100 % FRENTE A PORPHYROMONAS GINGIVALIS ESTUDIO IN VITRO. ECUADOR. 2016”**. El propósito de esta investigación fue determinar la actividad antibacteriana de *Minthostachys mollis* frente a la *Porphyromonas gingivalis* que es uno de los principales periodontopatógenos. Se elaboró un aceite esencial utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, obteniendo 10ml. luego del procedimiento, el mismo que fue diluido para obtener tres concentraciones al 25%, 50% y 100%, se utilizó Clorhexidina al 0,12% como control positivo y agua destilada como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad IN VITRO se concluyó que la efectividad antibacteriana en la concentración al 25% obtuvo un halo de 11,2 mm al 50% la efectividad alcanzó un halo de 9,6 mm y al 100% logró un halo de 13,6 mm, siendo esta concentración la más efectiva.<sup>(13)</sup>

Ortega Salazar Eliana Jacqueline. **“EFECTIVIDAD DE INHIBICIÓN, EXTRACTOS, TOMILLO, ROMERO, STREPTOCOCCUS MUTANS, CARIES DENTAL, CULTIVO MÜLLER HINTON. ECUADOR. 2016”**. La investigación tiene como objetivo efectividad de inhibición de los extractos de Tomillo y Romero al 10% frente al *Streptococcus mutans*, principal agente causante de caries dental. Para ello, se realizó el análisis de 20 muestras bajo un diseño experimental, se midieron los halos de inhibición formados por ambas soluciones acuosas, además de la clorhexidina al 2% y agua destilada, en cultivo Müller Hinton, se concluyó que ninguno de los extractos de las mencionadas plantas, al menos al 10% equivalente a la concentración lograda en

preparados caseros, consigue prevenir o detener la aparición de la bacteria. <sup>(14)</sup>

### **2.1.2. Antecedentes Nacionales**

Huallpa Tucto, Elizabeth Evelyn. **“EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA MEZCLADO CON HIDRÓXIDO DE CALCIO COMPARADO CON CUATRO SOLUCIONES FRENTE A ENTEROCOCCUS FAECALIS. LIMA. 2017”**. Se aplicó el método de difusión en Agar por pozos de 6 mm. de diámetro, para las sustancias a examinarse incluido el suero fisiológico control negativo, se midió los halos de inhibición a las 24 y 72 horas con registros de 16,17 mm. y 15,36 mm. Para el aceite esencial de muña mezclado con hidróxido de calcio; 9,18 mm. y 8,68 mm, para el aceite esencial de muña; 19,89 mm. y 17,09 mm, para la pasta 3Mix-MP; se concluyó que el efecto inhibidor del aceite esencial de muña mezclado con hidróxido de calcio es menor al efecto inhibidor de la pasta 3Mix-MP, al efecto inhibidor del gluconato de clorhexidina al 2% y al efecto inhibidor de la mezcla con hidróxido de calcio, pero mayor al efecto inhibidor del aceite esencial de muña. <sup>(15)</sup>

Salirrosas Tello, William Eduardo. **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO) SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212. TRUJILLO. 2016”**. Se realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión en discos, las cepas de *E. faecalis* fueron sembradas en medio de cultivo Müller Hinton, se colocaron discos con cinco concentraciones de aceite esencial de Romero al 5%, 25%, 50%, 75%, 100%, se incubaron a 37 °C y se miden, después de 24 horas todos los discos presentaron halo de inhibición y los tamaños de éstos aumentaron de forma proporcional a las concentraciones utilizadas, se empleó también el método de dilución en tubos, ensayo concentraciones de 5%, 25%, 50%, 75%,100% del aceite esencial de Romero; a los cuales se les agregó el inóculo de *E. faecalis*, la

incubación fue a 37 °C por 24 horas, cada cultivo se sembró 0.1mL. en placas con Agar Müller Hinton para determinar las Unidades Formadoras de Colonias, después de 24 horas se realizó el conteo se concluyó que las concentraciones del aceite esencial de Romero poseen actividad inhibitoria IN VITRO sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis*.<sup>(16)</sup>

### 2.1.3. Antecedentes locales

Moncada Valerio Francisco Manuel. “**DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE SCHINUS MOLLE L. (MOLLE) DE AREQUIPA Y MOQUEGUA CONTRA KLEBSIELLA PNEUMONIAE, PSEUDOMONA AERUGINOSA Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS. AREQUIPA. 2014**”. Los resultados obtenidos mostraron que el aceite esencial de Schinus molle L. de la localidad de Arequipa genera un efecto resistente contra *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* y un efecto intermedio frente a *Staphylococcus aureus*, mientras que, el aceite esencial de Schinus molle L. de la localidad de Moquegua, genera un efecto resistente en los tres microorganismos estudiados, se concluye, por tanto, que el aceite esencial de Schinus molle L tiene un efecto intermedio contra bacterias Gram positivas y un efecto resistente frente a bacterias Gram negativas.<sup>(17)</sup>

Espinoza Inofuente Zenaida “**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA PIPER AUNGUSTIFOLIUM (MATICO) Y DE HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA. 2012**”. El propósito de la investigación fue evaluar el efecto antibacteriano de la Piper Aungustifolium (Matico) en comparación con el Hidróxido de Calcio sobre el *Enterococcus faecalis* empleado el método de difusión en placas de agar, para lo cual se utilizaron 48 unidades de estudio, 24 unidades para el grupo experimental 1 (Piper Aungustifolium) y a las 24 horas para el grupo experimental 2 (Hidróxido de Calcio) en un

tiempo de 24, 48,72 horas y 7 días. Se colocaron sensidiscos embutidos con las soluciones de la Piper Aungustifolium (Matico), y se hizo 3 pozos de 5 mm de diámetro por 6mm de profundidad para el Hidróxido de Calcio. Se incubaron en cámara de anaerobios por un lapso 7 días, dentro de los cuales se realizó la medición de halo de inhibición de ambas sustancias y de ambos controles (positivo y negativo). Los resultados de la investigación demostraron de la acción antibacteriano de la Piper Aungustifolium (Matico) es mayor que el Hidróxido de Calcio a las 72 horas y a los 7 días de entrar en contacto con el *Enterococcus faecalis*.<sup>(18)</sup>

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Muña**

#### **2.2.1.1. Descripción General**

La muña o menta de los andes es una planta arbustiva leñosa de las regiones andinas de nuestro territorio peruano. Su nombre científico es *Minthostachys mollis*. Muy difundido en las regiones, de Apurímac, Ayacucho, Cusco, Huancavelica y Puno siendo muy utilizada por comunidades nativas. Se denomina en la lengua Quechua “muña”, Muña negra, muña-muña, arash muña, Orcco-muña, Polco silvestre y en idioma Aymará se le conoce como Coa y Huaycha, por sus semejanzas al orégano y póleo, y crece entre 2500 y 3500 msnm. su medida tiende alcanzar hasta 1.50 metros de altura, y siempre su habitat es en lugares muy cercanos a los manantiales sin tener mucho requerimiento de agua y como también crece en márgenes y resguardos de los arroyos que descienden de los cerros así como en las quebradas; clima con elevada luminosidad y en temporada de lluvia florece, se multiplica por semilla y en época del invierno desaparecen sus órganos para luego brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera.<sup>(19)</sup>

### **2.2.1.2. Taxonomía**

La clasificación es la siguiente <sup>(20)</sup>

- Reino: Vegetal
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Asteridae
- Orden: Verbenales
- Familia: Lamiaceae
- Género: *Minthostachys* (Benth.) Spach
- Especie: *Minthostachys mollis* (Kunth) Grisebach.

### **2.2.1.3. Descripción Geográfica**

La muña crece a 2500 a 3500 m.s.n.m. es utilizada de forma tradicional en los males digestivos y respiratorios; está compuesta por aceite esencial, glicósidos, mucílagos, saponinas, taninos, alcaloides, esteroides, carbohidratos, calcio, fósforo, hierro, vitamina B1, esencias y mentol. <sup>(15)</sup>

### **2.2.1.4. Descripción Botánica**

Es una planta arbustiva leñosa, que tiende a medir de 0.80\_1.50 metros de altura un tallo ramificado desde la base y posee hojas pequeñas con flores blancas y reunidas en cortos racimos, situados en la parte superior y hojas simples, opuestas de bordes aserrados. Posee pelos en la cara inferior y pertenece a un género de interés botánico, farmacéutico debido a los aceites aromáticos encontrados en las glándulas celulares de las hojas y tallos. <sup>(20)</sup>

### **2.2.1.5. Composición Química**

Componentes más principales que se encuentra en el aceite esencial de la *Minthostachys mollis* (Muña). <sup>(19)</sup>

COMPUESTOS	CANTIDAD (%)
Terpineno	16,58
Linalool	17,61
Mentona	19,20
Mentol	19,69
Pulegona	21,61
Timol	22,97
Carvacrol	23,26
Acetato de Timilo	24,62
Acetato de Carvacrilo	25,16
Acetato de Geranilo	25,48

Se encontraron compuestos; de los cuales el carvacrol ha sido muy estudiado por su potencial actividad antimicrobiana natural para distintos microorganismos mediante la inhibición del crecimiento.

**Pulegona:** se utiliza en perfumería y saborizantes, en grandes cantidades es altamente tóxico, daña el hígado. Su toxicidad probablemente explica algunos de los efectos del aceite de *Minthostachys mollis* contra microorganismos. <sup>(21)</sup>

**Mentona:** contiene una aroma sabor a menta y generalmente se usa en perfumería y en males digestivas. <sup>(21)</sup>

**Linalol:** generalmente se utiliza en condimento y también en insecticida, linalol es más conocido como compuesto del cilantro. <sup>(21)</sup>

**Mentol:** Produce sensación de frío y adormece el dolor. <sup>(21)</sup>

**Carvacrol:** componentes dominantes de los estudios del aceite de *Minthostachys mollis*. Que Inhibe el crecimiento de las bacterias como potencial antibacteriano. <sup>(21)</sup>

**Timol:** este componente es bien conocida como en los aceite de distintas especies vegetales como también en tomillo etc. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. <sup>(21)</sup>

#### **2.2.1.6. Mecanismo de Acción**

El mecanismo de acción; observaciones realizadas en el microscopio electrónico han mostrado donde se produce una rotura de la membrana celular de las bacterias sensibles a su acción de los aceites. <sup>(19)</sup>

#### **2.2.1.7. Efecto Antimicrobiano**

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales aún no se especifica a un mecanismo con exactitud, donde nos pueda determinar específicamente. Porque las plantas vegetales tienen diferentes partes y diferentes compuestos donde podríamos encontrar; el carácter hidrofóbico de los aceites esenciales les permite incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales perturbando su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo. <sup>(22)</sup>

### **2.2.2. Romero**

#### **2.2.2.1. Historia**

En vocablos griegos, rhaps, arbusto, myrinos aromático; que generalmente coincide con la planta de Romero; el nombre específico, officinalis, expresa su aplicación como planta medicinal. El Romero ha sido utilizado desde la antigüedad desde los tiempos de faraones egipcios donde se ponían a los rituales de los muertos un ramillete para perfumar su viaje al país de los muertos. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría ya empezó a utilizar para realizarse tratamientos de

reumatismo que entonces padece convirtiéndose, como en «el agua de la reina de Hungría», el cual fue cuestionado en uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. El aceite esencial, por primera se obtuvo en los años 1330 por el autor Ramón Llull que desde entonces, se emplea en perfumería, boticarios, farmacopeas etc. <sup>(23)</sup>

#### **2.2.2.2. Taxonomía <sup>(11)</sup>**

- Nombre Científico: *Rosmarinus officinalis*
- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Género: Rosmarinus
- Especie: *Rosmarinus officinalis*
- Nombre Común: (Romero)

#### **2.2.2.3 Distribución Geográfica**

Es una planta originaria de la zona mediterránea se encuentra sobre todo en Perú, crece en la costa, sierra y selva hasta los 3500 m.s.n.m, formando parte de los manantiales, laderas de tierras bajas y lugares secos en climas tropicales subtropicales, suelos áridos secos, algo arenoso muy permeables, con un gran capacidad de adaptación a para cultivo en diferentes suelos y condiciones ambientales. <sup>(23)</sup>

#### **2.2.2.4. Descripción Botánica**

El Romero es una planta vegetal arbusto leñoso perenne, de aspecto espigado que mide de 0.50 a 1.50 cm de altura, de hojas pequeñas muy abundantes muy olorosas que crece en de color verde en el haz blanquecino con las flores en forma

de racimos y de color blanco, rosado, azul pálido. Con cáliz verde o algo rojizo muy aromáticas y generalmente florece en primavera, aunque pueden encontrarse flores prácticamente durante todo el año. <sup>(24)</sup>

### 2.2.2.5. Composición Química

Los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpénicos y alcoholes triterpénicos. <sup>(23)</sup>

Ácidos fenólicos	Rosmarínico, taninos.
Flavonoides	Luteolina, cirsimarina, neopritina, Sinensetina, cupafolina.
Diterpenos	Carnosol, rosmanol, rosmadial.
Ácidos triterpénicos	Ácido ursólico 2 a 4 %.
Alcoholes triterpénicos	Alfa y beta - amirina, betulósido
Alcaloides	Rosmaricina.
Elementos minerales:	Sodio, potasio, calcio, magnesio. Hierro, cobre, zinc, manganeso.
Aceite esencial 1,2 a 2 %	Cinelol, alcanfor, borneol acetato de bornilo, $\alpha$ -pineno linalol, canfeno, terpinoleno, timol.

Los diferentes trabajos de investigación afirman que dependiendo del lugar geográfico donde crezcan; las plantas bajo condiciones de tipo de suelo, clima y altura sobre el nivel del mar generan diferentes cambios en cantidad y tipos de moléculas bioactivas presentes; dentro de los compuestos activos. <sup>(24)</sup>

**Terpenoides:** Son aquellos que tienen elementos adicionales, usualmente oxígeno; que involucra la ruptura de la membrana celular por los compuestos lipofílicos. <sup>(24)</sup>

**Fenólicos y polifenoles:** Los sitios y números de grupo hidroxilo en el grupo fenol se cree que están relacionado con la toxicidad contra los microorganismos, efectivo contra virus, bacterias y hongos; se cree que produce una inhibición enzimática o una interacción no específica con las proteínas. <sup>(24)</sup>

**Flavonas:** son sintetizados por las plantas vegetales en respuesta a infecciones microbianas, formando un complejo con las proteínas solubles que se encuentra en la células y extracelulares y el complejo de la pared de la célula bacteriana, impidiendo el desarrollo de las células bacterianas dentro de canales radiculares. <sup>(24)</sup>

**Alcaloides:** Constituyen un grupo heterogéneo de bases nitrogenadas, tiene efecto antimicrobiano, viral: se le atribuye a su capacidad de intercalarse con el DNA. <sup>(24)</sup>

**Taninos:** son antidiarreico, antimicrobiana, inhibidora enzimática, están relacionadas con la capacidad de inactivar adhesinas microbianas, enzimas, proteínas transportadoras en la célula, formar complejos con la pared celular. <sup>(24)</sup>

#### **2.2.2.6. Mecanismo de Acción**

El mecanismo de acción Consiste en degradar la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que conduce a una pérdida de iones de potasio, provocando autólisis de la célula, también aumenta la permeabilidad de la membrana, y disipa su potencial, haciendo que las bacterias pierdan su capacidad ante la motilidad, realizando el transporte de membrana y síntesis de ATP, haciéndolas más vulnerables de ataque inmunológico y también potenciando a los antibióticos. <sup>(24)</sup>

### **2.2.2.7. Actividad Antibacteriano**

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) actúa a nivel de la membrana celular de las bacterias, aumentando su permeabilidad y generando desconfiguración de la pared celular tanto de Gram positivas como de Gram negativas. <sup>(24)</sup>

### **2.2.3. *Enterococcus faecalis***

#### **2.2.3.1. Historia**

El género *Enterococcus* ha tenido grandes cambios en la taxonomía durante los últimos años; el término *Enterococcus* fue utilizado por primera vez por el microbiólogo francés Thiercelin (1899) para referirse a un diplococo Gram positivo encontrado en el intestino humano. La denominación de *Streptococcus faecalis* fue acuñada por Andrewer y Horder (1906), para designar a un microorganismo aislado de un paciente con endocarditis aludiendo el nombre específico al hábitat del intestino. Sherman en 1930, clasificó a los estreptococos en cuatro clases: pyogenes, lactis, viridans y *Enterococos*; a estos últimos los denominó estreptococos del grupo D, posteriormente. <sup>(25)</sup>

#### **2.2.3.2. *Enterococcus faecalis***

Es un microorganismo es un patógeno del tracto intestinal. También puede detectarse en el suelo, agua o alimentos, *E. faecalis* perteneció al género *Streptococcus* del Grupo D, pero recientemente fue clasificado en su propio género denominado *Enterococcus*, son fuente frecuente de infecciones a nivel hospitalario. <sup>(26)</sup>

Actualmente han tomado relevancia clínica debido a su resistencia antimicrobiana frente a penicilina, cefalosporinas, aminoglucósidos y vancomicina. <sup>(26)</sup>

### 2.2.3.3. Características

Son microorganismos anaerobios facultativos, inmóvil, catalasa negativo o débilmente positiva, con capacidad para fermentar glucosa y carbohidratos. Además presenta capacidad para formar biopelículas, los *Enterococcus* se diferencian de los *Streptococcus* en que pueden crecer en un rango de temperatura de 10 °C a 45 °C. Son más resistentes a los cambios ambientales adversos, pudiendo tolerar concentraciones de 6,5% de NaCl, desarrollarse a pH 9.6 y soportar temperaturas de 60 °C hasta por media hora. <sup>(26)</sup>

Este microorganismo, coco Gram positivo, facultativo, inmóvil, de 0,5 a 0,8 µm, no esporulado y que se dispone en pares o cadenas, posee diversos factores de virulencia donde destacan. <sup>(27)</sup>

**Ácido lipoproteico:** estimula la liberación de mediadores proinflamatorios leucocitarios desde polimorfos nucleares neutrófilos y macrófagos. <sup>(27)</sup>

**Adhesinas de superficie:** son proteínas de membrana y está relacionada con formación de biopelículas y como también con la adherencia del microorganismo a proteínas de matriz extracelular y colágeno. <sup>(27)</sup>

**Citolisina:** afecta la tensión de oxígeno, generando un ambiente anaerobio, suprimiendo el desarrollo de otras bacterias, y favoreciendo a otros grupos. <sup>(27)</sup>

**Gelatinasa:** generalmente tiene una capacidad de poder inhibir el crecimiento de las bacterias; hidroliza colágeno, fibrinógeno, caseína, hemoglobina e inulina. <sup>(27)</sup>

**Hemolisina:** genera la lisis eritrocitaria, de neutrófilos y macrófagos. <sup>(27)</sup>

**Hialuronidasa:** degrada ácido hialurónico haciendo daño tisular en tejidos blandos, quiere decir que aumenta la invasión de microorganismos. <sup>(27)</sup>

**Sustancia de agregación:** facilita la adherencia a tejidos del hospedero, contacto con otras bacterias durante el intercambio de plásmidos, y la internalización en macrófagos. <sup>(27)</sup>

#### 2.2.3.4. Taxonomía

- Dominio: Bacteria
- Filo: Firmicutes
- Clase: Bacilli.
- Orden: Lactobacillales.
- Familia: Enterococcaceae.
- Género: Enterococcus.
- Especie: faecalis <sup>(26)</sup>

#### 2.2.3.5. Morfología

*Enterococcus faecalis* son cocos Gram positivos de tamaño 0,5 - 0,8  $\mu\text{m}$ , que se distribuyen en cadenas cortas o en pares. <sup>(26)</sup>

#### 2.2.3.6. Patologías

Se la especie de *Enterococcus faecalis*, siendo la más comúnmente aislada en infecciones bucales asociada a canales radiculares, abscesos perirradiculares y enfermedad periodontal.

- **Enfermedad periodontal:**

Factores de virulencia, como una serie de propiedades que le permitan a las bacterias establecerse (colonizar) en un

tejido, generar una afección y determinar el grado o gravedad de la infección.

#### Formación de la placa dental bacteriana

1. A las 4-8 primeras horas hay un depósito de la película orgánica exógena y una baja concentración de bacterias, cocos y cocobacilos.
2. De 8-12 horas la película adquirida exógena aumenta de grosor, Se produce un crecimiento en surcos, fisuras e irregularidades de las superficies dentales.
3. De 12-24 horas hay un crecimiento bacteriano en la superficie, se forman colonias incrustadas en la matriz y aparecen Cocos y bacilos Gram + (80-90%). Streptococos y actinomicetes.
4. Del día 2 hay un crecimiento en grosor de las colonias Cocos y bacilos Gram (+).
5. De 3 a 5 días Reducción cocos Gram (+). Aparición de: bacilos Gram (-), bacterias filamentosas y fusobacterias.
4. De 6 a 10 días y semanas Aparición de vibrios y espirotecas. Incremento de Gram (-) y anaerobio y un crecimiento en grosor de las colonias y una diferenciación y organización de forma que en la capa interna se hace más compacta y se agrupan los cocos y bacilos y en la capa externa, siendo menos compacta que la anterior, se localizan los filamentosos.

#### Placa bacteriana supragingival

- Capa interna: Acumulación densa de cocos y bacilos, Poca matriz extracelular.
- Capa superficial: Cocos y bacilos junto con formas filamentosas, células epiteliales descamadas y

leucocitos en una matriz extracelular; Compuesta por polisacáridos producidos por bacterias a partir de la sacarosa y sustancias salivares.

#### Placa bacteriana subgingival

Zona adyacente a la superficie dental: de bacterias Cocos y bacilos Gram (+) y algunos cocos y bacilos Gram (-), En superficie epitelial a destrucción periodontal rápida junto con flajelados y espirotecas:

1. Porfiriomonas gingivales
2. Prevotella intermedia
3. Actinobacillus actinomycetemcomitans
4. Bacteroides forsythus
5. Fusobacterium nucleatum
6. Enterococcus

- Biopelícula de la placa ésta es el hábitat ideal de las bacterias bucales, ya que en ella pueden vivir al encontrar un sitio muy pobre en oxígeno, con grandes nutrientes y excelente humedad, temperatura lo más importante, protegidas no sólo del ataque de las células defensivas orgánicas y de los anticuerpos, sino también del fluido o líquido gingival y la acción antibacteriana de la saliva, ya que al gran cantidad de mutano y dextrano que se acumula en este tipo de placa, dificulta en gran modo la difusión de la saliva hacia el interior de ésta.
- El tártaro por su fuerte adherencia al cemento radicular, causa irritación al epitelio gingival ya que alberga gran cantidad de bacterias.

- La invasión bacteriana en el tejido epitelial y conectivo así como la invasión de las toxinas y enzimas hasta el hueso de soporte explica el daño a este tejido.
- Se podría determinar que si hay hiperrespuesta se elaborarán en exceso una serie de sustancias defensivas como las citoquinas son producidas por linfocitos o si provienen de monocitos, macrófagos.
- El factor Activador de Osteoclastos que alterarán los tejidos de soporte es consecuencia de una alteración celular donde la fagocitosis puede ser defectuosa o la producción de citoquinas es inadecuada todo esto llevará a las diferentes formas de manifestarse la enfermedad periodontal.
- Otras células puede producir un efecto celular tal es el caso de las reabsorciones óseas en las enfermedades periodontales donde las enzimas bacterianas tipo colagenasa, hialuronidasa, condroitinsulfatasa, lecitinasa.
- Las endotoxinas bacterianas que también tienen efectos negativos sobre los fibroblastos impiden la recuperación de los tejidos y la perpetuación el daño tisular.
- El sitio del hueso reabsorbido es reemplazado por células defensivas como macrófagos, linfocitos, plasmocitos y se quedan en la zona luchando contra los millones de bacterias que están allí produciendo sus enzimas, toxinas por lo tanto la respuesta orgánica normal limita la lesión al periodonto.

- El aumento de respuesta altera la morfología normal de los tejidos sin aún comprenderse porque existen diferentes maneras de reacción del huésped.

Los parámetros clínicos de la enfermedad, como aumento en la profundidad al sondaje, pérdida de nivel de inserción clínica y presencia de sangrado; donde las evidencias indican que este microorganismo posee la capacidad de adquirir, acumular y compartir material genético con otras bacterias, producto que el 25% de su ADN corresponde a segmentos móviles y transferibles, lo que favorece la variabilidad genética del microorganismo. <sup>(27)</sup>

- **Endodoncia:**

Dentro de un canal radicular, este microorganismo pueda mantener y como también puede causar una enfermedad después de realizar el tratamiento, que puede sobrevivir dentro de los conductos radiculares después de la obturación y poseer las propiedades patogénicas necesarias para perpetuar la inflamación externa, Además, debe ser capaz de soportar las condiciones tóxicas que existen en los canales radiculares tratados endodónticamente. <sup>(14)</sup>

Estas bacterias se encuentran en las pulpas necróticas y sobrevive a los procedimientos quimiomecánicos debido a las limitaciones que realizan como resistencia y también por la compleja anatomía radicular, ya que este patógeno se aloja en túbulos dentinarios, ramificaciones, istmos y deltas apicales, situación que le es propicia a la hora de restablecer la infección endodóntica.

*E. faecalis* se ha detectado en un rango entre 4% y 40% en canales radiculares de dientes con lesiones endodónticas

primarias, y en un rango entre 24% y 77% en infecciones endodónticas secundarias en dientes con fracaso endodóntico. <sup>(14)</sup>

- **Absceso periapical:**

Es una lesión que se presenta en líquido purulento en el ápice radicular después de la necrosis pulpar y puede dividirse en: agudo, o crónico. Si la necrosis pulpar ocurre rápidamente seguida de una inflamación pulpar, puede no haber evidencia radiográfica de patología periapical. Sin embargo, si el absceso agudo desarrolla desde una periodontitis apical crónica persistente ahí estará una preexistencia radiográfica de lesión periapical. <sup>(28)</sup>

Complicaciones: si después del tratamiento de conductos el paciente persiste con sintomatología dolorosa, si la lesión periapical existente no cicatriza, se extiende o bien, si aparece cuando antes no existía, se habla de un fracaso en el tratamiento endodóntico, la principal causa es la persistencia de una de las especies bacterianas implicadas como el *Enterococcus faecalis* <sup>(28)</sup>

#### **2.2.3.7. Diagnóstico**

Se hace a través del cultivo y aislamiento del microorganismo en el laboratorio. En agar sangre se observan colonias de incoloras a grises de 2-3 mm de diámetro, pudiendo presentar hemólisis alfa, beta o gamma; dependiendo de la cepa y el tipo de sangre utilizada; Para su identificación se utilizan pruebas bioquímicas entre las que se encuentra la prueba de PYR (L-pirrolindonil  $\beta$ -naltil-amida) la prueba de leucino-aminopeptidasa (LAP) y la hidrólisis de la esculina. <sup>(26)</sup>

#### 2.2.3.8. Tratamiento

Debido a la multiresistencia que frecuentemente se encuentra esta especie el tratamiento normal para esta bacteria es amoxicilina o ampicilina sola o en combinación con gentamicina o estreptomicina; Pero debido a que *Enterococcus faecalis* ha registrado resistencia a las penicilinas, cefalosporinas y muy especialmente una resistencia de alto nivel para los aminoglucósidos, la vancomicina; teicoplanina también es una opción pero en ocasiones también es resistente. <sup>(26)</sup>

## 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

### **EFFECTIVIDAD ANTIBACTERIANO:**

Consistente en eliminar o inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas. <sup>(29)</sup>

### **CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS:**

*Enterococcus faecalis* es una bacteria Gram-positiva anaerobia facultativa, inmóvil y no espulorada. <sup>(30)</sup>

### **MUÑA:**

Es una planta arbusta leñosa tiende alcanzar de 0.80-1.50 metros de altura, es frondosa en la parte superior; tallo, ramificado y hojas pequeñas con flores blancas y cortos racimos. <sup>(31)</sup>

### **ROMERO:**

Es un arbusto aromático, leñoso, de hoja perenne, muy ramificada y puede llegar a medir 0.50-1.50 metros de altura, presentan flores axilares, muy aromáticas, se localizan en la cima de las ramas. <sup>(32)</sup>

## CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS

#### 3.1.1. Hipótesis Principal

Es probable que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sea mayor eficaz que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas

#### 3.1.2. Hipótesis Derivada

Es probable que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) tenga mayor eficacia antibacteriana en concentración 50 y 100% que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

Es probable que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% tenga mayor efecto antibacteriano que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

### 3.2. VARIABLES; DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>NATURALEZA</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>
Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero)	Concentración 50 y 100%	Cuantitativa	Nominal
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (Muña)	Concentración 50 y 100%	Cuantitativa	
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>			
Efecto antibacteriano	UFC	Cuantitativa	Nominal

## CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

### 4.1. DISEÑO METODOLÓGICO

**Tipo:** La presente investigación es experimental se realizó con muestras en laboratorio IN VITRO.

**Diseño:** Mediciones:

- a) La presente investigación es longitudinal: porque se llevó a cabo en dos mediciones, una a las 24 horas y la otra a las 48 horas de haber sometido los aceites esenciales sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*.
- b) La presente investigación es laboratorial: puesto que el proceso de recolección de datos se realizó en un ambiente especial (laboratorio) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa Escuela Profesional de Biología.
- c) De acuerdo al momento de recolección de datos la investigación es prospectiva, puesto que la información se obtuvo conforme se desarrolló el trabajo de investigación.
- d) Respecto al propósito, el estudio es comparativa, se establecieron diferencias entre ambos aceites esenciales (Romero y Muña) respecto a su eficacia antibacteriano sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*.

## 4.2 DISEÑO MUESTRAL

La muestra estará constituida por 10 cepas de *Enterococcus faecalis* por cada grupo (Romero y Muña), es decir se trabajará en total 20 con muestras. Qué reúnan los criterios de inclusión y exclusión propuestos el tamaño de la muestra se ha asumido basándonos en los antecedentes de investigación.

### 4.2.1. Criterios de inclusión

- 1: Cepas de *Enterococcus faecalis* estandarizadas ATCC 29212
- 2: Cepas de *Enterococcus faecalis* que se mantengan viables durante el proceso de la investigación
- 3: Laboratorio de Biología Celular 102 B de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad San Agustín de Arequipa

### 4.2.2. Criterios exclusión

Cepas de *Enterococcus faecalis* que se contaminen durante la experimentación.

## 4.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**La técnica:** Se utilizó la observación laboratorial

**Instrumento:** Será la Ficha de observación laboratorial

#### **4.4. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

##### **Obtención de la planta Romero y Muña**

Una vez adquirida las plantas medicinales son transportadas a la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa Escuela Profesional de Biología. (Véase ANEXO N° 4-5)

##### **Preparación de Aceite Esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero)**

Las hojas de la planta de Romero fueron lavadas y secadas, horas después de las cuales dicho material fue selectos en un recipiente las hojas y flores y luego pesadas en una balanza común, se pesaron 4 Kg de hojas con dos litros de agua destilada y esta mezcla se depositó en un balón de fondo plano para luego sea sometido al proceso de hidrodestilación por arrastre en vapor de agua en el equipo de soxhlet; durante cuatro horas posteriormente fue obtenido aproximadamente 2.5 ml. de Aceite Esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) por cada destilación, y seguido fue condensada mediante su pasó por un refrigerante de vidrio, para separar el aceite del agua y fue guardado en un frasco pequeño cerrado y refrigerada para ser utilizada. (Véase ANEXO N° 6)

##### **Preparación Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* (Muña)**

Las hojas de la planta de muña fueron lavadas y secadas en un recipiente, posteriormente las hojas fueron separadas del tallo y pesadas en una balanza común y se pesaron 4Kg de hojas con dos litros de agua destilada y esta mezcla se depositó en un balón de fondo plano para luego fue sometido al proceso de hidrodestilación por arrastre en vapor de agua en el equipo de soxhlet; durante cuatro horas posteriormente fue obtenido aproximadamente 2 ml. de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) por cada destilación, seguido fue condensada mediante su pasó por un refrigerante de vidrio, para separar el aceite del agua finalmente el aceite se depositó en frasco oscuro cerrado herméticamente fue almacenado en refrigeración hasta su uso. (Véase ANEXO N° 7)

### **Obtención de la cepa de *Enterococcus faecalis***

El *Enterococcus faecalis* estandarizada ATCC 29212 fue obtenido del banco bacteriológico del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa Facultad de Ciencias Biológicas Escuela Profesional de Biología.

### **Reactivación de la cepa bacteriana**

Las cepas ATCC 29212 (American Type Culture Collection) son microorganismos certificados para el control de calidad en microbiología; la cepa de *Enterococcus faecalis* se mantuvo en condiciones de refrigeración (2-8°); se realizó la activación mediante el uso del medio de cultivo de caldo de BHI (Brain Heart Infusión) 3.7 gramos el cual se agregó 100 ml de agua destilada; se preparó y se colocó en un tubo de ensayo mediano, a una probeta graduada cristal, antes de esterilizar se tiene que disolver por lo tanto utilizaremos agitador magnético que a la vez calienta. Se realizó la siembra microbiológica de acuerdo al protocolo y se incubó a 37 °C por 24 horas para producir la cepa, llevado a la autoclave a 121 °C por un periodo 30 minutos. **(Véase ANEXO N° 9)**

Posteriormente se realizó la primera replica los materiales placas Petri, pipeta y para cual se utilizó 4 tubos de vacutainer con sangre para preparar el agar base sangre, caldo BHI 24.00 g para 600 ml de agua destilada; utilizaremos agitador magnético que a la vez calienta para realizar una mezcla homogénea posterior fue llevado a la autoclave a 121 °C por un periodo 30 minutos Una vez sé que saco todo los materiales del autoclave se llevó a la cámara de flujo laminar dejamos que enfrié a temperatura ambiente las placas Petri, pipetas, caldo HBI también llevamos agar base sangre humana, posteriormente procedemos a sumergir con el asa de kolle en 1 ml primeramente se flamea la asa se coloca en posición perpendicular a la mesa de trabajo en la parte alta de la llama del mechero hasta que se pongan incandescentes y después se retira de la llama y esperar que se enfrié manteniéndola cerca del mechero; Tomar de la gradilla el tubo a inocular destaparle y Flamear la boca del tubo de matraz en el mechero

antes y después de quitar el tapón con el tubo inclinado. de caldo BHI (Brain Heart Infusión) descargamos el material bacteriano de manera uniforme a las placas Petri, realizar estrías muy juntas avanzadas suavemente por la superficie del agar sin retroceder, posteriormente se rotulo las placas Petri en la parte periferia de la base, con el parafilm y se llevó a la incubación durante 24 horas y se ha obtenido el *Enterococcus faecalis*; a partir de la colonias desarrollas posteriormente se procedió a extraer de 4<sup>o</sup>5 colonias para realizarlo la escala de Mcfarland. **(Véase ANEXO N° 9)**

### ***Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de Rosmarinus officinalis (Romero) y Minthostachys mollis (Muña)***

Se preparó la solución de aceite esencial de Romero y muña en diferentes dosis al 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%,1.56%,0.78, Preparación del inóculo con una concentración de inóculo 10<sup>6</sup> ufc/ml de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que ha sido aislada el método de dilución en caldo BHI (Infusión Cerebro-corazón) posteriormente procedemos a sumergir con el asa de kolle en 1 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusión) descargamos el material bacteriano de manera uniforme. la turbidez del medio se midió en la escala de estándar de McFarland, lo cual equivale a la concentración de 10<sup>6</sup> ufc/ml. Seguidamente procedemos a colocar en una estufa por un periodo de 24 horas, en donde se observó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) frente a *Enterococcus faecalis* tiene una CIM de 25% la cual represento actividad antibacteriano a menor concentración y para el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) frente a *Enterococcus faecalis* tiene una CIM de 50% la cual representa actividad antibacteriano a menor concentración. **(Véase ANEXO N° 10)**

### ***Determinación de Halo Inhibición Preparación de los aceites esenciales de Rosmarinus officinalis “Romero” y Minthostachys mollis (Muña)***

Primeramente a utilizarse los aceites esenciales de Romero, Muña y agua destilada y pipeta milimetrada, posteriormente se prepararon las soluciones 5 ml. de aceite esencial de Romero y Muña y 5 ml. de agua destilada para

una concentración de 50% y 10 ml. de aceite esencial de Romero y Muña Para una concentración de 100%. **(Véase ANEXO N° 11)**

### **Método de Difusión en disco**

A partir del inóculo elaborado anteriormente el cual correspondió a *E. faecalis* se sembró con un hisopo estéril en placas con agar; para ello se introdujo un hisopo en el tubo donde se preparó la suspensión bacteriano, se humedeció y luego se presionó el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de líquido, inmediatamente después se inoculó la superficie seca del agar base sangre por hisopado en tres direcciones opuestas entre sí con lo que se aseguró una completa distribución de las bacteria en la superficie del agar base sangre.

Posteriormente se colocaron discos de papel de filtro Whatman dichos discos tenían una dimensión de 6 mm de diámetro, con un perforador, los cuales se esterilizaron en autoclave por 15 minutos a 121 °C y seguidamente a la inoculación, se coloca en la superficie de los agares con ayuda de una pinza estéril, cada uno de ellos se incorporó 25 µL de aceites esenciales de Romero Muña y Clorhexidina respectivamente. Se dejó reposar por 30 minutos y después las placas fueron llevadas a incubación a 36 °C por 24 y 48 horas en condiciones de anaerobiosis mediante el sistema Anaerocult de MERCK., pasadas las cuales se procedió a examinar cada placa, midiendo con una regla vernier los diámetros de las zonas (halos) de inhibición **(Véase ANEXO N° 11)**

### **Método del disco en superficie**

Se midieron los halos de inhibición formados en las placas y se compararon la muestra de la actividad antibacteriana a las 24 y 48 horas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Minthostachys mollis* (Muña), en las diferentes concentraciones probadas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Los resultados obtenidos nos permiten definir que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) con una concentración de 50%, el halo inhibición a las 24 horas fue en promedio de 14.72 mm, y a las 48 horas fue

de 14.65 mm; respecto a la concentración de 100%, a las 24 horas el halo inhibición correspondió a 23.99 mm, y a las 48 horas fue de 23.57 mm; para el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) la concentración de 50%, tuvo un halo inhibición a las 24 horas de 10.62 mm, y a las 48 horas fue de 10.49 mm; la concentración de 100% el halo inhibición a las 24 horas correspondió a 14.94 mm y a las 48 horas fue de 14.83 mm; finalmente, para la concentración de clorhexidina al 0.12%, a las 24 horas el halo inhibición que se evidenció fue de 19.88 mm, y para las 48 horas, fue de 20.15 mm. Finalmente, para la concentración de acuerdo a estos valores, las comparaciones individualmente en las concentraciones al 50% de los aceites esenciales del Romero y Muña tuvieron los halos de inhibición grandes, en cuanto al Romero al 100% a las 24 horas fue mayor por lo tanto en el tiempo es mejor por acción y potencia antibacteriano. **(Véase ANEXO N° 11)**

#### **4.5. TÉCNICAS ESTADÍSTICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

Se procedió a elaborar los instrumentos de recolección de datos que fue a través de fichas de observación para ambas muestras.

Se realizó el análisis, comparación y tabulación de los resultados obtenidos después del experimento, la estadística que se aplicó la prueba T de STUDENT que nos permitió comparar dos grupos distintos, respecto a una variable cuantitativa en este caso el efecto antibacteriano que se midió en unidades formadoras de colonias.

#### **4.6. ASPECTOS ÉTICOS**

La presente investigación por ser IN VITRO no va en contra de ningún principio ético establecido.

## CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

TABLA N° 1

**Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

HALO INHIBICIÓN	GRUPO ESTUDIO			
	Clorhexidina 0.12%		Romero 50%	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
Media Aritmética	16.8	18.15	14.72	14.65
Desviación Estándar	00.80	00.87	1.30	01.32
Halo Mínimo	18.35	18.50	13.45	12.85
Halo Máximo	19.10	22.2	16.1	16.65
Total	10		10	

Fuente: Matriz de datos

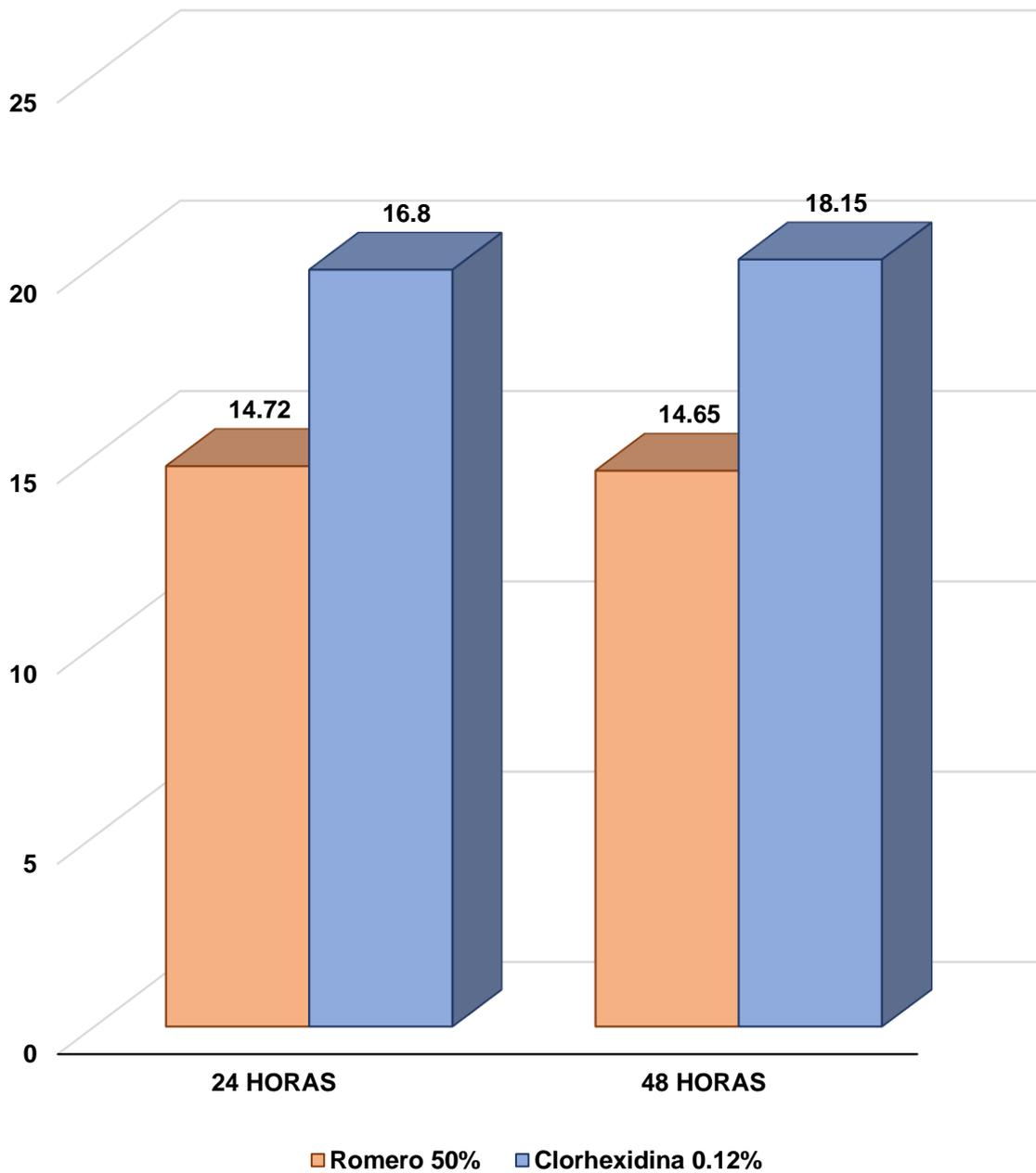
Interpretación:

En la tabla N° 1 se compara la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% y aceite esencial de “Romero” en una concentración 50% evaluado a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Respecto a Clorhexidina, se puede observar que formó un halo de inhibición promedio de 16.8 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presentó un halo de inhibición promedio de 18.15 mm; para el aceite esencial de “Romero” a una concentración 50%, su halo de inhibición promedio formado correspondió a 14.72 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presentó un halo de inhibición promedio de 14.65 mm; es decir, el halo de inhibición de Clorhexidina fue mayor a las 24 horas y 48 horas que el formado por el aceite esencial de “Romero” en esta concentración (Ver gráfico N° 1).

### GRÁFICO N° 1

Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*



**TABLA N° 2**

**Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

HALO INHIBICIÓN	GRUPO ESTUDIO			
	Clorhexidina 0.12%		Romero 100%	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
<b>Media Aritmética</b>	19.88	20.15	23.99	23.57
<b>Desviación Estándar</b>	00.80	00.87	01.67	01.82
<b>Halo Mínimo</b>	18.35	18.50	20.65	21.0
<b>Halo Máximo</b>	22.10	22.2	26.75	26.4
<b>Total</b>	10		10	

Fuente: Matriz de datos

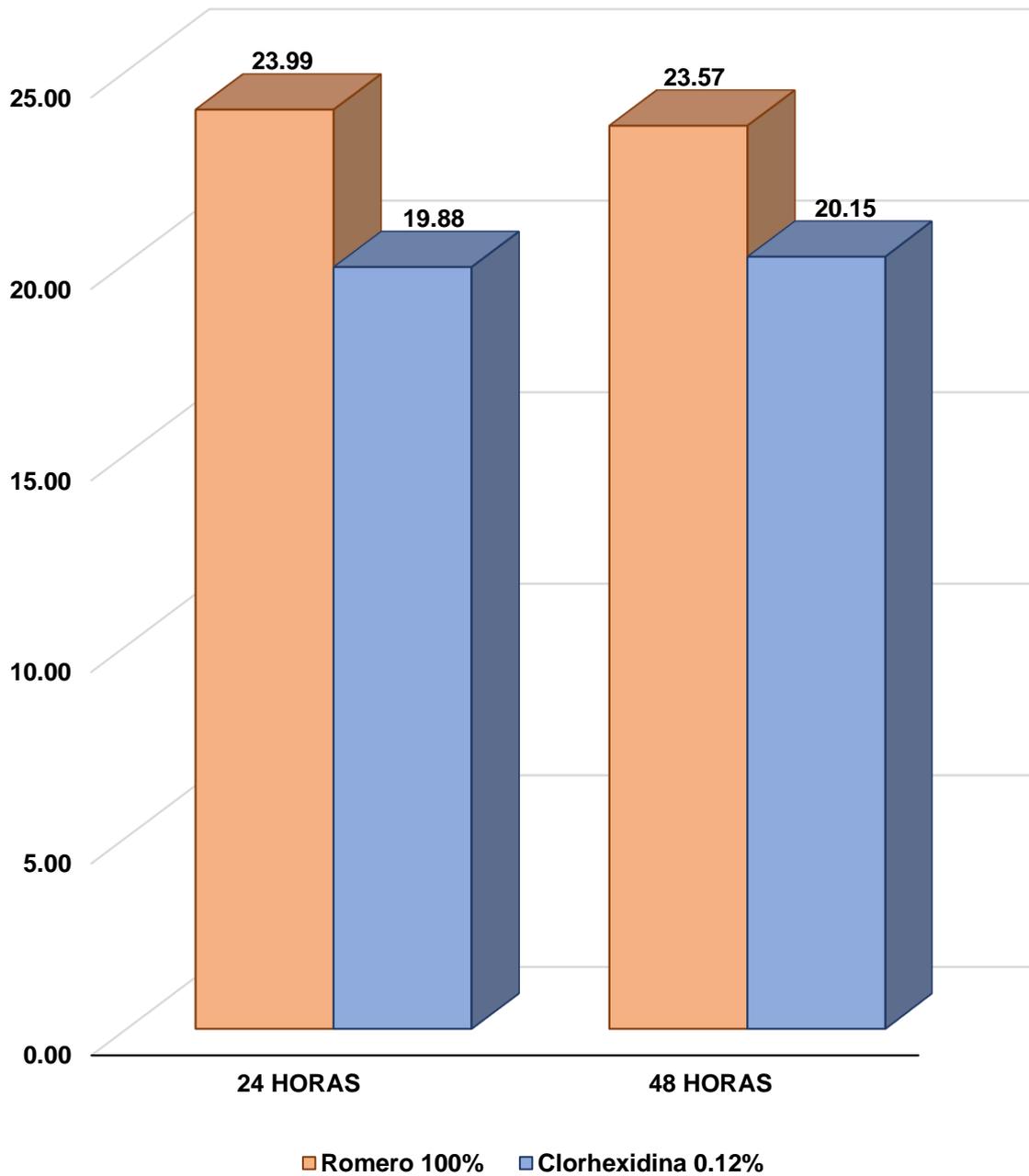
Interpretación:

En la tabla N° 2 se compara la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% y el aceite esencial de “Romero” en una concentración 100% evaluado a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Respecto a Clorhexidina, se puede observar que formó un halo de inhibición promedio de 19.88 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 20.15 mm; para el aceite esencial de “Romero” a una concentración 100%, su halo de inhibición promedio formado correspondió a 23.99 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 23.57 mm; es decir, el halo de inhibición del aceite esencial de Romero 100% fue mayor a las 24 horas y 48 horas que el formado por Clorhexidina en esta concentración (Ver gráfico N° 2)

## GRÁFICO N° 2

Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.



**TABLA N° 3**

**Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

HALO INHIBICIÓN	GRUPO ESTUDIO			
	Clorhexidina 0.12%		Muña 50%	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
<b>Media Aritmética</b>	19.88	18.15	10.62	10.49
<b>Desviación Estándar</b>	00.80	00.87	01.08	01.03
<b>Halo Mínimo</b>	14.35	16.50	9.65	9.5
<b>Halo Máximo</b>	18.10	20.0	12.35	12.55
<b>Total</b>	10		10	

Fuente: Matriz de datos

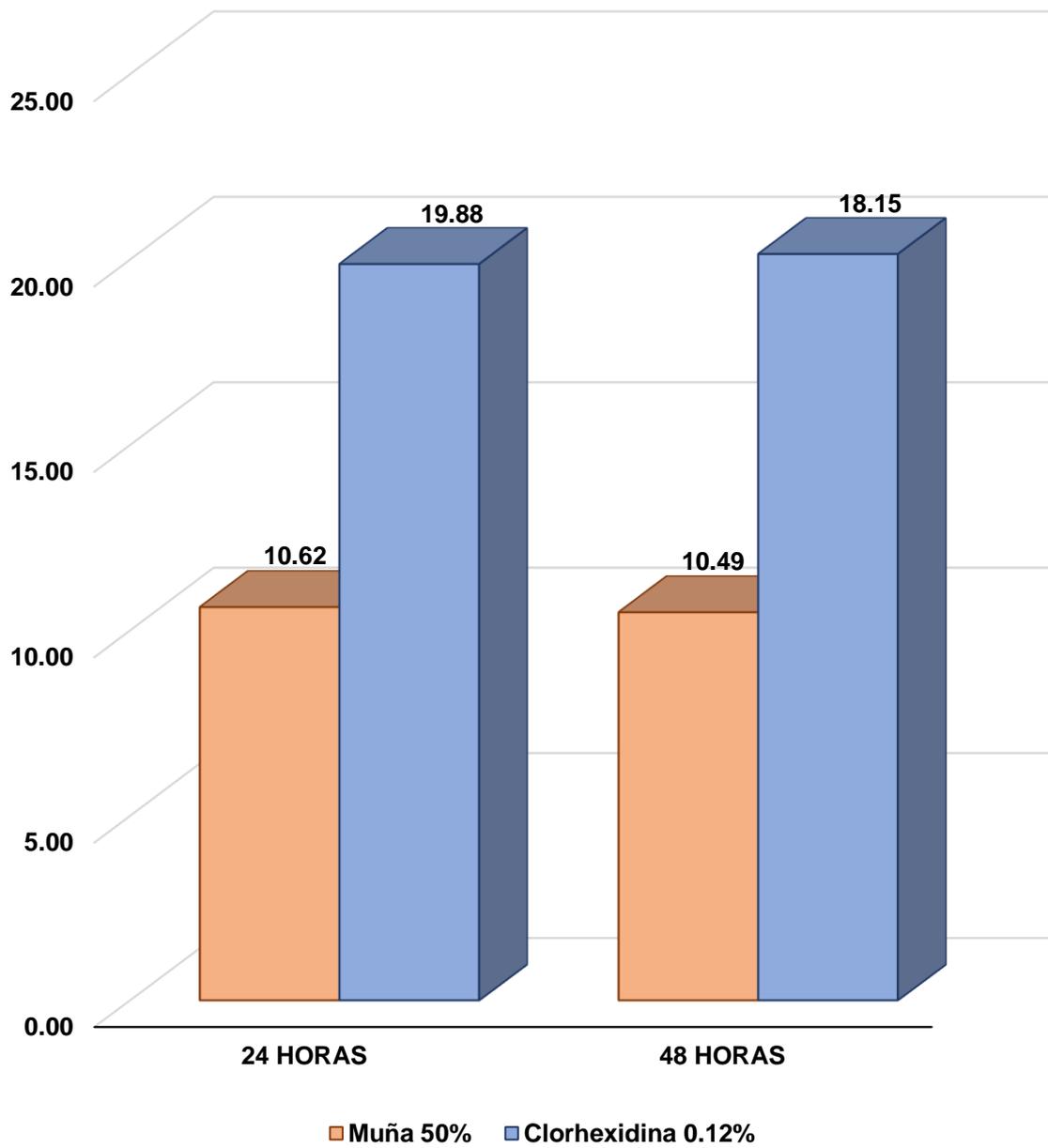
Interpretación:

En la tabla N° 3 se compara la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% y el aceite esencial de “Muña” en una concentración 50% evaluado a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Respecto a Clorhexidina, se puede observar que formó un halo de inhibición promedio de 16.88 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 18.15 mm; para el aceite esencial de “Muña” a una concentración 50%, su halo de inhibición promedio formado correspondió a 10.62 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 10.49 mm; es decir, el halo de inhibición de Clorhexidina fue mayor a las 24 horas y 48 horas que el formado por el aceite esencial de “Muña” en esta concentración (Ver gráfico N° 3).

### GRÁFICO N° 3

Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" 50% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*



**TABLA N° 4**

**Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis***

HALO INHIBICIÓN	GRUPO ESTUDIO			
	Clorhexidina 0.12%		Muña 100%	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
<b>Media Aritmética</b>	18.88	19.15	14.94	14.82
<b>Desviación Estándar</b>	00.80	00.87	01.18	01.21
<b>Halo Mínimo</b>	16.35	18.50	12.9	13.45
<b>Halo Máximo</b>	19.10	19.25	16.8	16.8
<b>Total</b>	10		10	

Fuente: Matriz de datos

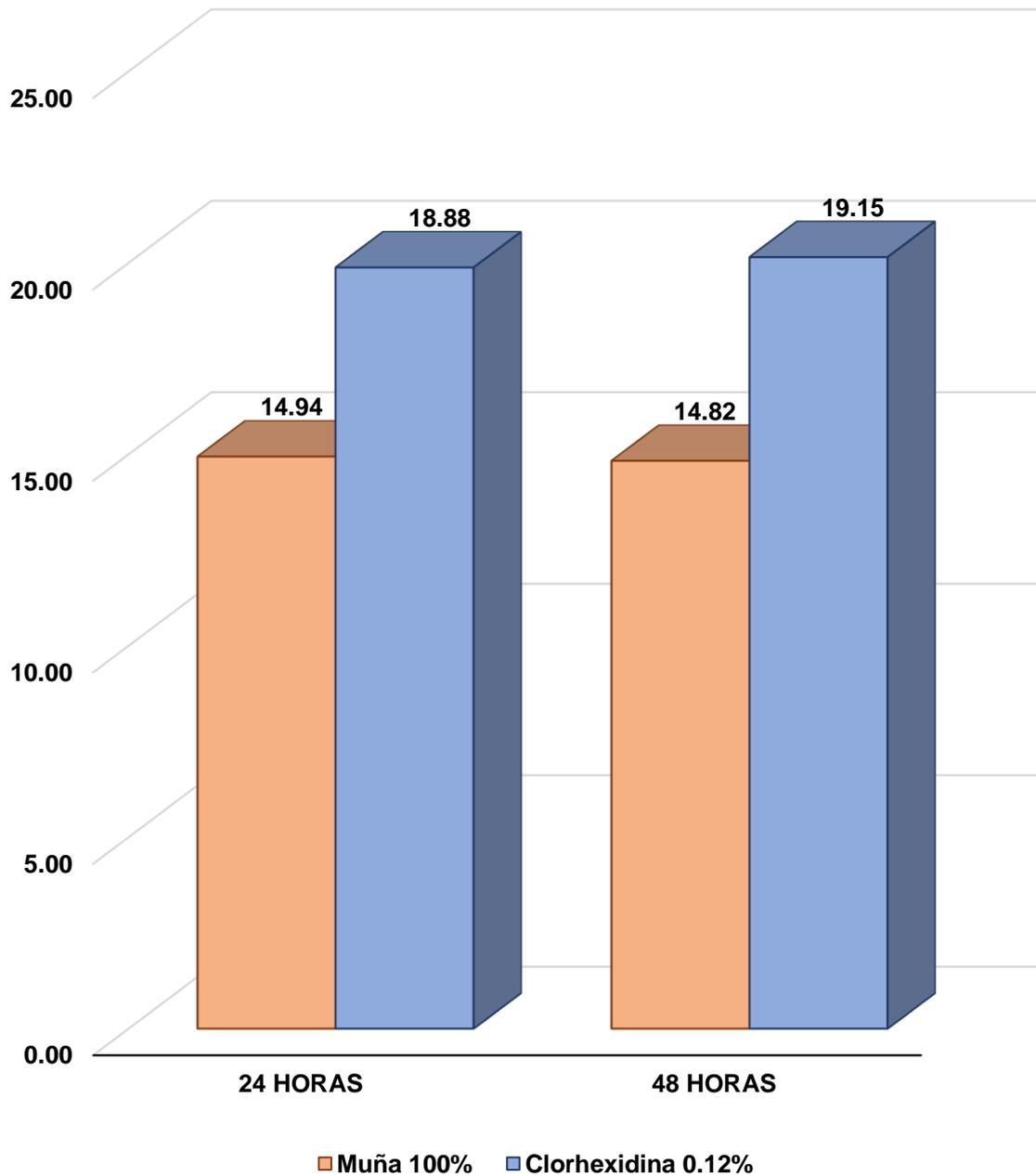
Interpretación:

En la tabla N° 4 se compara la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% y el aceite esencial de “Muña” en una concentración 100% evaluado a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Respecto a Clorhexidina, se puede observar que formó un halo de inhibición promedio de 18.88 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 19.15 mm; para el aceite esencial de “Muña” a una concentración 100%, su halo de inhibición promedio formado correspondió a 14.94 mm a las 24 horas, mientras que a las 48 horas, presento un halo de inhibición promedio de 14.82 mm; es decir, el halo de inhibición de Clorhexidina fue mayor a las 24 horas y 48 horas que el formado por el aceite esencial de “Muña” en esta concentración (Ver gráfico N° 4).

### GRÁFICO N° 4

Actividad antibacteriana *IN VITRO* entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" 100% y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*



**TABLA N° 5**

**Actividad antibacteriana IN VITRO a las 24 horas y 48 horas de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña”, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

GRUPO DE ESTUDIO	HALO DE INHIBICIÓN							
	Media Aritmética		Desviación Estándar		Halo Mínimo		Halo Máximo	
	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs	24 hrs	48 hrs
<b>Romero 50%</b>	14.72	14.65	1.30	1.32	13.45	12.85	16.1	16.65
<b>Romero 100%</b>	23.99	23.57	1.67	1.82	20.65	21.0	26.75	26.6
<b>Muña 50%</b>	10.62	10.49	1.08	1.03	9.65	9.5	12.35	12.55
<b>Muña 100%</b>	14.94	14.82	1.18	1.21	12.9	13.45	16.8	16.8
<b>Clorhexidina 0.12%</b>	19.88	20.15	0.80	0.87	18.35	14.35	22.10	22.2

Fuente: Matriz de datos.

Interpretación:

En la Tabla N° 5 se muestra la actividad antibacteriana a las 24 y 48 horas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña”, en las diferentes concentraciones probadas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Los resultados obtenidos nos permiten definir que, para el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” con una concentración 50%, el halo inhibición a las 24 horas fue en promedio de 14.72 mm, y a las 48 horas fue de 14.65 mm; respecto a la concentración 100%, a las 24 horas el halo correspondió a 23.99 mm, y a las 48 horas fue de 23.57 mm; para el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” la concentración 50%, tuvo un halo a las 24 horas de 10.62 mm, y a las 48 horas fue de 10.49 mm; la concentración 100% el halo a las 24 horas correspondió a 14.94 mm y a las 48 horas fue de 14.82 mm; finalmente, para la concentración de clorhexidina 0.12%, a las 24 horas el halo que se evidenció fue de 19.88 mm, y para las 48 horas, fue de 20.15 mm. Entonces, de acuerdo a estos valores, las menores concentraciones de los aceites esenciales del “Romero” y “Muña” tuvieron los halos de inhibición más grandes, en cuanto al “Romero” fue mayor que Clorhexidina al 0.12% (Ver gráfico N° 5).

### GRÁFICO N° 5-A

Actividad antibacteriana IN VITRO de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* "Romero" y *Minthostachys mollis* "Muña" a las 24 y 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

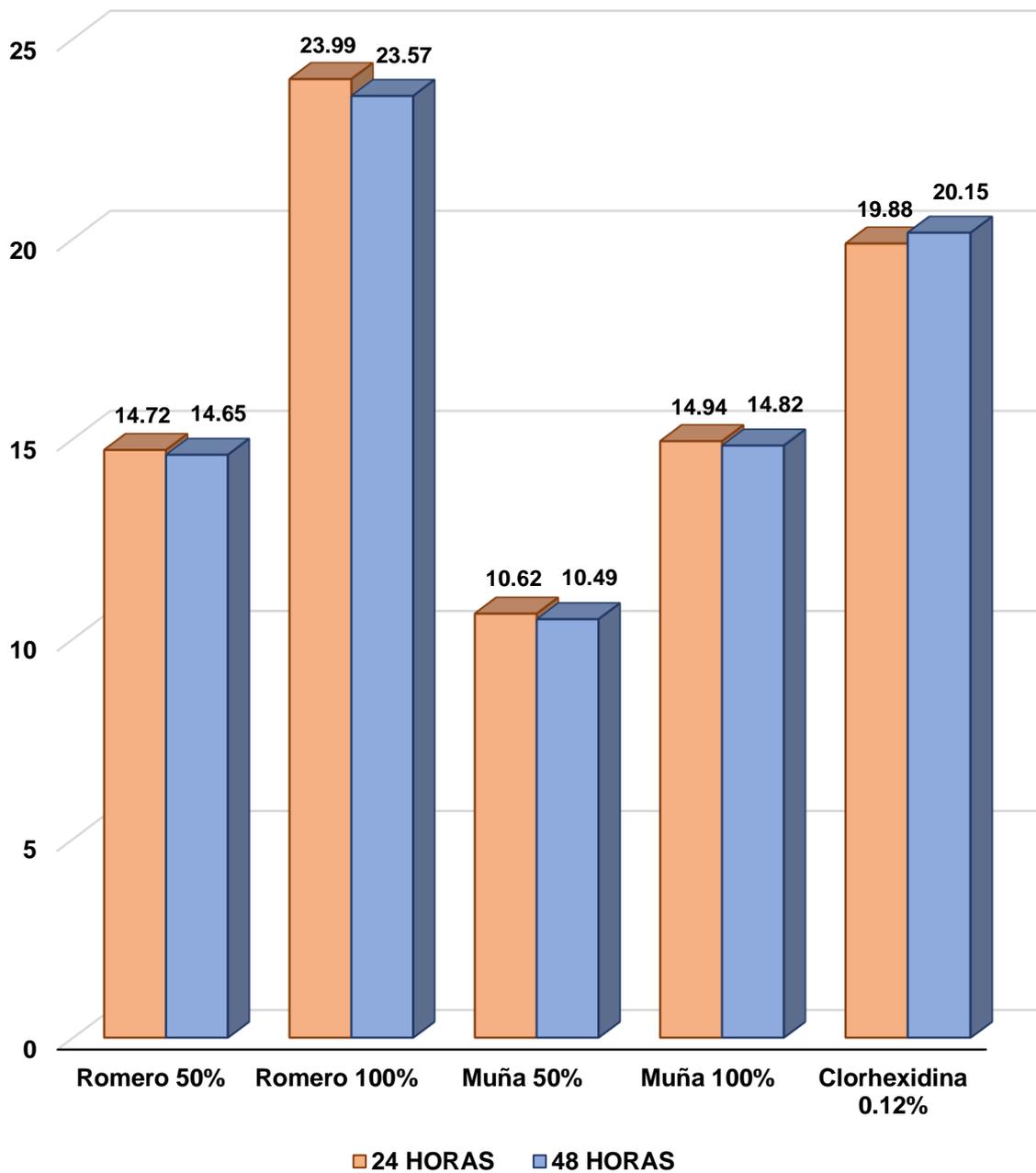
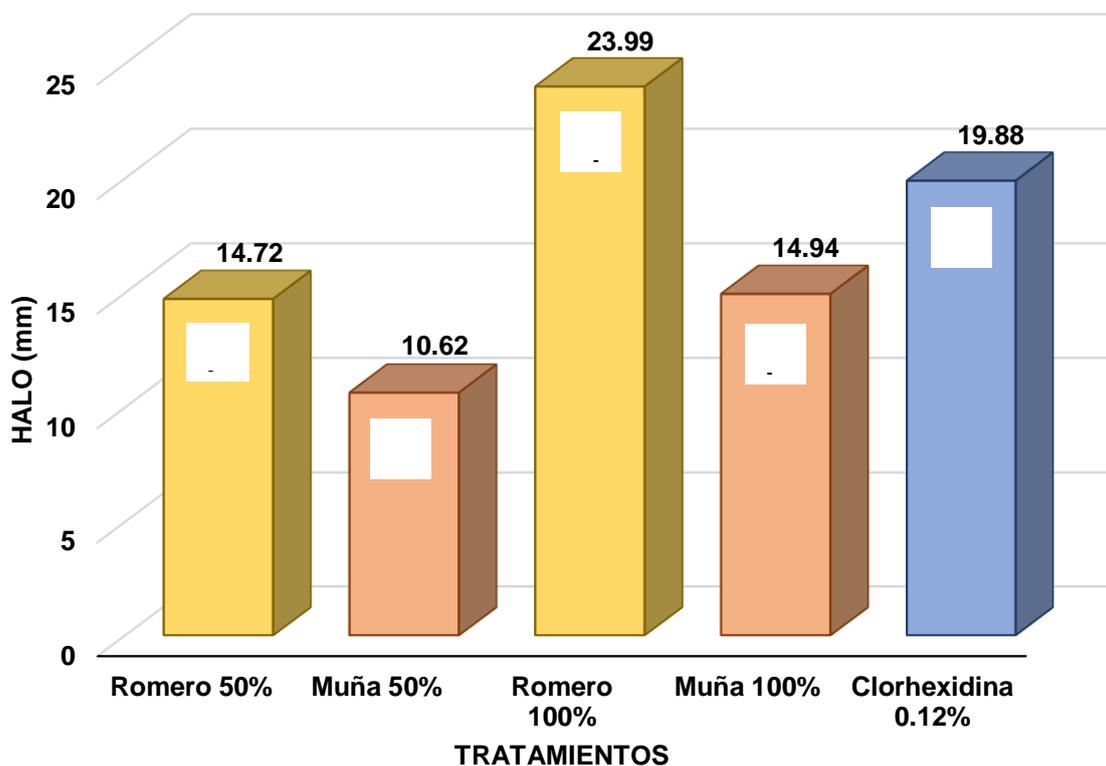


GRÁFICO N° 5-B

Prueba de comparación múltiple TUKEY de la actividad antibacteriana *IN VITRO* entre los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, *Minthostachys mollis* “Muña” y Clorhexidina 0.12 % a las 24 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*

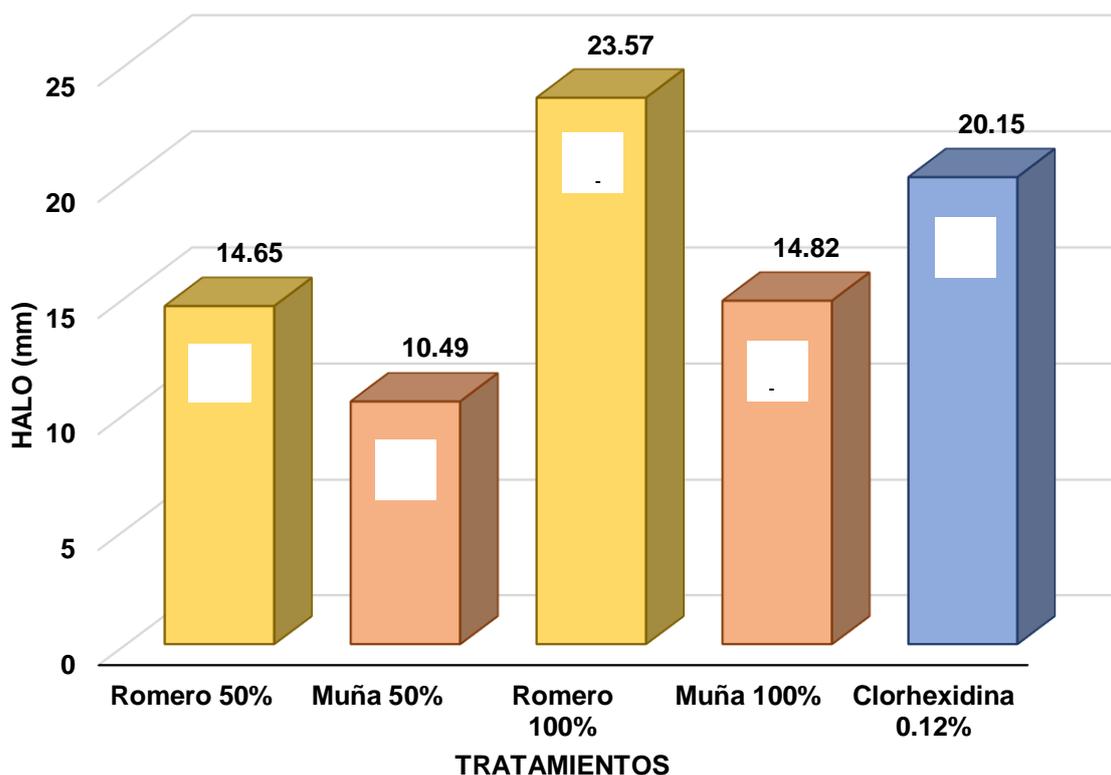


#### Interpretación

El gráfico N° 5 muestra la prueba de comparación múltiple TUKEY la cual muestra la presencia de cuatro grupos (a, b, c y d), siendo el Romero 100% el que presentó mayor halo con 23.99 mm (d), seguido de Clorhexidina con 19.88 mm (c), mientras que los menores halos de inhibición se presentó en Muña 100%, Romero 50% y Muña 50%, con 14.94 mm (b), 14.72 mm (b) y 10.62 (a) respectivamente a las 24 horas de evaluación en de cepas de *Enterococcus faecalis*.

### GRÁFICO N° 5-C

Prueba de comparación múltiple TUKEY de la actividad antibacteriana *IN VITRO* entre los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, *Minthostachys mollis* “Muña” y Clorhexidina 0.12 % a las 48 horas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*



El gráfico N°5 muestra la prueba de comparación múltiple TUKEY la cual muestra la presencia de cuatro grupos (a, b, c y d), siendo el Romero 100% el que presentó mayor halo con 23.57 mm (d), seguido de Clorhexidina con 20.15 mm (c), mientras que los menores halos de inhibición se presentó en Muña 100%, Romero 50% y Muña 50%, con 14.82 mm (b), 14.65 mm (b) y 10.49 (a) respectivamente a las 48 horas de evaluación en de cepas de *Enterococcus faecalis*.

**TABLA N° 6**

**Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

	N° de Tubos								Control	
	1	2	3	4	5	6	7	8	+	-
<b>Caldo BHI</b>	1 ml	1 ml	1 l	1 ml	1 ml					
<b>Aceite esencial de <i>E. faecalis</i></b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/	/
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1ml	/
<b>Concentración del aceite esencial en %</b>	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.56%	0.78%	/	/
<b>Turbidez <i>E. faecalis</i></b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<b>CIM</b>		50%								

Interpretación:

Para la determinación de la CIM se empleó el método de dilución en caldo BHI (Infusión cerebro-corazón). En la tabla N° 6 se observa que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” frente a *Enterococcus faecalis* tiene una CIM de 50% la cual representa actividad antibacteriana a mayor concentración.

**TABLA N° 7**

**Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.**

	N° de Tubos								Control	
	1	2	3	4	5	6	7	8	+	-
<b>Caldo BHI</b>	1 ml	1ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1ml	1ml
<b>Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> “Muña”</b>	1 ml	1ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/	/
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1 ml	1ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1ml	/
<b>Concentración del aceite esencial en %</b>	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.56%	0.78%	/	/
<b>Turbidez <i>E. faecalis</i>.</b>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<b>CIM</b>			25%							

Interpretación:

Para la determinación de la CIM se empleó el método de dilución en caldo BHI (Infusión cerebro-corazón). En la tabla N° 7 se observa que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” frente a *Enterococcus faecalis* tiene una CIM de 50% la cual representa actividad antibacteriana a menor concentración

## 5.2 ANÁLISIS INFERENCIAL

TABLA N° 8

**Prueba de Análisis de Varianza para comparar la actividad antibacteriana *IN VITRO* de las concentraciones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” a las 24 y 48 horas sobre cepas *Enterococcus faecalis***

HALO DE INHIBICIÓN		Valor Estadístico F	Grados de Libertad	Significancia P
<b>24 HORAS</b>	Romero 50%	<b>348.660</b>	95	<b>0.000...</b> <b>(p &lt; 0.01)</b> <b>A.S.</b>
	Romero 100%			
	Muña 50%			
	Muña 100%			
	Clorhexidina 0.12%			
<b>48 HORAS</b>	Romero 50%	<b>316.724</b>	95	<b>0.000...</b> <b>(p &lt; 0.01)</b> <b>A.S.</b>
	Romero 100%			
	Muña 50%			
	Muña 100%			
	Clorhexidina 0.12%			

Interpretación:

La tabla N° 8 muestra la comparación llevada a cabo de la actividad antibacteriana sobre las cepas de *Enterococcus faecalis* de las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” a las 24 y 48 horas (Tabla N° 5), se aplicó la prueba estadística de Análisis de Varianza, que compara más de dos medias aritméticas y nos permite establecer si las diferencias entre los grupos de estudio son o no significativas. Como se aprecia, según la prueba estadística ANOVA, la que presento un valor estadístico de Fisher  $F=348.660$  y  $F=316.724$  a las 24 y 48 horas respectivamente, que indica que existe diferencias altamente significativas ( $P<0.01$ ) por tanto, podemos colegir que a mayores concentraciones de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña”, es mayor la actividad antibacteriana sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

**TABLA N° 9**

**Prueba T de Student para comparar la actividad antibacteriana de Clorhexidina 0.12% con las concentraciones de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” sobre cepas de *Enterococcus faecalis***

CLORHEXIDINA (0.12%)	Valor Estadístico T	Grados de Libertad	Significancia P
<b>24 HORAS</b>	Romero 50%	15.095	38 0.000... (p < 0.05)
	Romero 100%	-9.930	38 0.000... (p < 0.05)
	Muña 50%	30.676	38 0.000... (p < 0.05)
	Muña 100%	15.513	38 0.000... (p > 0.05)
<b>48 HORAS</b>	Romero 50%	15.685	38 0.000... (p < 0.05)
	Romero 100%	-7.585	38 0.000... (p < 0.05)
	Muña 50%	31.956	38 0.000... (p < 0.05)
	Muña 100%	15.953	38 0.000... (p < 0.05)

Interpretación:

En la comparación llevada a cabo de la actividad antibacteriana entre Clorhexidina al 0.12% con las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” (Tablas N° 1, 2, 3 y 4), se aplicó la prueba estadística T de Student, que compara dos medias aritméticas y nos permite determinar si la diferencia encontrada es, o por el contrario no significativa.

Como se aprecia, según la prueba estadística aplicada, la diferencia encontrada entre Clorhexidina 0.12% y el Romero 50%, Romero 100%, Muña 50% y Muña 100% a las 24 horas, fueron altamente significativas, por tanto, a estas concentraciones Clorhexidina tuvo una mejor actividad antibacteriana que el Romero 50%, Muña 50% y Muña 100%, excepto del Romero 100%, puesto que este presentó mejor actividad antibacteriana.

Respecto a Clorhexidina 0.12% frente los aceites esenciales de Romero 50%, Romero 100%, Muña 50% y Muña 100% a las 48 horas, las diferencias encontradas fueron altamente significativas, por lo que podemos concluir que Clorhexidina tuvo mejor actividad antibacteriana que el Romero 50%, Muña al 50% y Muña 100%, excepto del Romero 100%, puesto que este presentó mejor actividad antibacteriana.

### 5.3. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### A. Hipótesis principal:

Es probable que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sea mayor eficaz que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas

#### Regla de Decisión:

Si  $P \geq 0.05$  No se acepta la hipótesis.

Si  $P < 0.05$  Se acepta la hipótesis.

#### Conclusión:

De acuerdo con los resultados obtenidos luego de la recolección de datos (Tabla N° 5), procedemos aceptar la hipótesis principal, pues se demostró que los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* "Romero" y *Minthochys mollis* "Muña" tuvieron efecto antibacteriano en sus diferentes concentraciones sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

#### B. Hipótesis Derivada:

Primera:

Es probable que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) tenga mayor eficacia antibacteriana en concentración 50 y 100% que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

**Regla de Decisión:**

Si  $P \geq 0.05$  No se acepta la hipótesis.

Si  $P < 0.05$  Se acepta la hipótesis.

**Conclusión:**

De acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla N° 5), procedemos a rechazar la hipótesis derivada, pues se ha demostrado quien tuvo mayor efecto antibacteriano es el *Rosmarinus officinalis* "Romero" 100% que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 24 y 48 horas de la evaluación.

Segunda:

Es probable que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% tenga mayor efecto antibacteriano que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas.

**Regla de Decisión:**

Si  $P \geq 0.05$  No se acepta la hipótesis.

Si  $P < 0.05$  Se acepta la hipótesis.

**Conclusión:**

De acuerdo con los resultados obtenidos (Tabla N° 5), procedemos a aceptar la hipótesis derivada, pues se ha demostrado quien tuvo mayor efecto antibacteriano es el *Rosmarinus officinalis* "Romero" 100% aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a las 24 y 48 horas de la evaluación.

#### 5.4. DISCUSIÓN

La presente investigación incluyó concentraciones de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña”, en sus concentraciones 50% y 100% para cada una, determinando que la concentración de Romero al 100% tiene mejor efecto antibacteriano.

La investigación realizada por Moncada V, Francisco M, refiere que el aceite esencial de Molle presenta actividad antimicrobiana intermedia frente a *Staphylococcus aureus* y que cumple con la bacteria utilizada en la investigación ya que las dos son Gram positivas, esto nos permite determinar que los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y *Minthostachys mollis* “Muña” tienen actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas.

La investigación realizada por Neira L., Javier E., menciona que el aceite esencial etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) presenta efectividad antibacteriano a la concentración de 30 mg/ml en cepa de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, dicha investigación concuerda con el realizado ya que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” presenta efectividad antibacteriano a las concentraciones de 50% y 100% en cepas de *Enterococcus faecalis*, ya que dichas bacterias son gran negativas y se encuentran en la flora bacteriana bucal.

La investigación realizada por Salirrosas T., William E., indica que el aceite esencial de Romero en sus concentraciones de 5%, 25%, 50%, 75% y 100% inhiben el crecimiento de *Enterococcus faecalis* a las 24 horas de incubación, esto concuerda con nuestra investigación lo cual nos muestra actividad antimicrobiana en las concentraciones de 50% y 100% a las 24 y 48 horas en cepas de *Enterococcus faecalis*.

La investigación realizada por Huallpa T., Elizabeth E., indica el efecto inhibición del aceite esencial de Muña presenta efectividad sensible con 9.18 mm y 8.68 mm a las 24 y 72 horas respectivamente, y mezclado con hidróxido de calcio presenta efectividad muy sensible con 16.17 mm y 15.36

mm a las 24 y 72 horas, esto concuerda con nuestra investigación ya que el aceite esencial de Muña al 50% manifiesta efectividad sensible con un halo promedio de 10.62 mm y 10.49 mm a las 24 y 48 horas respectivamente y al 100% manifiesta efectividad muy sensible con un halo promedio de 14.94 mm y 14.83 mm a las 24 y 48 horas respectivamente en cepas de *Enterococcus faecalis*.

La investigación realizada por Cueva R., Javier, indica que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) mostró actividad antibacteriano “in vitro” en cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas, lo cual concuerda con nuestra investigación puesto que el Romero al 100% muestra efectividad sumamente sensible frente a cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas, ya que las dos cepas utilizadas son bacterias Gram positivas.

La investigación realizada por Alaba C., Wesley, indica que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” al 100% posee mayor actividad inhibitoria in vitro a las 24 horas sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, esto concuerda con nuestro estudio puesto que la Muña al 100% manifiesta efectividad sensible con un halo promedio de 10.62 mm y 10.49 mm a las 24 y 48 horas respectivamente en cepas de *Enterococcus faecalis*.

La investigación realizada por Aylas C., Roosevelt E., menciona que el aceite esencial de *Minthostachys sp* (Muña) frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 presenta el mismo efecto que un colutorio comercial, para *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 presenta mejor efectividad que un colutorio comercial y *Candida albicans* ATCC 10231 que presenta mayor efectividad que el colutorio comercial, esto concuerda con nuestro estudio ya que presenta actividad antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en comparación con la cepa utilizada de *Enterococcus faecalis* ya que estas dos son gran positivas.

La investigación realizada por Sosa F., Josué A., menciona que a la concentración de 25mg/ml el aceite esencial alcohólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero” produjo un halo promedio de 25 mm, a la concentración

de 50 mg/ml obtuvo un halo de inhibición promedio de 36 mm en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 horas, esto concuerda con nuestro estudio puesto que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” a la concentración de 50% produjo un halo de inhibición promedio de 14.72 mm y 14.60 mm y al 100% produjo un halo de inhibición promedio de 23.99 mm y 23.57 mm a las 24 y 48 respectivamente, mostrando efecto bactericida.

La investigación realizada por Quispe H., Dánika y Mamani A., Jhonny, indican que el efecto inhibición in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) a la concentración de 100% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* presenta gran actividad inhibitoria a las 12 horas, esto concuerda con nuestro estudio ya que *Minthostachys mollis* “Muña” al 100% presenta actividad inhibitoria sensible en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 horas de evaluación.

La investigación realizada por Purca P., Taylor P., menciona que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero” presenta efectividad antibacteriano en las concentraciones de 25 mg/ml con un halo promedio de 12.47 mm, para 50 mg/ml con 17.00 mm y para 75 mg/ml un halo inhibición de 20.56 mg/ml a las 24 y 48 horas sobre la flora salival, esto concuerda con nuestra investigación ya que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” en las concentraciones de 50% y 100% presentan efectividad antibacteriano en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas de evaluación.

La investigación realizada por Loja M., Madeleine, menciona que el aceite esencial alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) como colutorio muestra efecto antibacteriano in vitro frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, lo cual concuerda con nuestra investigación, ya que el *Rosmarinus officinalis* “Romero” muestra efectividad antibacteriano en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas de evaluación.

La investigación realizada por Gaje S., Alexis I., menciona que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” presenta efectividad antibacteriano a la concentración de 25% con un halo de 11.20 mm, para 50% un halo de

9.60 mm y al 100% un halo de 13.60 mm en cepas de *Porphyromonas gingivalis*, dicho estudio concuerda con el realizado, ya que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" presenta efectividad antibacteriano en las concentraciones de 50% y 100% en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas de evaluación.

La investigación realizada por Ortega S., Eliana J., menciona que el aceite esencial de Romero al 10% consigue prevenir o detener la aparición de la bacteria *Streptococcus mutans* lo cual presenta efectividad antibacteriano, el presente estudio concuerda con el realizado ya que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" al 50% y al 100% muestran efectividad antibacteriano en cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas de evaluación.

La investigación realizada por Martínez J., Jorge A., menciona que el extracto de *Rosmarinus officinalis* (Romero) presenta sensibilidad bacteriana con 60% y 80% de concentración en cepas de *Escherischia coli*, esto concuerda con nuestro estudio en la sensibilidad bacteriana de *R. officinalis* (Romero) en las concentraciones de 50% y 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas de evaluación.

## CONCLUSIONES

- PRIMERA** : El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" a la concentración 50% a las 24 horas presento un halo de inhibición de 14.72 mm y a las 48 horas 14.65 mm y a la concentración 100% a las 24 horas se produjo un halo de inhibición de 23.99 y a las 48 horas 23.57 mm respectivamente; el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" a la concentraciones 50% a las 24 horas un halo de inhibición de 10.62 mm y a las 48 horas 10.49 mm y 100% a las 24 horas un halo de inhibición de 14.94 mm y a las 48 horas 14.83 mm. respectivamente sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*, como resultado obtenido siendo mayor efecto antibacteriano el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" fue mayor en comparación con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña" 100% a las 24 horas con un halo de sensibilidad de 23.99 mm sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.
- SEGUNDA** : El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" a la concentración 50% a las 24 horas tuvo un halo de inhibición de 14.72 mm, y a las 48 horas de 14.60 mm; la concentración 100% a las 24 horas de 23.99 mm y a las 48 horas de 23.57 mm, respectivamente el resultado siendo mayor efecto antibacteriano que se dio de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" 100% a las 24 horas con un halo de sensibilidad de 23.99 mm sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

**TERCERA** : El efecto antibacteriano aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” a la concentración 50% a las 24 horas presento un halo de inhibición de 10.63 mm, y a las 48 horas de 10.49 mm; la concentración 100% a las 24 horas el halo de inhibición fue de 14.94 mm y a las 48 horas de 14.83 mm, respectivamente el resultado siendo mayor efecto antibacteriano que se dio de aceite esencial *Minthostachys mollis* “Muña 100% a las 24 horas con un halo de sensibilidad de 14.94 mm sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

**CUARTA** : El efecto antibacteriano el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” fue mayor en comparación con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña” 100% a las 24 horas con un halo de sensibilidad de 23.99 mm sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

## RECOMENDACIONES

- PRIMERA** : Se recomienda investigar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *minthostachys mollis* (Muña) de colutorio frente a microorganismos de enfermedad periodontal.
- SEGUNDA** : Se recomienda realizar estudios del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) como irrigante en tratamiento de endodoncia.
- TERCERA** : Se recomienda realizar sinergia de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Minthostachys mollis* (Muña) en bacterias presentes en la enfermedad periodontal.
- CUARTA** : Se recomienda realizar estudios comparativos de factores ambientales que influyen en aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Minthostachys mollis* (Muña).
- QUINTA** : Se recomienda realizar estudios sobre componente químico de la Muña, como por ejemplo el carvacrol.
- SEXTA** : Se recomienda a los estudiantes y egresados del área de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, de la Escuela de Estomatología; realizar mayores estudios en "IN VIVO" sobre el mecanismo de acción que tienen los componentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) *Minthostachys mollis* (Muña) con relación a su efectividad antimicrobiana.
- SÉPTIMA** : Se recomienda realizar estudios experimentales IN VITRO de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración al 50 Y 100% frente a bacterias más prevalentes de la enfermedad periodontal.

**OCTAVA** : Realizar estudios IN VIVO del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a fin de verificar si con los resultados IN VITRO son similares.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ojeda G.J.C, Oviedo G.E, S.A.L. Enterococcus faecalis en Dientes con Periodontitis. Tesis. Colombia: Universidad Cooperativa Facultad de Odontología, Colombia; 2013. Recapitulación Octubre del 2018.
2. Ortega G.L.M. Enterococos. Scielo. 2010 Octubre; 9(4). Recapitulación. Octubre del 2018.
3. Castañeda A.W. Efecto Inhibición del Aceite Esencial de las Hojas de *Mintostachys mollis* (Muña) sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212. Tesis. Lima: Universidad Nacional de Trujillo Escuela de Postgrado-Sección de Ciencias Médicas Maestría en Estomatología, Trujillo; 2013. Report No.: ISBN. Recapitulación Octubre del 2018.
4. Sosa F.J.A. Efecto Antibacteriano IN VITRO del Extracto Alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y del Agua Ozonizada sobre Streptococcus Mutans y Enterococcus faecalis. Tesis. Perú: Universidad Señor de Sipán. Escuela Profesional de Estomatología, Lima; 2015. Recapitulación Octubre del 2018.
5. Loja M.M. Efecto Antibacterino IN VITRO de un Colutorio Elaborado con Extracto Alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) sobre Streptococcus Mutans y Enterococcus faecalis. Tesis. Perú: Universidad Señor de Sipán. Escuela Académico Profesional de Estomatología, Trujillo; 2017. Recapitulación Setiembre del 2018.
6. Merma F.A.B. Conservación del Ketchup de Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea*) Mediante la utilización del Aceite Esencial de Muña (*Mintostachys spicata*). Tesis. Lima: Universidad Nacional del Altiplano. Escuela Profesional de Estomatología, Puno; 2014. Recapitulación Noviembre del 2018.
7. Liebana J.C.M.A, Álvarez M, Enfermedad Periodontal: Consideraciones Microbiológicas. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. 2004; 1(17): P. 76. Recapitulación Enero del 2019.

8. Adhanom Ghebreyesus Tedros. Organización Mundial de la Salud (OMS). [Online]; 2012 [Cited 2012 Abril. Available From: [Http://Www.Who.Int/Mediacentre/Factsheets/Fs318/Es/](http://Www.Who.Int/Mediacentre/Factsheets/Fs318/Es/). Recapitulación Noviembre del 2018.
9. Escudero C.N, Perea G.M.A , Bascones M.A. Revisión de la Periodontitis Crónica Evolución y su Aplicación Clínica. Avances en Periodoncia. 2008 Abril; 20(1). Recapitulación Noviembre del 2018.
10. Armijo P.J.A. Presencia de *Enterococcus faecalis* en Dientes con Diagnostico de Periodontitis Periapical Asintomático. Tesis Doctoral. Chile: Universidad de Chile Facultad de Odontología, Santiago; 2011. Report No.: 38. Recapitulación Noviembre del 2018.
11. Purca P.T.P. Efectividad Antibacteriano IN VITRO del Extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre la Flora Salival. Tesis. Lima: Universidad Nacional de San Marcos Facultad de Odontología, Lima; 2013. Recapitulación Setiembre del 2018.
12. Torrenegra A.M, Granados C.C, Duran L.M, León M.G, Yñez RX, Martínez C, Pajaro CN. Composición Química y Actividad del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia. 2016 Enero; I(6): P. 69-70. Recapitulación Agosto del 2018.
13. Gaje S.A.I. Efectividad Antimicrobiana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* al 25, 50, 100% frente a *Porphyromonas gingivalis* estudio IN VITRO. Tesis Doctoral. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología Unidad de Investigación, Titulación y Graduación, Quito; 2016. Recapitulación Agosto del 2018.
14. Ortega S.J.E. Efectividad de Inhibición del Extracto de Tomillo y Romero al 10% Frente al *Streptococcus mutans* en 20 Muestras. Tesis Doctoral. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología, Quito; 2016. Recapitulación Agosto del 2018.

15. Huallpa T.E.E. Efecto Inhibidor del Aceite Esencial Muña mezclado con Hidróxido de Calcio Comparado con cuatro soluciones frente a "Enterococcus faecalis". Tesis. Perú: Universidad Privada Wiener Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académica Profesional de Odontología, Lima; 2017. Recapitulación Setiembre del 2018.
16. Salirrosas T.W.E. Efecto Antibacteriano IN VITRO del Aceite Esencial de Rosmarinus officinalis (Romero) sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212. Tesis. Perú: Universidad Nacional de Trujillo Facultad de Estomatología, Trujillo; 2016. Recapitulación Noviembre del 2018.
17. Moncada V.F.M. Determinación de la Composición y Actividad Antimicrobiana del Aceite Esencial de Schinus Molle de Arequipa y Moquegua contra Klebsiella pneumoniae, Pseudomona aeruginosa y Staphylococcus aureus. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Arequipa; 2013. Recapitulación Noviembre del 2018.
18. Espinoza I.Z. Análisis Comparativo del Efecto Antibacteriano de la Piper Aungustifolium (Matico) y de Hidróxido de Calcio sobre el Enterococcus faecalis. Tesis. Lima: Universidad Alas Peruanas Escuela de Estomatología, Arequipa; 2012. Recapitulación Noviembre del 2018.
19. Malpartida Q.F.M. "Efecto Inhibidor del Aceite Esencial de Minthostachys mollis (Muña) en Comparación al Paramonoclorofenol Alcanforado y Gluconato de Clorhexidina al 2% frente a cepas de Enterococcus faecalis. Estudio IN VITRO. Tesis. Perú: Universidad Alas Peruanas, Lima; 2010. Recapitulación Diciembre del 2018.
20. Castro M.M.A. Comparación de los Compuestos Terpenicos del Aceite Esencial de Muña (Minthostachys mollis) extraído de las Hojas Frescas y Secas. Tesis. Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú. Facultad de Ingenieria en Industrias Alimentarias, Huancayo; 2012. Recapitulación Diciembre del 2018.

21. Quispe H.D, Mamani A.J. Efecto Inhibición IN VITRO del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (Muña) sobre Microorganismos Prevalentes en Patologías Periapicales Crónicas de Origen Endodóntico UNA Puno 2016. Tesis. Lima: Universidad Nacional del Altiplano Facultad Ciencias de Salud Carrera Profesional de Odontología, Puno; 2016. Recapitulación Enero del 2018.
22. Merma F.A.B. Conservación del Ketchup de Tomate de Árbol (*Cyphomandra Betacea*) mediante la Utilización del Aceite Esencial de Muña (*Minthostachys Spicata*)". Tesis. Puno: Universidad Nacional del Altiplano, Puno; 2014. Recapitulación Enero del 2018.
23. Suarez R.I.M. Actividad Antimicrobiana IN VITRO del Extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre Cultivos de Bacterias Anaerobias Frecuentes en Pacientes con Bolsa Periodontal. Tesis. Lima: Universidad Nacional de San Marcos Facultad de Odontología, Lima; 2013. Recapitulación Noviembre del 2018.
24. Purca P.T.P. Efectividad Antibacteriano IN VITRO del Extracto etanólico *officinalis* (Romero) sobre Flora Salival. Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Odontología, Lima; 2013. Recapitulación Diciembre del 2018.
25. Covo M.E. Determinación de la Presencia de Subespecies de *Enterococcus faecalis* en dientes con Peridontitis Apical Asintomática y Periodontitis Apical Asintomática. Tesis. Colombia: Universidad de Cartagena. Facultad de Odontología, Cartagena; 2017. Recapitulación Noviembre del 2018.
26. Gil M. *Enterococcus faecalis*. In *Microbiología*; 2012; Venezuela. P. 1. Recapitulación Noviembre del 2018.
27. Vázquez A.J. Presencia de *Enterococcus faecalis* en un Grupo de Pacientes Chilenos con Periodontitis Crónica. Tesis. Santiago: Departamento de Odontología Conservadora y Patología y Medicina Oral, Chile; 2014. Recapitulación Noviembre del 2018.

28. Fuente C.L.P, Acuña C.L, Enrique M.J.A, Estrada V.C, García D.M. Tratamiento Farmacológico de Absceso Periapical como resultado de Necrosis Pulpar. Facultad de Odontología Torreon, U.A.D.E.C. 2016 Julio; 6(47). Recapitulación Enero del 2018.
29. Huallpa T.E.E. Efecto Inhibidor del Aceite Esencial de Muña. Tesis. Perú: Universidad Privada Norbert Wiener Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académico Profesional de Odontología, Lima; 2017. Recapitulación Noviembre del 2018.
30. Quispe D.J. Evaluación del Efecto Antibacteriano de los Irritantes endodónticos contra cepas del *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) Lima: Upca; 2017. Recapitulación Diciembre del 2018.
31. Aylas C.R.E. Evaluación de la Efectividad Antimicrobiana de un Colutorio a Base de los Aceites esenciales de *Eucalyptus globulus labill* (Eucalipto) y *Minthostachys Sp.* (Muña), Frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 y *Candida Albica*. Tesis. Perú: Universidad Wiener, Lima; 2017. Recapitulación Enero del 2018.
32. Ávila S.R, Rhode N.C,Vera L.O, Davila M.R.M, Melgoza P.N, Meza Pluma R. Romero (*Rosmarinus officinalis L.*). Ávila-Sosa Et al. 2012 Julio; 1: P. Recapitulación Noviembre del 2018.

## ANEXOS

### ANEXO N° 1: FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

	MUÑA		ROMERO			
	24 HORAS					
	50%	100%	50%	100%	Control +	Control -
<b>Muestra 1</b>						
<b>Muestra 2</b>						
<b>Muestra 3</b>						
<b>Muestra 4</b>						
<b>Muestra 5</b>						
<b>Muestra 6</b>						
<b>Muestra 7</b>						
<b>Muestra 8</b>						
<b>Muestra 9</b>						
<b>Muestra 10</b>						
<b>Resultados</b>						

	<b>MUÑA</b>		<b>ROMERO</b>			
	<b>48 HORAS</b>					
	<b>50%</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>100%</b>	<b>Control +</b>	<b>Control -</b>
<b>Muestra 1</b>						
<b>Muestra 2</b>						
<b>Muestra 3</b>						
<b>Muestra 4</b>						
<b>Muestra 5</b>						
<b>Muestra 6</b>						
<b>Muestra 7</b>						
<b>Muestra 8</b>						
<b>Muestra 9</b>						
<b>Muestra 10</b>						
<b>Resultados</b>						

## ANEXO N° 2: MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN

	MUÑA		ROMERO			
	24 HORAS					
	50%	100%	50%	100%	Control +	Control -
<b>Muestra 1</b>	9.65	14.35	14.9	25.8	20.9	0
<b>Muestra 2</b>	11.06	13.49	13.6	20.65	21.65	0
<b>Muestra 3</b>	12.07	16.69	13.45	22.15	19.6	0
<b>Muestra 4</b>	10.05	13.65	16.1	26.75	19.69	0
<b>Muestra 5</b>	10.49	15.63	15.9	25.65	20.9	0
<b>Muestra 6</b>	10.95	12.9	13.64	22.8	18.65	0
<b>Muestra 7</b>	9.65	15.09	15.9	23.05	19.4	0
<b>Muestra 8</b>	12.35	16.8	14.6	25.12	19.5	0
<b>Muestra 9</b>	10.65	15.09	15.25	24.35	18.9	0
<b>Muestra 10</b>	9.35	15.7	13.95	23.65	19.7	0
<b>Resultados</b>	10.627	14.939	14.729	23.997	19.889	0

	<b>MUÑA</b>		<b>ROMERO</b>			
	<b>48 HORAS</b>					
	<b>50%</b>	<b>100%</b>	<b>50%</b>	<b>100%</b>	<b>Control +</b>	<b>Control -</b>
<b>Muestra 1</b>	9.5	13.65	14.6	21	19	0
<b>Muestra 2</b>	11.4	13.85	16.45	22.79	21.05	0
<b>Muestra 3</b>	12.55	16.2	14.5	21.45	19.8	0
<b>Muestra 4</b>	10.4	13.85	16.65	26.4	23.2	0
<b>Muestra 5</b>	10.6	14.7	15.5	25.5	20.2	0
<b>Muestra 6</b>	10.04	13.45	12.85	23.85	19.85	0
<b>Muestra 7</b>	10.6	16.8	13.9	25.65	19.4	0
<b>Muestra 8</b>	9.4	16.5	14	23.3	18.5	0
<b>Muestra 9</b>	10.5	14	14.35	23.05	20.15	0
<b>Muestra 10</b>	10	15.25	13.7	22.7	20.3	0
<b>Resultados</b>	10.499	14.825	14.65	23.569	20.145	0

**ANEXO N° 3: DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA**

**CONSTANCIAS DE HERBARIUM AREQUIPENSE (HUSA) DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN AGUSTÍN AREQUIPA**



“Año de la lucha contra corrupción e impunidad”

**CARTA DE PRESENTACIÓN**

**Señor.:**

**Blgo. Alex Paul Dueñas Gonza**  
Director de Laboratorio  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
Presente.-

El que suscribe: **Dr. Segundo García Rodríguez, Director General (e)** de la Universidad Alas Peruanas – Filial Arequipa, extiende la siguiente carta de presentación para el(a) Alumno(a):

**BORDA GAMARRA, DINA**

Identificado (a) con DNI. N° 47854453, con Código de Alumno (a) N°2013229598 perteneciente a la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, de la **Escuela Profesional de Estomatología**, quien culminó sus estudios académicos en nuestra Casa Superior.

Se extiende la presente Carta a la interesada para el desarrollo de sus Prácticas Profesionales en vuestra importante Institución. Esta Modalidad formativa laboral se desarrollará según lo dispuesto en la Ley sobre Modalidades Formativas Laborales, Ley Nro. 28518.

Arequipa, 22 de enero del 2019.

  
Dr. Segundo García Rodríguez  
DIRECTOR GENERAL (e)

CC:  
Archivo  
SGR  
ComunidadUAP.Oficial  
• Av. San Felipe 1109 Jesús María  
• (01) 266 0195 Anexos 127 / 153

www.uap.edu.pe

**SOLICITO:** constancia del estudio de la clasificación Taxonomía de la planta de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) Y *Minthostachys Mollis* (Muña)

**SR.BLGO. LEONCIO MARIÑO HERRERA DIRECTOR DEL HERBARIUM AREQUIPENSIS HUSA.**

Borda Gamarra Dina, con DNI 47854453 Domicilio Av. Upis San José Pampas de Polanco, Distrito de Alto Selva Alegre, Departamento de Arequipa. Ante usted con el debido respeto me presento y expongo

Que actualmente me encuentro desarrollando mi tesis para el título “**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (Muña) y ACEITE ESENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* (Romero) SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS**”, para tal caso he utilizado una planta originaria del departamento de Arequipa y debiendo tener una constancia de la calificación taxonomía de dichas plantas, es que recurro a su despacho para solicitar se sirva ordenar quien corresponda la realización de dicho estudio, a su vez pedirle que en la constancia se indique el nombre de la persona encargada de dicho estudio, ya que a solicitud de mis jurados.

**POR LO EXPUESTO:**

Pido a usted Sr. D. acceder a mi solicitud por considérala justa.

Adjunto a la presente una muestra fresca de Romero y Muña y el pago respectivo.

Arequipa, 12 de Noviembre del 2018



**Dina Borda Gamarra**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA**  
**HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)**



**CONSTANCIA N° 069-2018-HUSA**

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

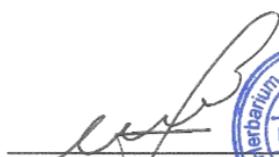
HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por Dina Borda Gamarra, egresada de la carrera de estomatología de la Universidad Alas Peruanas, para la ejecución de su Tesis "**Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre cepas de *Enterococcus faecalis***". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

**Reino:** Plantae  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Orden:** Lamiales  
**Familia:** Lamiaceae  
**Género:** *Minthostachys*  
**Especie:** *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 14 de noviembre del 2018.

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 993659045  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA – PERÚ



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 070-2018-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por Dina Borda Gamarra, egresada de la carrera de estomatología de la Universidad Alas Peruanas, para la ejecución de su Tesis "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Orden: Lamiales  
Familia: Lamiaceae  
Género: *Rosmarinus*  
Especie: *Rosmarinus officinalis* L.

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 14 de noviembre del 2018.

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 993659045  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA - PERÚ

#### ANEXO N° 4: OBTENCIÓN, SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL, ESTABILIZACIÓN, TRITURACIÓN EMPAQUETADO DEL VEGETAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* “ROMERO”

La especie a investigar *Rosmarinus officinalis* “Romero” se compró en el mercado Avelino, Arequipa departamento de Arequipa, posteriormente fue trasladado al área de laboratorio de la Universidad Nacional de San Agustín Facultad de Ciencias Biológicas. **Imágenes (1)**



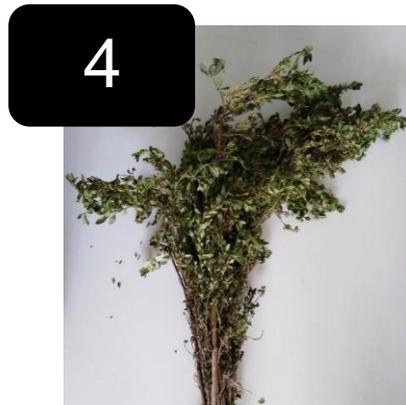
#### Obtención de *Rosmarinus officinalis* “Romero”:

Primeramente ya todo empaquetado se procede a colocar los elementos en las bandejas se trabajará con un 4Kg de *Rosmarinus officinalis* “Romero” se pesaran las hojas, luego serán empaquetadas en sobres de papel periódico para ser sometidas a calor seco a temperatura de 80 °C en una estufa por un periodo de 20 minutos. **Imágenes (2) (3).**



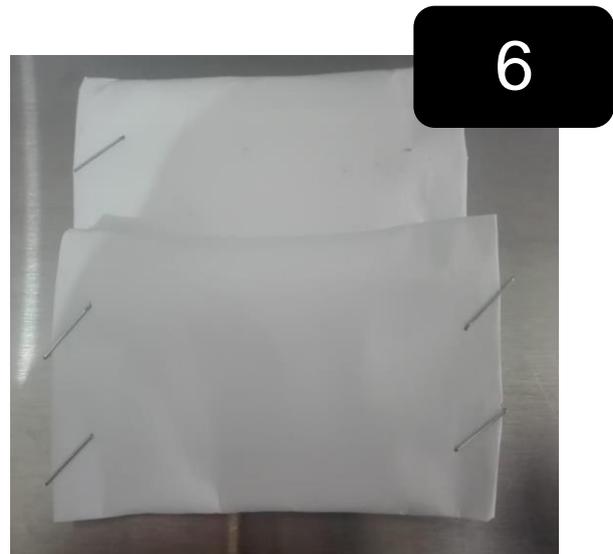
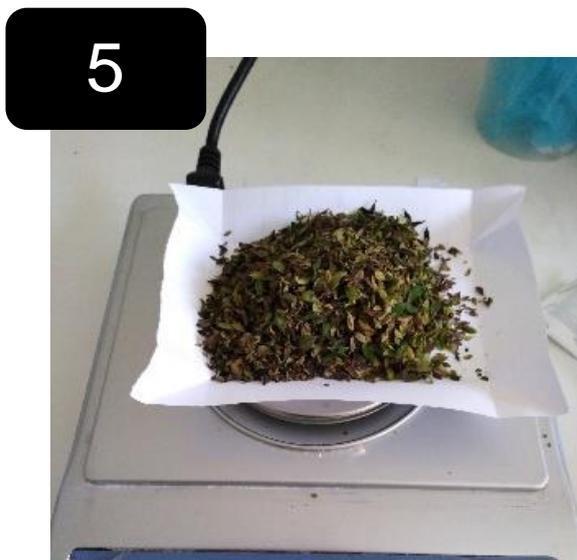
**ANEXO N° 5: OBTENCIÓN, SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL, ESTABILIZACIÓN, TRITURACIÓN, EMPAQUETADO DEL VEGETAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* “MUÑA”**

La especie a investigar es *Minthostachys mollis* “Muña” se compro en el mercado Avelino, Arequipa departamento de Arequipa, Posteriormente fue trasladado al área de laboratorio de la Universidad Nacional de San Agustín Facultad de Ciencias Biológicas **Imágenes (4)**



**Obtención de *Minthostachys mollis* “Muña”:**

Primeramente ya empaquetado y pesado; después se procede a colocar los elementos en las bandejas trabajará con un 4 Kg de *Minthostachys mollis* “Muña” se retirarán las hojas para la extracción, luego serán empaquetadas en sobres de papel para ser sometidas a calor seco a temperatura de 80 °C en una estufa por un periodo de 20 minutos. **Imágenes (5) (6)**



## ANEXO N° 6: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS ACEITE ESENCIAL

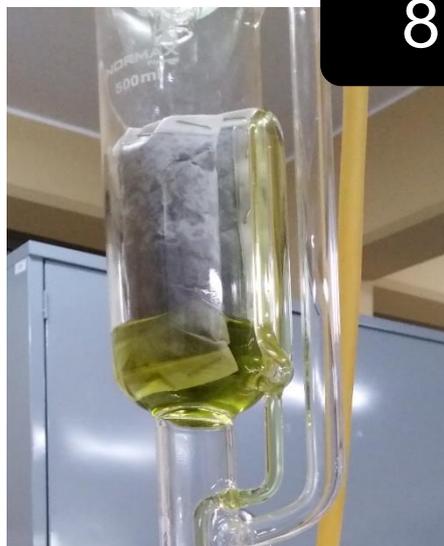
### MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOXHLET PARA EL ACEITE ESENCIAL *ROSMARINUS OFFICINALIS* “ROMERO”

Primeramente se tiene los materiales completos para proceder. Seguidamente colocamos el sifón y con cuidado el empaquetado de las hojas esterilizadas de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y luego agregamos 250 ml de (etanol de 96°) y seguido colocamos a baño maría el balón del equipo que contiene el solvente y para poder controlar la temperatura (termómetro) así completamos terminar de ensamblar todas las partes de Soxhlet e iniciamos activar el equipo. **Imágenes (7) (8)**

7



8



Posteriormente conectamos una cocina eléctrica controlando la T° dentro del punto de ebullición que vendría a ser 79°, luego después de terminar el proceso dejamos enfriar el equipo y desarmar cada uno individualmente por etapas y al final obtenemos el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “Romero” y se proseguirá aguardarse en un frasco. **Imágenes (9)**

9



## ANEXO N° 7: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE LOS ACEITE ESENCIAL MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOXHLET PARA EL ACEITE ESENCIAL *MINTHOSTACHYS MOLLIS* “MUÑA

Primeramente se tiene los materiales completos para proceder. Colocamos el sifón y con cuidado el empaquetado de las hojas esterilizadas de *Minthostachys mollis* “Muña y luego agregamos 250 ml de (etanol de 96°) y seguido colocamos a baño maría el balón del equipo que contiene el solvente y para poder controlar la temperatura (termómetro) hacia completamos terminar de ensamblar todas las partes de Soxhlet e iniciamos activar el equipo. **Imágenes (10) (11)**

10



11



Posteriormente conectamos una cocina eléctrica controlando la T° dentro del punto de ebullición que vendría a ser 79° y luego después de terminar el proceso dejamos enfriar el equipo y desarmar cada uno individualmente por etapas y al final obtenemos el aceite esencial de *Minthostachys mollis* “Muña y se proseguirá guardarse en un frasco. **Imágenes (12)**

12



## ANEXO N°8: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN

Los aceites esenciales obtenidos del equipo de soxhlet de *Rosmarinus officinalis* "Romero y aceite esencial de *Minthostachys mollis* "Muña son llevados al equipo de destilación; se coloca el aceite en el balón de equipo y se inicia el proceso hasta la reducción del etanol del mismo obteniendo un aceite puro. **Imágenes (13)**

13



## ANEXO N° 9: PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL MATERIAL MICROBIOLÓGICO

Seguidamente se realiza la activación de cepa *Enterococcus faecalis*), mediante el uso de cultivo de caldo BHI (Brain Heart Infusión), 3.7 gramos a un pirex agregando 100 ml. agua destilada a una probeta graduada cristal y antes de esterilizar se tiene que disolver completamente por lo tanto utilizaremos agitador magnético que a la vez calienta. . **Imágenes (14) (15) (16)**



## Materiales pasa a esterilizar

Una vez que ya obtenga el caldo HBI bien disuelta y se cubre con papel aluminio, y seguidamente se lleva al autoclave incluyendo los materiales, placas Petri, pipeta a un temperatura 121 °C por un periodo 30 minutos.

**Imágenes (17) (18)**

17



18



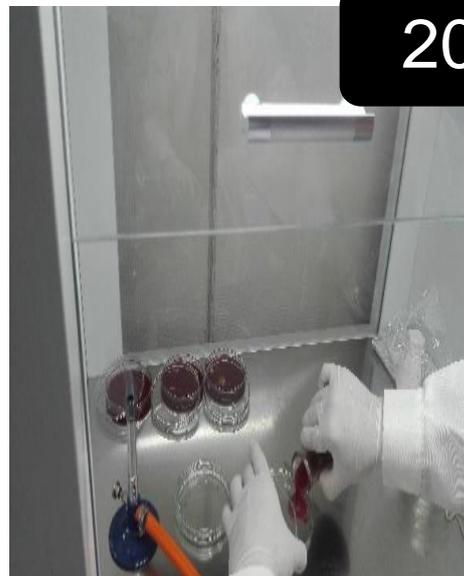
**Posteriormente se realizó la siembra microbiológica;**

De acuerdo al protocolo y se incubo a 37° por 24 horas, se calculó 24.00 gr para 600 ml. de agua destilada; para el medio de cultivo líquido y para poder producir la cepa se realizó la primera replica (en placas Petri) **Imágenes (19) (20)**

19



20



## La réplica de la cepa de *Enterococcus faecalis*

Se toma el asa para realizarlo es muy necesario realizar estrías muy juntas avanzadas suavemente por la superficie del agar sin retroceder; rotulado de las placas Petri se realiza en la parte periférica de la base, con el parafilm y se lleva a la incubación durante 24 horas y se obtiene el *Enterococcus faecalis*.

Imágenes (21) (22)



## ANEXO N° 10: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM) DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* “ROMERO” Y *MINTHOSTACHYS MOLLIS* “MUÑA”

Se preparó la solución de aceite esencial de Romero en diferentes dosis al 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%; Caldo BHI 1 ml; Inóculo  $10^6$  UFC/ml 1 ml.

### Preparación del inóculo

El inóculo debe contener una concentración de inóculo  $10^6$  ufc/ml de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 que ha sido aislada el método de dilución en caldo BHI (Infusión Cerebro-corazón).posteriormente procedemos a sumergir con el asa de kolle en 1 ml de caldo BHI (Brain Heart Infusión) descargamos el material bacteriano de manera uniforme. **Imágenes (23) (24) (25) (26)**

23



24



# 25

	N° de Tubos								Control	
	1	2	3	4	5	6	7	8	+	-
<b>Caldo BHI</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
<b>Aceite esencial de <i>E. faecalis</i></b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/	/
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/
<b>Concentración del aceite esencial en %</b>	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.56%	0.78%	/	/
<b>Turbidez <i>E. faecalis</i></b>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-



# 26

	N° de Tubos								Control	
	1	2	3	4	5	6	7	8	+	-
<b>Caldo BHI</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	ml	1 ml
<b>Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> "Muña"</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/	/
<b>Inóculo 10<sup>6</sup> UFC/ml</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	/
<b>Concentración del aceite esencial en %</b>	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.56%	0.78%	/	/
<b>Turbidez <i>E. faecalis</i></b>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

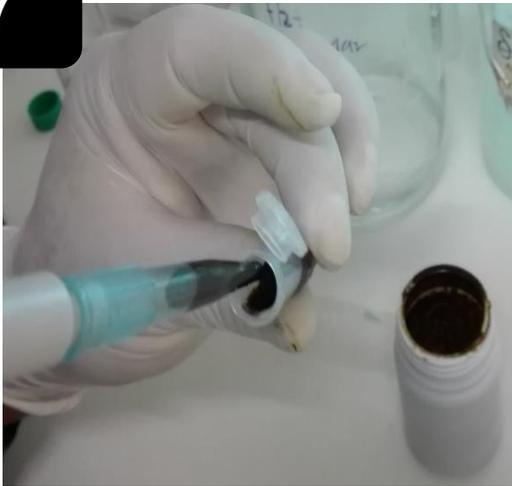


## **ANEXO N° 11: DETERMINACIÓN DE HALO INHIBICIÓN PREPARACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* “ROMERO”**

Primeramente los materiales a utilizarse los aceite de Romero y pipeta milimetrada, posteriormente se prepararon las soluciones 5 ml. de aceite esencial de Romero y 5 ml. de agua destilada para una concentración de 50% y 10 ml. de aceite esencial de Romero Para una concentración de 100%.

**Imágenes (27) (28)**

**27**



**28**

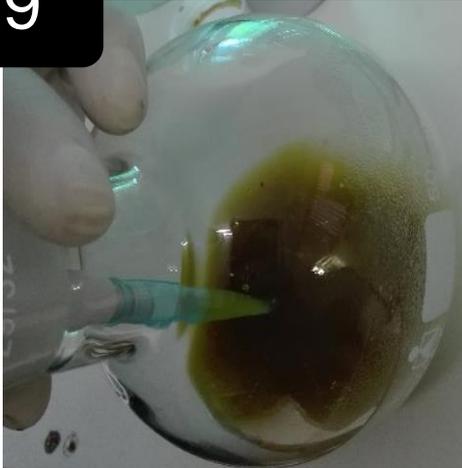


### **Preparación de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* “Muña”**

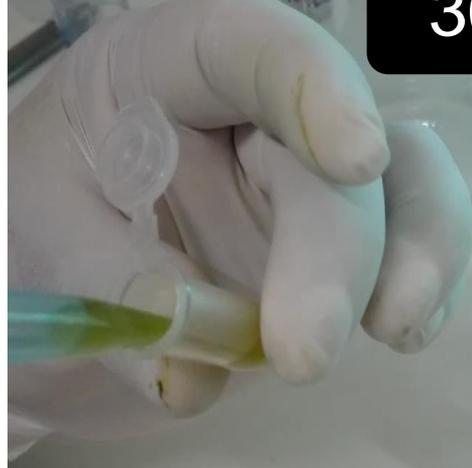
Primeramente todo los materiales a utilizarse los aceite de Muña y pipeta milimetrada, posteriormente se prepararon las soluciones 5 ml. de aceite esencial de Muña y 5 ml. de agua destilada para una concentración de 50% y 10 ml. de aceite esencial de Muña Para una concentración de 100%.

**(Imágenes (29) (30) (31))**

29



30



31



### **Método de Difusión en disco**

se colocaron discos de papel de filtro Whatman Dichos discos tenían una dimensión de 6 mm de diámetro, con un perforador, los cuales se esterilizaron en autoclave por 15 minutos a 121 °C y seguidamente a la inoculación, se coloca en la superficie de los agares con ayuda de una pinza estéril, Se dejó reposar por 30 minutos y después las placas fueron llevadas a incubación a 36 °C por 24 y 48 horas; pasadas las cuales se procedió a examinar cada placa, midiendo con

un vernier los diámetros de las zonas (halos) de inhibición. **Imágenes (32) (33) (34) (35)**

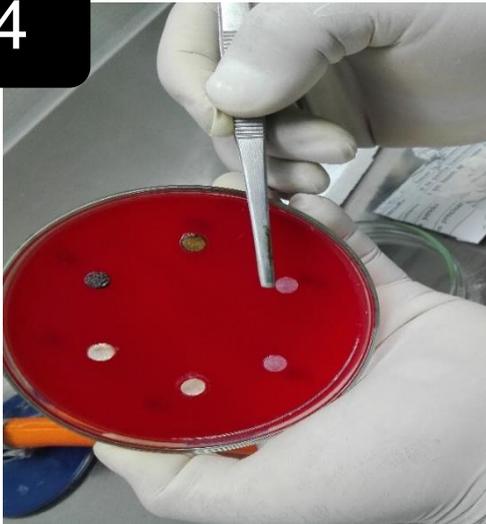
32



33



34



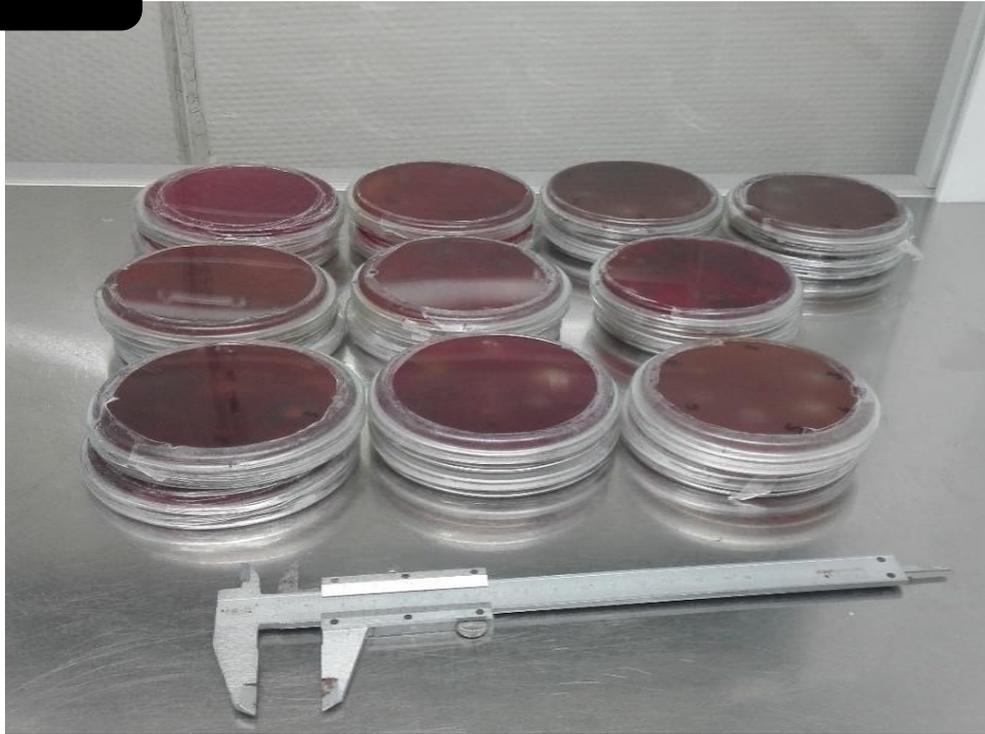
35



### **Método del Disco en superficie**

Se midieron los halos de inhibición formados en las placas y se compararon se muestra la actividad antibacteriano a las 24 y 48 horas del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "Romero" y *Minthostachys mollis* "Muña", en las diferentes concentraciones probadas sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. **Imágenes (36) (37)**

36



37

