

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología



**CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) SOBRE EL
CRECIMIENTO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212,
UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA, AREQUIPA- 2021.**

Tesis presentada por el bachiller:

Sanga Mendizábal Rodrigo Fernando

Para optar el título profesional de

Cirujano Dentista

Asesora:

Dra. Álvarez Monge Ruth

Arequipa –Perú

2022

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 23 de Abril del 2022

Dictamen: 004218-C-EPO-2022

Visto el borrador del expediente 004218, presentado por:

2015220891 - SANGA MENDIZABAL RODRIGO FERNANDO

Titulado:

**CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA IN VITRO DEL ACEITE ESCENCIAL DE HOJAS DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) SOBRE EL CRECIMIENTO DE ENTEROCOCCUS FAECALIS
ATCC 29212, UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA, AREQUIPA 2021**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**0291 - TEJADA PRADELL HUGO EDILBERTO
DICTAMINADOR**



**2161 - QUIROZ HUERTA CARLOS ALBERTO
DICTAMINADOR**



**2293 - PEREA CORIMAYA ELIZABETH MARIELA
DICTAMINADOR**



Dedicatorias

Este trabajo de investigación va dedicado a Dios y la virgen María que han iluminado mi camino, ayudándome a superar adversidades, brindándome la voluntad, fuerza y valentía de afrontar lo difícil, asimismo dándome varios motivos de sonreír en diferentes estaciones de este tren llamado vida.

A mi mamá Ana, quien estuvo apoyándome en todo momento dándome ánimos y ganas de seguir adelante, ofreciéndome su amor incondicional y heredándome sus grandes virtudes, que me permiten soñar en alcanzar lo más alto.

A mis hermanas Joys y Massiel, las cuales prometí proteger hasta siempre, siendo mi motor principal de iniciar cada día y uno de mis principales motivos de entrega y lucha por mis metas trazadas.

A mi papá Raúl, quien partió de este mundo hace más de 6 años, el cual me inculco de valores y resiliencia, siendo mi gran fuente de inspiración, al cual extraño y seguiré extrañando, porque las personas más nobles son capaces de hacer que el recuerdo nunca muera.

A mi familia por otorgarme las grandes experiencias llenas de conocimiento, el respaldo en momentos de angustia, las carcajadas en momentos de felicidad y la firmeza en mi espíritu inquebrantable.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi familia por todo el apoyo y la confianza puesta en mí; por todas las enseñanzas y el amor incondicional, además de los esfuerzos puestos en los cimientos de esta meta que se está cumpliendo y de los próximos objetivos por venir.

Agradezco a la Universidad Católica de Santa María por brindarme una educación de calidad darme los conocimientos necesarios para ser un profesional con ética y valores capaz de sobresalir.

Ampliar mis agradecimientos a la Doctora Ruth Alvares Monge por ser mi guía en la realización del presente trabajo de investigación, gracias por su apoyo, paciencia y orientación necesaria durante los meses de trabajo, pese a las dificultades durante tramos de la investigación, usted deposito su confianza en mi persona y por ello no desistí en ningún minuto de finalizar de manera exitosa este proyecto de investigación.

Agradezco asimismo al Doctor Wolfgang Trillo Álvarez, por haber salvado mi vida tiempo atrás, gracias por devolverme no solamente la capacidad de caminar o estar de pie, sino también por haberme mostrado la importancia de seguir adelante y no detenerse, aunque los pasos sean cortos.

Agradezco a los Doctores Miembros del Jurado evaluador del Proyecto de Tesis, por su tiempo, comprensión y colaboración.

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo determinar la concentración mínima inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Corresponde a una investigación de carácter cuantitativo, prospectivo, longitudinal y experimental. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) a través de la técnica de diluciones en tubos y viabilidad por placas Petri; para lo cual se inició con la obtención del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) mediante la técnica de arrastre de vapor de agua; seguidamente se procedió a la reactivación de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC29212, que fue utilizado en las dos etapas del estudio; la primera siendo la aplicación de diferentes concentraciones de aceite esencial de muña(10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90% y 100%) sobre cepas de *Enterococcus faecalis* en 84 tubos de ensayo sumado con los controles positivos y negativos los cuales fueron la clorhexidina al 2% y agua destilada respectivamente, dejando en incubación por 24 horas a 37°C para observar crecimiento en los grados de turbidez; la segunda se dio con el repique en placas Petri para observar viabilidad y comprobar crecimiento de las cepas de *Enterococcus faecalis* manifestado en unidades formadoras de colonias (UFC) que se utilizaron en las pruebas de diluciones, dejando en incubación por 24 horas a 37°C obteniendo lecturas de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB); para la recolección de datos en esta investigación se empleó una ficha de observación microbiológica en laboratorio el cual fue elaborado de manera propia y única para esta investigación.

Los resultados obtenidos evidenciaron que hubo un ínfimo crecimiento de colonias bacterianas de *Enterococcus faecalis* al 50% y nulo crecimiento bacteriano al 60% de aceite esencial de muña, siendo correspondientes con los grados de turbidez obtenidos. De esta forma es posible concluir que la concentración mínima inhibitoria fue al 50% y la concentración mínima bactericida fue al 60%.

Palabras clave: aceite esencial, concentración mínima inhibitoria, *Enterococcus faecalis*, *Minthostachys mollis*, muña,

ABSTRACT

The objective of this research is to determine in vitro the minimum inhibitory concentration of the essential oil of *Minthostachys mollis* (muña) on the growth of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

It corresponds to a quantitative, prospective, longitudinal and experimental investigation. The minimum inhibitory concentration (MIC) will be extended through the technique of dilutions in tubes and viability by Petri dishes; for which it began with the obtaining of the essential oil of the muña (*Minthostachys mollis*) by means of the water vapor entrainment technique; Next, the *Enterococcus faecalis* ATCC29212 strain was reactivated, which was used in the two stages of the study; The first being the application of different concentrations of muña essential oil (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%) on strains of *Enterococcus faecalis* in 84 test tubes added with the positive and negative controls which were 2% chlorhexidine and distilled water respectively, leaving them in incubation for 24 hours at 37°C to observe the growth in the degrees of turbidity; the second was given in Petri dishes to observe viability and check growth of *Enterococcus faecalis* strains manifested in colony-forming units (CFU) that was used in the dilution tests, leaving in incubation for 24 hours at 37 ° C obtaining readings of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC); For the collection of data in this investigation, a microbiological observation sheet was used in the laboratory, which was elaborated in its own and unique way for this investigation.

The results obtained showed that there was a negligible growth of bacterial colonies of *Enterococcus faecalis* at 50% and no bacterial growth at 60% of muña essential oil, corresponding to the degrees of turbidity obtained. In this way it is possible to conclude that the minimum inhibitory concentration was 50% and the minimum bactericidal concentration was 60%.

Keywords: essential oil, minimum inhibitory concentration, *Enterococcus faecalis*, *Minthostachys mollis*, muña,

ÍNDICE

DICTAMEN APROBATORIO

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCION13

CAPITULO I PLANTEAMIENTO TEORICO15

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN16

1.1. Enunciado del problema17

1.2. Descripción del problema.....17

1.2.1. Campo, Área y Línea17

1.2.2. Análisis de Variables.....17

1.2.3. Interrogantes básicas18

1.3. Taxonomía de la investigación.....19

1.4. Justificación del problema19

1.4.1. Originalidad.....19

1.4.2. Relevancia Científica19

1.4.3. Relevancia Practica.....19

1.4.4. Factibilidad19

2. OBJETIVOS.....20

3. MARCO TEORICO20

3.1. MARCO CONCEPTUAL20

3.1.1. Aceite Esencial.....20

3.1.1.1. Localización del aceite esencial en plantas21

3.1.1.2.Composición química de los aceites esenciales.....21

3.1.1.3.Propiedades físicas de los aceites esenciales22

3.1.1.4. Propiedades farmacológicas de los aceites esenciales	22
3.1.1.5. Procedimientos de obtención de aceites esenciales	23
3.1.1.6. Actividad antimicrobiana de Aceites esenciales	23
3.1.1.7. Mecanismos de acción de los aceites esencial sobre bacterias .	23
3.1.1.8. Extracción por arrastre de vapor de agua	24
3.1.2. <i>Minthostachys mollis</i> (Muña)	24
3.1.2.1. Planta Medicinal	24
3.1.2.2. Descripción general de <i>Minthostachys mollis</i>	24
3.1.2.3. Tipos de Muña	25
3.1.2.4. Taxonomía	25
3.1.2.5. Usos etnomedicinales	26
3.1.2.6. Principales moléculas de Acción bactericida en <i>Minthostachys mollis</i> (muña)	26
3.1.2.7. Mecanismo de Acción del aceite de <i>Minthostachys mollis</i>	27
3.1.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	28
3.1.4. Concentración Mínima Bactericida (CMB)	28
3.1.5. Sensibilidad Antimicrobiana	28
3.1.5.1. Método de dilución en caldo	28
3.1.5.2. Escala de Mc Farland	28
3.1.6. Microbiota en conductos radiculares infectados	29
3.1.7. Microbiota relacionada con la afección endodóntica de dientes con necrosis pulpar	29
3.1.8. Bacterias en fase de obturación del conducto radicular	30
3.1.9. Microbiota de dientes endodonciados	31
3.1.10. <i>Enterococcus faecalis</i>	32
3.1.10.1. Taxonomía y características generales	32
3.1.10.2. Factores de patogenicidad en Relación con la enfermedad endodóntica	32
3.1.10.3. Patogenia en odontología	34
3.1.10.4. Vías de infección en conductos radiculares	34
3.1.11. Clorhexidina	35

3.2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	36
4. HIPOTESIS	45
CAPITULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	46
1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN.....	47
1.1. Técnica.....	47
1.1.1. Especificación.....	47
1.1.2. Esquematización de la Técnica.....	47
1.1.3. Esquematización de Procedimiento Descripción de Procedimiento Instrumentos.....	48
1.1.4. Instrumento Documental.....	52
1.1.5. Estructura esquemática del Instrumento.....	52
Instrumentos Mecánicos.....	53
1.1.6. Materiales de Laboratorio.....	53
1.1.7. Insumos	53
1.1.8. Materiales del investigador	54
2. CAMPO DE VERIFICACION	54
2.1. Ubicación espacial.....	54
Ámbito General.....	54
2.1.2. Ámbito Especifico	54
Ubicación Temporal	54
Unidades de estudio	54
2.3.1. Población.....	54
2.3.2. Muestra	54
2.3.3. Tipo de Muestreo	54
2.2. Criterios de Cualificación.....	55
2.4.1. Criterios de inclusión.....	55
2.4.2. Criterios de exclusión	55
2.5 Criterios de cuantificación	55
3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	56
3.1. Organización.....	56

3.2. Recursos	56
3.2.1. Recursos Humanos.....	56
3.2.2. Recursos Físicos	57
3.2.3. Recursos económicos	57
3.3. Validación del instrumento	57
3.4. Criterios para el manejo de resultados	57
3.4.1. Tipo de procesamiento.....	57
3.4.2. Operaciones del procesamiento.....	57
3.4.3. Análisis estadístico.....	57
3.5. Cronograma de trabajo	58
CAPITULO III RESULTADOS.....	59
DISCUSION	68
CONCLUSIONES.....	69
RECOMENDACIONES	70
REFERENCIAS.....	71
ANEXOS.....	75
ANEXO 1: CONSTANCIA DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA.....	76
ANEXO 2: CONSTANCIA DE EXPERIMENTACION EN LABORATORIO.....	77
ANEXO 3: MODELO DE INSTRUMENTO.....	78
ANEXO 4: MATRIZ DE DATOS (ESPECTROFOTOMETRIA).....	79
ANEXO 5: MATRIZ DE DATOS (CRECIMIENTO DE COLONIAS).....	80
ANEXO 6 GALERIA DE FOTOGRAFIAS.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.: Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones expresados en unidades formadoras de turbidez (UFT) frente a *E. faecalis* ATCC 2921260

Tabla 2. Viabilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en UFC post tratamiento a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).62

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212....64

Tabla 4. Concentración mínima bactericida de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212....66

INDICE DE GRÁFICOS:

Gráfico 1: Actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) a diferentes concentraciones expresados en unidades formadoras de turbidez (UFT) frente a <i>E.faecalis</i> ATCC 29212	61
Gráfico 2. Viabilidad de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 en UFC post tratamiento a diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña).	63
Gráfico 3. Concentración mínima inhibitoria de aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	65
Gráfico 4. Concentración mínima bactericida de aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212.....	67

INTRODUCCIÓN

Con el pasar de los años la odontología ha buscado alternativas a los tratamientos convencionales que puedan semejarse tanto en calidad como en costo. Si bien hoy se empieza a realizar estudios en diferentes plantas que puedan aportar un resultado favorable en los tratamientos del campo odontológico, el abordaje del mismo en el Perú es limitada debido a factores como el acceso al producto y disponibilidad de abasto; siendo una de ellas la “*Minthostachys mollis*” conocida como “muña”.

En investigaciones recientes se menciona como propiedades de la muña efectos antiinflamatorios y actividad antibacteriana contra *S.mutans*, como lo indica Aguilar-Ancori EG et al .(1) sobre diversas bacterias de caries dental; cabe señalar que la boca es un nicho ecológico de gran diversidad microbiana con predominio bacteriano que provocan diferentes patologías muchas veces de difícil tratamiento llevando al fracaso, aun incluso meses o años posteriores a la finalización del mismo.

La prevalencia del fracaso al tratamiento de conductos radiculares, obedece a la presencia de *Enterococcus faecalis* en el interior del conducto; debido a condiciones de resistencia que le permiten sobrevivir en el lugar, además la posible carencia de cuidados durante la intervención, falta de irrigación o falta de efectividad de irrigantes convencionales.

Autores como Aguilar-Ancori EG (1) y Moromi , N. H (2) llegan a coincidir que los aceites esenciales de diferentes plantas tienen efectos inhibitorios contra bacterias orales, aportando así información para estudios complementarios que permitan a posterior una alternativa en el tratamiento para *Enterococcus faecalis*.

Por lo tanto, el propósito de la investigación es determinar la concentración mínima inhibitoria in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña)

estudio que se realizara por referencias de trabajos en los que se demuestra, la sensibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

El conocimiento debe extenderse y ser una constante en el avance de nuevas opciones que permitan desarrollar tratamientos efectivos y eficientes para la población.



A large, faint watermark of the university's seal is centered in the background. The seal is circular with a cross at the top, a book in the center, and the year 1961 at the bottom. The words "UNIVERSIDAD CATOLICA" and "SANTA MARIA" are written around the perimeter.

CAPITULO I PLANTEAMIENTO TEORICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

El Perú megadiverso rico en plantas medicinales nativas, destaca por su amplia diversidad y aplicación terapéutica(3). Por lo que busca estudiar principios activos que muestren actividad antimicrobiana y otras propiedades de beneficio a la comunidad.

La amplia gama de investigaciones han documentado las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales y sus componentes, en algunos casos se ha descrito el mecanismo de acción, pero no se ha realizado todos los estudios pertinentes. Este conocimiento es particularmente importante para la aplicación y usos en medicina (4).

Es menester conocer e investigar la variedad de plantas medicinales que posean propiedades curativas y valorar su utilidad en el área de salud, más allá del uso comercial que poseen. *Minthostachis mollis* arbusto perteneciente al género *Mintohostachis* conocida comúnmente como muña, la cual es utilizada en medicina popular para tratar los cólicos estomacales y ciertos trastornos gripales (5).

Si bien posee propiedades antibacterianas, la investigación plantea determinar la concentración mínima inhibitoria de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

De las numerosas especies bacterianas existentes en la cavidad bucal, una de las más frecuentemente encontradas en dientes con necrosis pulpar (sin historia previa de endodoncia) y la más aislada en aquellos con recidiva de infección (dientes con indicación de retratamiento) es *Enterococcus faecalis* (6), bacteria anaerobia facultativa y oportunista, considerada como la mayor causante de los fracasos endodónticos debido a sus múltiples características, tales como su capacidad para competir con otros microorganismos, invadir los túbulos dentinarios, propagarse en medios poco nutritivos, e incluso resistir el pH alcalino(7).

El grado de resistencia de *Enterococcus faecalis* es alta en los procesos endodónticos, por ello se busca erradicar con diferentes irrigantes convencionales y nuevas propuestas

como el aceite esencial de *Minthostachys mollis* buscando mejorar la eficacia de los irrigantes para evitar fracasos posteriores.

1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA:

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA IN VITRO DEL ACEITE ESCENCIAL DE HOJAS DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) SOBRE EL CRECIMIENTO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212, UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA, AREQUIPA 2021.

1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA:

1.1.1. Campo, Área y Línea

- Área General: Ciencias de la Salud
- Área Específica: Odontología
- Especialidad: Endodoncia
- Línea: Microbiología Oral.

1.1.2. Análisis de Variables

Variables	Indicadores	Sub indicadores
VARIABLE INDEPENDIENTE Aceite esencial de <i>minthostachys mollis</i> (Muña)	-Concentración mínima inhibitoria (CMI) -Concentración mínima bactericida (CMB)	DILUSIONES EN PORCENTAJE

VARIABLE DEPENDIENTE -Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i>	-Crecimiento-Turbidez-UFT -Crecimiento-Viabilidad-UFC	• Al 100% • Al 90% • Al 80% • Al 70% • Al 60% • Al 50% • Al 40% • Al 30% • Al 20% • Al 10% • UFC
--	---	--

1.1.3. Interrogantes básicas:

- ¿Cuál es la actividad bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021?

- ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021?

- ¿Cuál es la concentración mínima bactericida(CMB) in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021?

1.2. TAXONOMÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Abordaje:	TIPO DE ESTUDIO:					DISEÑO	NIVEL
	1.-Por la técnica de recolección	2.-Por el tipo de dato que se planifica:	3.-Por el número de mediciones de la variable	4.-Por el número de muestras	5.-Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Observacional	Prospectivo	Longitudinal	Analítico	Laboratorial	Experimental	Explicativo

1.3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA:

1.4.1. Originalidad

Se han realizado últimamente varios estudios de eficacia y eficiencia de diversos compuestos químicos para eliminación bacteriana del conducto radicular, sin embargo, aún se debe buscar opciones que sean más naturales para la población, que no altere el estado biológico de los pacientes. Por tanto, la originalidad de esta investigación se justifica en la búsqueda de expandir el abanico de opciones innovadoras que actúen de manera eficiente sobre este tipo de bacterias orales e incentivar a más profesionales odontólogos a investigar más sobre aplicaciones de la *Minthostachys mollis* en odontología.

1.4.2. Relevancia Científica

El trabajo de investigación se orienta a difundir las propiedades que presenta la muña, dar alcance a nuevas investigaciones con otros microorganismos con enfoques diferentes y propuestas de aplicación en la odontología moderna.

1.4.3. Relevancia Practica

El proyecto permitirá determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la mínima bactericida (CMB) entregando así concentraciones precisas para combatir la resistencia y adaptación de *Enterococcus faecalis*; acotando información debido a su carácter aplicativo, en tratamientos odontológicos alternativos de conductos radiculares y túbulos dentinarios.

1.4.4. Factibilidad

El proyecto de investigación se respalda en la información obtenida y recopilada acerca de literatura de especialidad, investigaciones desarrolladas en el área de microbiología, investigaciones previamente realizadas con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre

cepas de *Enterococcus faecalis*, equipos e instrumental de laboratorio, que garantizan la factibilidad del estudio.

2. OBJETIVOS

- a) Determinar la actividad bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021.
- b) Determinar la concentración mínima inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021.
- c) Determinar la concentración mínima bactericida in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Arequipa 2021.

3. MARCO TEORICO

3.1. MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. Aceite Esencial

Es un producto obtenido a partir de una materia prima vegetal, bien por arrastre de vapor, o bien por procedimientos mecánicos con finalidad de obtener el citrus de la planta, asimismo es plausible adquirir el producto por destilación en seco. Consecuentemente el aceite esencial se separa de la fase acuosa por procedimientos físicos, en los dos primeros métodos de obtención; puede sufrir tratamientos físicos que no ocasionen cambios significativos de su composición. Si bien se hace alusión a dar como resultado el producto disuelto, por medio de procedimientos mecánicos, cabe mencionar que el principal objetivo que se plantea en la obtención de los mismos es evitar que existan cambios en la composición química. La principal característica percibida en estos extractos es su olor inherente, obtenido a través de extracción con un disolvente no acuoso, seguida de la exclusión del mismo por un procedimiento físico. En la práctica común se habla preferentemente de esencia concreta (8).

Se logra inferir que la matriz de las propiedades farmacológicas presentadas por la planta se halla en el aceite esencial además del olor propio presente durante y posterior al producto final adquirido.

3.1.1.1. Localización del aceite esencial en plantas

Frecuentemente, la síntesis y acumulación de los aceites esenciales se vincula a la existencia de estructuras histológicas especializadas, a menudo localizadas sobre o en la proximidad de la superficie de la planta:

- Células con aceites esenciales de las Lauraceae o las Zingiberaceae,
- Pelos secretores de las Lamiaceae
- Glándulas secretoras de las Myrtaceae o las Rutaceae,
- Canales secretores de las Apiaceae o las Asteraceae (8).

Se infiere que la principal superficie de obtención del aceite esencial son las hojas y tallos de plantas pertenecientes a estas familias.

3.1.1.2. Composición química de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes que los integran de manera casi inherente (8). Están constituidos por gran variedad de compuestos químicos, algunos por un solo componente en un alto porcentaje y otros por composiciones en mayor complejidad de compuestos cíclicos aromáticos, acíclicos, derivados oxigenados y heterocíclicos.

Los constituyentes principales de los aceites esenciales son:

- Hidrocarburos: Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno
- Alcoholes: Isoamílico, geraniol, linalol, citronelol, nerodinol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico
- Fenoles: Timol, carbacrol, eugenol, vainillina
- Aldehídos: Citral, citronelal, anisaldehído, benzaldehído, cinamadehído
- Cetonas: Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona
- Éteres: Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol
- Ésteres: Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo (9).

Se comprende que en la composición química de diversas plantas, tanto los compuestos aromáticos y de orígenes diversos son fácilmente captados en el proceso de arrastre por agua en el procedimiento de obtención de aceite esencial.

3.1.1.3. Propiedades físicas de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, lo que les singulariza, poseen color; usualmente, su densidad es menor a la del agua (los aceites esenciales de sasafrás, clavo o canela implican excepciones), tienen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada asimismo son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos comunes (8).

3.1.1.4. Propiedades farmacológicas de los aceites esenciales

Primeramente, indicar que a veces se confunde la actividad de un aceite esencial con la de la planta de la cual procede. Es preciso saber que tal superposición sólo es posible en raras ocasiones el aceite esencial de una determinada planta posee actividad antibacteriana mientras su infusión propia es utilizada en tratamientos de otro fin, en base a las diferentes propiedades que posee y a la presencia de compuestos fenólicos (8). Asimismo, conviene subrayar que el abanico de propiedades atribuidas (y a veces demostradas experimentalmente) a las drogas con aceites esenciales y a ellos mismos, es demasiado amplio para permitir generalizaciones que simplificarían pero que forzosamente serían restrictivas. Algunas propiedades fundamentales destacan sin embargo en esta amplia relación:

- **Poder antiséptico:** El poder antiséptico se manifiesta frente a diversas bacterias patógenas, incluso cepas habitualmente resistentes a los antibióticos. Algunos aceites esenciales también son activos sobre hongos responsables de micosis y sobre levaduras {Candida}. Generalmente las dosis activas son bajas y las que se determinan por experimentación in vitro se pueden transponer directamente para diferentes usos. Entre los aceites esenciales más antisépticos se encuentran el de ajedrea, canela, tomillo, clavo, lavanda o eucalipto (8).
- **Propiedades espasmolíticas y sedantes:** Numerosas drogas con aceites esenciales (menta, verbena...) son consideradas como eficaces para disminuir o suprimir los espasmos gastrointestinales. Es frecuente que estimulen la secreción gástrica por lo que se han calificado como “digestivas y estomáquicas”, con todas las consecuencias que puedan resultar de esta “eupepsia”; mejora de determinados insomnios y trastornos psicossomáticos diversos, disminución del “nerviosismo”, etc. In vitro, gran cantidad de aceites esenciales (angélica, albahaca, manzanilla, clavo, melisa, menta, tomillo) ejercen una actividad espasmolítica marcada sobre el íleon de cobaya (y, en menor medida, sobre la tráquea del mismo animal) (8).
- **Propiedades irritantes:** Productos como la esencia de trementina, empleados por vía tópica, provocan aumento de la microcirculación, importante rubefacción, sensación de calor y en ciertos casos, ligera acción anestésica local: esto es lo que se buscaba antiguamente en las embrocaciones y ungüentos; en la actualidad, son aún numerosas las pomadas, cremas o geles a base de aceites esenciales destinadas a aliviar esguinces, agujetas, distensiones y otras algias articulares o musculares (8).

Se infiere que estos diversos efectos beneficiosos encontrados en múltiples plantas, explican el porqué de las medicinas populares y las terapéuticas domésticas aplicadas en regiones rurales y la trascendencia que han tenido a lo largo de generaciones.

3.1.1.5.Procedimientos de obtención de aceites esenciales:

Para obtener el estado más puro del material vegetal, Jean Bruneton, considera los siguientes métodos:

- Expresión de epicarpios de citrus
- Hidrodestilación por microondas al vacío
- Extracción con disolventes
- Procedimientos que utilizan aceites y grasas
- Extracción con gases supercríticos
- Arrastre en vapor de agua (8).

3.1.1.6.Actividad antimicrobiana de Aceites esenciales

Los aceites esenciales son compuestos extraídos de varios tipos de plantas, algunos de ellos poseen efecto inhibitorio sobre el desarrollo de microorganismos. En su estudio Walton y col. demostró que el extracto destilado del ajo posee efectos bactericidas y bacteriostáticos. Se tiene conocimiento de la actividad antimicrobiana de varias especies vegetales en forma de extractos o hierbas aromáticas en los alimentos, capaces de inhibir la formación vegetativa de esporas, igualmente suspenden el crecimiento de elementos patógenos y levaduras (10).

3.1.1.7. Mecanismos de acción de los aceites esencial sobre bacterias

Este mecanismo de acción hacia las bacterias es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado. El modo de acción de los aceites esenciales también dependerá del tipo de bacterias y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos (11). Azaña Isaac estableció, in vitro, la actividad antibacteriana, del aceite esencial de muña sobre bacterias orales como *Fusobacterium nucleatum* *Prevotella melaninogénica* y *Enterococcus faecalis* las 3 siendo prevalentes en patologías dentales. (12).

Las investigaciones plantean que los aceites esenciales interfieren la fase del metabolismo de bacterias inactivando enzimas de reacción y causando su eliminación.

3.1.1.8.Extracción por arrastre de vapor de agua

La hidrodestilación simple consiste en sumergir directamente el material vegetal a tratar (intacto u ocasionalmente triturado (turbodestilación) en un alambique lleno de agua que a continuación se somete a ebullición. Los vapores heterogéneos se condensan sobre

una superficie fría y el aceite esencial se separa por diferencia de densidad. En una variante del proceso el material vegetal se tritura in situ (turbo-extractor). Para la aplicación del procedimiento se requiere clasificar las plantas, y recolectar tanto hojas como tallos para obtener el aceite esencial, la hidrodestilación es un proceso simple que consta de diferenciar los principios volátiles de los que no lo son; a través de un sistema de doble balón empleando calor (8).

Se infiere que durante el procedimiento de extracción por arrastre de vapor de agua se obtendrá el aceite esencial con otro producto de la muña proveniente de la ebullición de agua, el cual se diferenciará del mismo por la densidad que presenta.

3.1.2. *Minthostachys mollis* (Muña)

3.1.2.1. Planta Medicinal

Las plantas medicinales han sido provechosas con bastante reiteración por nuestros ancestros y se continúa haciéndolo especialmente en distintas comunidades rurales del país, a través del conocimiento meticuloso de las hierbas medicinales, alrededor del entorno se obtuvieron remedios muy variados para enfrentarse a dolencias que más afligían a la población. Trastornos digestivos, catarros, afecciones respiratorias, dolores de cabeza y musculares, inflamaciones osteoarticulares, infecciones genitourinarias, problemas dermatológicos además de padecimientos relacionados al sistema nervioso (13).

Pueden hallarse en las plantas una alternativa fructuosa y a la vez eficaz de disminuir e incluso disipar dichos malestares.

3.1.2.2. Descripción general de *Minthostachys mollis*

Arbusto de hasta 2 m de alto; compuesta por ramas delgadas, hojas de 3 a 20 mm de largo por 1 a 4 mm de ancho, usualmente oblongas; flores por lo común solitarias en las partes más distantes del tallo, en ocasiones existe presencia de 3 a 6 flores las cuales presentan un aroma distintivo, sostenidas por pedicelos de 1 mm de largo; tubo del cáliz escasamente veloso de 1 a 1,5 mm de largo, agudos y recurvados; estambres diminutos. Se encuentra en mesetas y en la alta montaña del sur de Perú, norte de Chile y región noroeste de Argentina; presenta un amplio rango de tolerancia a las variaciones de las condiciones ambientales, especialmente a la sequía y a las heladas, aunque su crecimiento es óptimo en temporada de lluvias, cuando la disponibilidad de agua no es un factor limitante. Esta especie también puede adaptarse a suelos ácidos de moderada humedad (14).

En el Perú es factible localizarlas en las regiones andinas, especialmente en Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno siendo muy aprovechada por las comunidades oriundas de Sudamérica, su capacidad de crecer en diferentes ambientes hace de su hábitat natural los variados pisos ecológicos de nuestra serranía (15).

Además de sus características físicas, su peculiar aroma permite a los habitantes diferenciarlas de plantas que crecen en similares condiciones o con presencia de pigmentaciones semejantes.

3.1.2.3. Tipos de Muña

Los tipos de muña se indica un total de 12 especies, cuya distribución abarca desde Argentina hasta Venezuela y en el Perú encontraron 6 especies, 32 distribuidas desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cusco), con una mayor distribución en la región central, cuyas especies son:

- *Minthostachys glabrescens*
- *Minthostachys salicifolia*
- *Minthostachys setosa*
- *Minthostachys spicata*
- *Minthostachys tomentosa*
- *Minthostachys mollis* (HBK) griseb (14).

3.1.2.4. Taxonomía

La taxonomía de la *Minthostachys mollis* (muña) es:

Dominio: Eukarya

Reino: Vegetal

Sub reino: Embryophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Methachlamydeae

Orden: Tubiflorae

Familia: Lamiaceae o Labiatae

Género: *Minthostachys*

Especie: *mollis* (16).

3.1.2.5. Usos etnomedicinales:

A lo largo de bastantes años esta especie ha sido empleada con propósitos de solución a problemas estomacales y contra infecciones diversas. En las comunidades de la sierra se logra observar preparaciones en forma de mate o te, la infusión (sola o mezclada con azúcar) sirve para combatir el “empacho” (indigestión) en los niños; en adultos se emplea para aliviar dolencias o ardor de estómago y finalidad ligera de purgante. En casos de soroche o mal de altura ejerce función de liberar los bronquios además de eliminar el mareo, estimula la previsión de la mayoría de problemas respiratorios; así mismo ejerce función como descongestionante de vías respiratorias, efectivo para tratar la halitosis y dolores de cabeza. En el campo agrícola se utiliza con la finalidad de preservar alimentos como la papa o cebolla, frente a incidencia de insectos que se propagan en campos de cultivo (14).

Por los diversos usos de la muña en casos de afecciones y la efectividad que exhibe, se busca aprovechar la misma frente a potenciales agentes que las originan.

3.1.2.6. Principales moléculas de Acción bactericida en *Minthostachys mollis* (muña)

Los principales componentes antibacterianos de la *Minthostachys mollis* (muña):

Pulegona

Uno de los componentes más sustanciosos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* asimismo de otros aceites; sin embargo, es mejor conocido por poleo (*Mentha pulegium*). Es altamente tóxico en elevadas cantidades, daña el hígado y puede incitar el aborto. Su toxicidad probablemente justifica algunos de los efectos de aceite de *Minthostachys* contra las plagas y parásitos. La sustancia también se emplea en perfumería y saborizantes (17).

Mentona

Otro componente significativo, junto con la pulegona usualmente representa más del 75 % de la composición del aceite en su totalidad. El componente más conocido de la menta (*Mentha piperita*). Tiene un aroma muy inherente sabor a menta y se usa en perfumería, pero también tiene propiedades digestivas (17).

Carvacrol

Es un componente preponderante en menor proporción, según estudios de los aceites en base a *Minthostachys mollis*. El carvacrol también se encuentra en diversas hierbas conocidos como el orégano (*Origanum vulgare*), la ajedrea de jardín (*Satureja hortensis*) o el tomillo (*Thymus serpyllum*) (17).

Carvona

Como su nombre lo menciona es conocida como un producto de semillas de alcaravea (*Carum carvi*), un Apiaceae. Tiene propiedades digestivas y se utiliza para dar sabor (17).

Linalol

Utilizado como condimento y como insecticida, linalol es el más conocido de cilantro (*Coriandrum sativum*) de la familia Apiaceae. Comúnmente es uno de los componentes menores del aceite de *Minthostachys mollis* (17).

Mentol

Por lo general, mucho menos importante en la composición de *Minthostachys mollis*, suele hallarse como componente menor de la mezcla de aceites. Se utiliza para aliviar el dolor de garganta (17).

Timol

Es un componente bien distintivo de los aceites esenciales de distintas especies de tomillo. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. En ocasiones se encuentra como un componente menor en el aceite de *Minthostachys mollis* (17).

Taninos

Son sustancias complejas que no se pueden clasificar dentro de una estructura química única, son poli fenólicas hidrosolubles no nitrogenadas, de origen vegetal, de peso molecular entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones clásicas de los fenoles, precipitan gelatina, sales de alcaloides y metales pesados, los hay hidrolizables y condensados. El tanino se encuentra primordialmente en las raíces, la corteza, y en ciertas ocasiones en las hojas de la planta; estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas, se logran encontrar especialmente en las familias de las Ericáceas, Leguminosas, Rosáceas y Salicáceas (18).

Se comprende que la Pulegona, Mentona y Carvacrol son los componentes más preponderantes en la *Minthostachys mollis*, los cuales son responsables de brindar en gran parte la actividad antibacteriana que esta planta presenta.

3.1.2.7.Mecanismo de Acción del aceite de *Minthostachys mollis*

Los mecanismos por los cuales los principios activos de las plantas pueden causar la destrucción o inhibición de los microorganismos se han atribuido a los metabolitos antimicrobianos que actúan de la siguiente manera: Degradación de la pared celular, destrucción de la membrana citoplasmática, daño a las proteínas de membrana, filtración del contenido celular y coagulación. Los taninos precipitan las proteínas fenómeno que, al incidir en la membrana citoplasmática bacteriana, altera la

permeabilidad de la misma provocando, el intercambio de sustancias nutritivas y de residuo llevando a la muerte celular (19).

3.1.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es la mínima concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento de microorganismos. En el laboratorio, este parámetro que cuantifica la sensibilidad puede determinarse mediante técnicas de dilución en medio líquido, en medio sólido o por técnicas de gradiente de difusión (20).

Hallar la (CMI) de un determinado antibiótico permite conocer las capacidades del mismo para combatir una determinada patología o agente patógeno.

3.1.4. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Es la mínima concentración del antibiótico que es capaz de suprimir al microorganismo. En el laboratorio, este parámetro se determina si el microorganismo no crece en los tubos de caldo de cultivo ni en las placas Petri. Esta concentración mínima del antibiótico será bactericida (21).

Los datos que se obtendrán de la CMI y CMB nos ofrecen información acerca del agente antimicrobiano, en caso la CMB sea mayor a la CMI el agente antimicrobiano será bacteriostático, pero en caso ambas concentraciones sean bastante similares el agente será bactericida.

3.1.5. Sensibilidad Antimicrobiana

3.1.5.1. Método de dilución en caldo:

Estudia la susceptibilidad frente a las medicaciones mediante el cultivo de las bacterias en medios líquidos que contienen concentraciones progresivamente más altas de un determinado agente antimicrobiano. Para ello se inocula una serie de tubos que contienen concentraciones decrecientes de una medicación en solución con la bacteria a estudiar. Después de producirse el crecimiento (algunos tubos estarán turbios) se interpretarán los resultados. El crecimiento solamente tiene lugar en los tubos sin contenido alguno de la medicación o que poseen una concentración baja de la misma, sin embargo, en los tubos con concentraciones altas; el tubo con mayor transparencia que incluya la concentración más baja (máxima dilución) se corresponderá con la concentración mínima inhibitoria de la medicación (CMI) (21).

3.1.5.2. Escala de Mc Farland

Se elabora con soluciones químicas (sulfato de Bario y ácido Sulfúrico) que proporcionan una turbidez equivalente a la que brindarían los microorganismos. Comparar la suspensión del germen a tratar permite estimar el número de UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias/mililitros) dado que la luz absorbida por la

suspensión microbiana es directamente proporcional a la concentración de microorganismos presentes en la muestra (22).

3.1.6. Microbiota en conductos radiculares infectados

Las especies bacterianas dentro del sistema de conductos radiculares infectados pueden variar, considerablemente, teniendo prevalencia de Cocos y Bacilos. La microbiota de conductos radiculares no cariados con pulpa necrótica y enfermedad periapical está dominada (superior al 90%) por anaerobios estrictos comúnmente relacionados a los géneros de *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Micromonas* y *Anaerococcus* (30). En la composición microbiana apical y perirradicular de los dientes con caries coronarias hay una cantidad menor de anaerobios estrictos (inferior al 70%) asimismo en los conductos y periapice de dientes tratados con endodoncia convencional que evidencian alteraciones radiográficas postratamiento se han hallado por medio de microscopia electrónica de transmisión, predominantemente filamentos grampositivos, bacilos y cocos. *Enterococcus Faecalis* y *Candida albicans* se han recuperado de zonas extraradiculares en lesiones inflamatorias apicales asintomáticas refractarias al tratamiento endodóntico (30).

3.1.7. Microbiota relacionada con la afección endodóntica de dientes con necrosis pulpar

La infección de la pulpa necrótica se puede producir a través de las mismas vías que la de la pulpa vital, pero a diferencia de estos casos, en los que la extensión de la infección es gradual, en la pulpa necrótica la evolución es incontrolable. No obstante, su infección se produce fácilmente debido a que los mecanismos de defensa son incompetentes. Normalmente, en las primeras etapas de las necrosis pulpares se aísla un promedio de seis especies bacterianas, aunque en la exacerbación de la infección pueden aislarse hasta 12 a 15, predominando especies de los géneros *Porphyromonas* y *Prevotella* (32).

Tabla 56.2. Bacterias aisladas frecuentemente en la pulpa necrótica

	Géneros	Especies
Bacterias anaerobias estrictas		
Bacilos gramnegativos	<i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i>	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> <i>P. oris</i> , <i>P. buccae</i> <i>P. intermedia</i> , <i>P. melaninogenica</i> , <i>P. nigrescens</i>
	<i>Mitsuokella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Selenomonas</i>	<i>M. dentalis</i> <i>F. nucleatum</i> <i>S. sputigena</i>
Bacilos grampositivos	<i>Eubacterium</i>	<i>E. lentum</i>
Cocos gramnegativos	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. micros</i> , <i>P. anaerobius</i> , <i>P. prevotii</i> , <i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. magnus</i>
Cocos grampositivos	<i>Veillonella</i>	<i>V. parvula</i>
Espiroquetas	<i>Treponema</i>	<i>T. denticola</i>
Bacterias anaerobias facultativas		
Cocos grampositivos	<i>Streptococcus</i>	<i>S. mitis</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. intermedius</i>
	<i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>
Bacilos gramnegativos	<i>Campylobacter</i> <i>Eikenella</i> <i>Capnocytophaga</i>	<i>C. rectus</i> <i>E. corrodens</i> <i>C. ochracea</i>
Bacilos grampositivos	<i>Lactobacillus</i> <i>Actinomyces</i>	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L.</i> <i>fermentum</i> <i>A. odontolyticus</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. meyeri</i>

Fuente: Liébana J. Microbiología Oral,

3.1.8. Bacterias en fase de obturación del conducto radicular:

En ocasiones un tratamiento antimicrobiano no logra erradicar por completo las bacterias en los conductos radiculares presentándose las consiguientes selecciones de bacterias más resistentes de la microbiota. Posterior al tratamiento endodóntico suelen desaparecer las bacterias gramnegativas las cuales son componentes habituales de infecciones intraradiculares primarias. En la mayoría de estudios se ha podido observar un mayor número de bacterias grampositivas(*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus faecalis*, *P. alactolyticus*, *Propionibacterium*) en muestras obtenidas tras instrumentación y medicación. Esto parece respaldar la hipótesis que bacterias grampositivas pueden ser más resistentes a los tratamientos antimicrobianos además de tener la capacidad de adaptarse a rigurosas condiciones ambientales que hay en los conductos instrumentados y medicados (30).

3.1.9. Microbiota de dientes endodonciados:

Se ha comprobado que la mayoría de dientes endodonciados que tienen lesiones persistentes de periodontitis apical esconde una infección intraradicular. Los agentes infecciosos presentes en los dientes endodonciados pueden ser “persistentes” que han sobrevivido a efectos de la desinfección intraradicular y ya se encontraban ahí en el momento de la obturación del conducto o pueden haber infectado el conducto tras su obturación como consecuencia de filtración coronal. Para que los microorganismos residuales puedan provocar una periodontitis apical persistente, tienen que adaptarse a las modificaciones ambientales inducidas por el tratamiento, conseguir nutrientes, sobrevivir a efectos antimicrobianos de obturación y disponer de acceso libre a los tejidos periradiculares para ejercer su patogenicidad (30).

La microbiota de los dientes endodonciados con periodontitis apical persistente, se constituye por un grupo de microorganismos más restringido que el de infecciones primarias. *E. faecalis* es un coco grampositivo anaerobio facultativo que se encuentra a menudo de 30% a 90% en dientes con endodoncia, asimismo los hongos de la especie *Candida albicans* se encuentran con una frecuencia de 3% a 18% en las infecciones persistentes secundarias. Tanto *E. faecalis* y *Candida albicans* poseen una serie de atributos que pueden sobrevivir en conductos endodonciados como la resistencia a los fármacos intraradiculares y capacidad para la formación de biopelículas, invasión en túbulos dentinarios y persistir en largos periodos de privación nutricional (30).

Microorganismos detectados en dientes endodonciados con periodontitis apical persistente

Grupo taxonómico	Frecuencia (%)*
<i>Enterococcus faecalis</i>	77
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	55
<i>Propionibacterium propionicum</i>	50
<i>Filifactor alocis</i>	48
<i>Dialister pneumosintes</i>	46
<i>Streptococcus spp.</i>	23
<i>Tannerella forsythia</i>	23
<i>Dialister invisus</i>	14
<i>Campylobacter rectus</i>	14
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
<i>Treponema denticola</i>	14
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	10
<i>Prevotella intermedia</i>	10
<i>Candida albicans</i>	9
<i>Campylobacter gracilis</i>	5
<i>Actinomyces radidentis</i>	5
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	5
<i>Micromonas micros</i>	5
<i>Synergistes oral clon BA121</i>	5
<i>Olsenella uli</i>	5

Fuente: Walton, R. Torabinejad, M. Endodoncia, Principios y Practica

3.1.10. *Enterococcus faecalis*

3.1.10.1. Taxonomía y características generales

- Taxonomía de *Enterococcus faecalis*:

-Dominio: Bacteria

-Filo: Firmicutes

-Clase: Bacilli

-Orden: Lactobacillales

-Familia: Enterococcaceae

-Especie: *Enterococcus faecalis* (23).

Son bacterias gram positivas anaerobias facultativas que suelen tener una forma ovalada, aparecer en forma aislada o cadenas cortas, incluso como cadenas muy largas (24). Usualmente se les puede encontrar en el tracto gastrointestinal, aunque provocan diferentes tipos de infecciones en el tracto urinario, bacteriemia, endocarditis, meningitis, infecciones gastrointestinales y nosocomiales (25).

Es la cepa más frecuente, asociada en un 80% a 90% de infecciones por enterococos en humanos (26). De igual forma relacionados con infecciones endodónticas post tratamiento (22).

Una característica diferencial respecto a los *Streptococos*, es la capacidad de crecer a 10°C y 45°C debido a estar expuestos a NaCl al 6.5%, su capacidad de hidrolizar esulina en presencia de bilis al 40% a un Ph de 9.6. Comúnmente la resistencia que poseen a cefalosporinas y penicilinas de varias generaciones, aminoglucósidos, vancomicina; pueden producir sobreinfecciones en pacientes que reciben tratamientos con antibióticos de amplio espectro (26).

3.1.10.2. Factores de patogenicidad en Relación con la enfermedad endodóntica

Los factores de patogenicidad principales presentes en el *Enterococcus faecalis*:

-PRODUCCION DE CITOLISINA: Actúan sobre los eritrocitos humanos y de diferentes especies animales (ovejas, conejos, etc.) teniendo importancia por su toxicidad vinculada a endocarditis (26).

Desde un punto de vista endodóntico la producción de citolisina y los genes que produce pueden favorecer al *Enterococcus faecalis* de encontrar condiciones anaeróbicas en el conducto radicular después del agotamiento del oxígeno por parte de los aerobios. Las condiciones anaeróbicas también pueden prevalecer en las capas de biopelículas bacterianas en el conducto radicular, y *E. faecalis* tiene la capacidad de producir biopelículas (31).

-SUSTANCIA DE AGREGACION: Proteína de unión de superficie a través de plásmidos que facilita la agrupación de microorganismos y realizar un intercambio de plásmidos. Esta sustancia aporta la facilidad de adherencia a paredes intestinales, células epiteliales por parte de enterococos. Asimismo, sugieren que pueden participar en la fijación a neutrófilos lo que les permitiría tener supervivencia intracelular (31).

Existen cepas de *E. faecalis* capaces de unirse al colágeno Tipo I, la unión por bacterias puede ser de particular importancia con respecto a las infecciones endodónticas, ya que este es el principal componente orgánico de la dentina.

-PROTEINA DE SUPERFICIE ENTEROCOCCICA: Proteína localizada en la superficie celular del enterococo con una aparente relación a la formación de biopelículas, lo que permite adhesión a estructuras de polietileno como catéteres intravasculares. Tiene importancia en casos de infecciones urinarias y endocarditis bacteriana que podrían estar ligados a problemas endodónticos (31).

-SUPEROXIDO EXTRACELULAR: Puede aumentar Virulencia de enterococos en abscesos de flora mixta.

Su producción se encuentra relacionada con lesiones periapicales y la pérdida ósea en la periodontitis apical crónica asimismo está implicado en la resorción ósea (31).

-ACIDOS LIPOTEICOICOS: Constituyen el antígeno del grupo D en los enterococos, tienen funcionalidad virulenta en promover el factor TNF (Factor de necrosis tumoral). Los ácidos lipoteicoicos parecen estar asociados con la resistencia frente a condiciones adversas y también puede estar involucrados en la resistencia contra los medicamentos del conducto radicular aplicados durante el tratamiento de endodoncia (31).

-COCOLISINA: Es producida por cepas de *E. faecalis* en un 55% a 65% , una metaloendopeptidasa capaz de desempeñar papel de virulencia al inactivar la endotelina, un péptido vasoactivo (26).

-GELATINASA: Es una metaloproteinasa extracelular que contiene zinc de *E. faecalis* que fue purificada y descrita por primera vez por Bleiweis y Zimmerman (1964) . Puede hidrolizar gelatina, colágeno, fibrinógeno, caseína, hemoglobina, insulina, ciertos péptidos relacionados con las feromonas sexuales de *E. faecalis* (26).

La gelatinasa del huésped es mayor en pulpas inflamadas y lesiones periapicales que en tejidos sanos. También se demostró que la gelatinasa del huésped tiene un efecto significativo en la degradación de la matriz orgánica de la dentina (31).

-HIALURONIDASA: Actúa sobre el ácido hialurónico (hialuronato, hialuronano) y es principalmente una enzima degradante que se asocia con daño tisular como consecuencia de su actividad. La producción de hialuronidasa por estreptococos y cepas de *E. faecalis* en la dentina cariada podría desempeñar un papel en la destrucción del tejido durante el proceso de caries. Las bacterias aisladas de los conductos radiculares infectados asociados con la periodontitis apical también producen

hialuronidasa, y la actividad de la hialuronidasa parece estar relacionada con el grado (agudo y subagudo) de los síntomas clínicos asimismo puede actuar como vía para facilitar la migración de bacterias desde el conducto radicular hacia la lesión periapical (31).

3.1.10.3. Patogenia en odontología:

Son capaces de producir ácido láctico a partir de fermentación de la glucosa y en ciertas ocasiones formar ácido fórmico y acético además de etanol; puede ser aislado de la cavidad bucal (27).

Sin embargo, es posible encontrar mayor cantidad de cepas en conductos radiculares con fracaso de tratamiento de conducto. Autores como Siqueira y Rocas (2004) investigaron la identificación de bacterias en tratamientos de conductos fallidos, llegando a encontrar mayor prevalencia de *Enterococcus faecalis* (45% y 77% respectivamente). Rocas y Cols, observaron que existe prevalencia de *E. faecalis* en periodontitis apicales asintomáticas que en las que producen sintomatología y a su vez en frecuencia de infecciones secundarias o persistentes que en infecciones primarias (28).

En ocasiones el tratamiento antimicrobiano no logra eliminar bacterias persistentes dentro del conducto, sobre todo bacterias grampositivas como el *Enterococcus faecalis* con una resistencia bastante alta frente a irrigantes, medicaciones intraconductos, una de las cualidades de esta bacteria es la gran tolerancia a un pH alto cercano al 12 lo que lo hace muy resistente a irrigantes como el hipoclorito de sodio. Sin embargo, Evans y Cols, determinaron una barrera de tolerancia de 11.1, dado que el *Enterococcus faecalis* hallado en un Ph 11.5, no sobrevivirá. Se cree que es debido a que tiene capacidad de sintetizar proteínas cuando es sometido a condiciones adversas de supervivencia. Como puede ser la exposición a hipoclorito de sodio o Hidróxido de calcio (29).

3.1.10.4. Vías de infección en conductos radiculares

La pulpa y dentina forman un complejo funcional el cual se encuentra protegido por sustancias exógenas de la cavidad bucal como por estructuras dentarias; en las últimas décadas se ha observado grandes avances en el conocimiento de la etiología y patogenia de las lesiones pulpares y perirradiculares; los microorganismos llegan a la cámara pulpar por diferentes vías:

Tubulos Dentinarios:

La permeabilidad dentinaria es mayor cerca a la pulpa debido a mayor diámetro y densidad de los túbulos. La dentina expuesta puede ser atacada por microorganismos presentes en las lesiones cariosas, en la saliva que baña la zona expuesta o en la placa dental que se forma sobre dicha zona. Las bacterias invaden con mayor rapidez en dientes desvitalizados que en los vitales debido a factores como la salida de líquido

dentinario y contenido tubular que alteran la permeabilidad dentinaria retrasando la invasión intratubular por bacterias (22).

Exposición Pulpar Directa:

Representa la vía más clara para las infecciones endodónticas, la caries es la causa frecuente de exposición pulpar pero los microorganismos pueden acceder igualmente a la pulpa por exposición directa secundaria a tratamientos restauradores iatrogénicos o traumatismos. El tejido pulpar expuesto entra en contacto directo con los microorganismos orales de lesiones cariosas, saliva o placa acumulada en superficie expuesta. De modo que la pulpa expuesta se inflama, se necrosa y se infecta (22).

Enfermedad Periodontal:

Los microorganismos presentes en biopelículas subgingivales asociadas a la enfermedad periodontal pueden alcanzar la pulpa por las mismas vías que microorganismos intraconductales usan para llegar al periodonto y por consiguiente tener efecto sobre la pulpa (22).

Una vez haya necrosis pulpar los microorganismos periodontales pueden llegar a los conductos radiculares por ramificaciones de túbulos dentinarios expuestos y agujeros apicales e iniciar un proceso infeccioso (30).

3.1.11. Clorhexidina

La clorhexidina es un antiséptico bacteriostático y bactericida de acción prolongada dependiente de su capacidad de adsorción, efectiva para el control de placa bacteriana recomendada en diferentes concentraciones para uso en conductos radiculares, el potencial irritativo moderado que posee quedó verificado incluso en sus concentraciones más bajas. (33). La clorhexidina como agente irrigante endodóntico ha demostrado alta eficacia antibacteriana, se pudo demostrar que la clorhexidina al 2% tiene mejor eficacia antibacteriana que la misma al 0.12% (34).

Es posible inferir que si bien la clorhexidina es utilizada en diferentes concentraciones y cumple con función bactericida y bacteriostática, es importante indicar que cuanto mayor sea la concentración será mayor la efectividad de este frente a diferentes bacterias orales.

3.2. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

3.2.1. **Autor:** Castañeda W, Jiménez C.

Título: Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Fuente: Revista Simiykita.

Año de publicación: 2015

Resumen:

El objetivo planteado fue determinar y comparar el efecto inhibitorio in vitro del IKI al 2% y el aceite esencial de *Minthostachis mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. A través del método de difusión de discos o Kirby-Bauer se comprobó la susceptibilidad, usando 7 placas Petri con agar Muller-Hinton donde se sembraron las cepas del E.faecalis y se pusieron los discos con el IKI al 2 % o con el aceite esencial de muña al 100% y embebidos en dilución etanólica al 50 %; se incubaron las placas a 37°C en estufa y finalizado el proceso se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 24, 48 y 72 horas, haciendo uso de una regla milimetrada. Los resultados dados a las 24 horas produjeron un halo de inhibición en todos los discos, donde el mayor registrado fue el del aceite esencial al 100%, y el de menor promedio fue el del IKI al 2 %, los halos fueron disminuyendo de diámetro una vez que se llegó a las 72 horas. Al finalizar se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% tiene mayor actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento del *E.faecalis* comparado al obtenido por el IKI al 2% y la dilución etanólica de aceite esencial al 50% (35).

Análisis Propio: Con los resultados que se obtuvieron se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) posee acción antibacteriana frente a la cepa de *Enterococcus faecalis*, tanto a su 50% como al 100%, mostrando una mayor efectividad al 100% en las primeras 24 horas en donde el halo de inhibición obtuvo mayores diámetros respecto a las mediciones posteriores realizadas a las 48 y 72 horas. Si bien el Yoduro de Potasio al 2% da un halo

de inhibición similar al de la solución etanolica de aceite esencial al 50%, no logra dar una efectividad inhibitoria como la del aceite esencial al 100 %.

3.2.2. **Autor:** Huallpa E.

Título: “Efecto inhibitor del aceite esencial de muña mezclado con hidróxido de calcio comparado con cuatro soluciones frente a *Enterococcus faecalis*”

Fuente: Facultad de Odontología de la Universidad Privada Norbert Wiener. Lima-Peru.

Año de publicación: 2015

Resumen:

El objetivo del estudio consistió en valorar el efecto inhibitor del aceite esencial de muña añadido con hidróxido de calcio y comparado con cuatro soluciones sobre *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Se realizó el método de difusión en Agar por pozos, de 6 mm. de diámetro, para traspasar las sustancias a examinarse incluido el suero fisiológico (control negativo). Se efectuó medición de los halos de inhibición a las 24 y 72 horas con lecturas 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; 21,40 mm. (en ambos periodos de tiempo) para el gluconato de clorhexidina al 2%; 17,89 mm. y 15,60 mm. para la mezcla del gluconato de clorhexidina al 2% con hidróxido de calcio. Se determinó que el efecto inhibitor del aceite esencial de muña mezclado con hidróxido de calcio es inferior al efecto inhibitor de la pasta 3Mix-MP, al efecto inhibitor del gluconato de clorhexidina al 2% y al efecto inhibitor de la mezcla del gluconato de clorhexidina al 2% con hidróxido de calcio, pero superior al efecto inhibitor del aceite esencial de muña (36).

Análisis propio: De la investigación podemos concluir que la mezcla de aceite esencial de muña con hidróxido de calcio no ofrece tanta efectividad inhibitoria respecto a las otras soluciones utilizadas con finalidad de ejercer actividad

antibacteriana sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, es posible obtener una efectividad antibacteriana respecto a el aceite esencial de muña puro, pero aun así existen soluciones efectivas que proporcionan mejores resultados frente a la bacteria y por ende con resultados más favorables para realizar estudios in vivo.

3.2.3. **Autor:** Quispe D, Mamani J

Título: Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico

Fuente: Universidad Nacional del Altiplano.

Año de publicación: 2016

Resumen:

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) frente a cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*, microorganismos de alta prevalencia en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Se evaluó la susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o Kirby-Bauer. Se utilizaron 120 placas Petri con agar Muller-Hinton; 40 por cada especie, donde se sembraron las cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans* y se colocaron los discos con el aceite esencial de muña al 100% y en dilución etanólica al 75%, 50 % y 25%. Las placas se incubaron a 37°C en estufa, se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 12 horas utilizando una regla de Vernier. Se recolectaron los datos en la ficha matriz de recolección. Concluyéndose que el aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña), presentó una gran actividad inhibitoria sobre las muestras de microorganismos en estudio: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* y *Cándida Albicans*, esta actividad inhibitoria fue mayor a la del Paramonoclorofenol Alcanforado (15).

Análisis Propio: La información expuesta manifiesta que existe efectividad antimicrobiana por parte del aceite esencial de muña en los patógenos frecuentes en la cavidad oral tales como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y la *Candida albicans*, siendo inclusive superior a la mostrada por Paramonoclorofenol Alcanforado, el cual es usualmente utilizado en la medicación odontológica frente a estos tipos de microorganismos, la mayor efectividad se visualizó a las 12 horas . Asimismo, cabe recalcar la importancia del mismo debido a que se evalúa la acción bactericida de *Minthostachys mollis* comparándola con medicamentos convencionales y nos permite observar cuanta es la diferencia de efecto antibacteriano frente a microorganismos frecuentes de la cavidad bucal.

3.2.4. **Autor:** Paucar E, Peltroche N, Cayo C,

Título: Actividad antibacteriana y anti fúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral

Fuente: Rev. Cubana de Investigaciones Biomédicas.

Año de publicación: 2021

Resumen:

El objetivo del estudio fue determinar la actividad del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones, comparado con doxiciclina y fluconazol frente a *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, a las 24, 48 y 72 horas. Métodos: Se realiza estudio experimental in vitro y longitudinal. Se prepararon 15 pocillos por subgrupo para evaluar el efecto inhibitorio de todas las concentraciones, dando un total de 360 pocillos. Por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron los componentes químicos del aceite esencial. Se analizó el efecto inhibitorio por el método de difusión de KirbyBauer en Agar Columbia y Agar Muller Hinton. El análisis estadístico se ejecutó mediante la prueba ANOVA y Tukey. De los cuales se obtuvo los siguientes resultados: En el análisis químico se identificó principalmente pulegona (30,17 %) y mentona

(16,55 %). Los halos de inhibición de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Porphyromonas gingivalis*, midieron: 10,2 mm, 9,8 mm y 9,6 mm, respectivamente; frente al *Staphylococcus aureus*, midieron: 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm, respectivamente; por último, frente a *Candida albicans* midieron: 9,8 mm, 8,9 mm y 8,5 mm, respectivamente. Todas las concentraciones de *Minthostachys mollis* presentaron un efecto antimicrobiano significativamente menor que el fluconazol y la doxiciclina ($p < 0,001$) por consiguiente se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó su mejor actividad inhibitoria frente al *Staphylococcus aureus*, la *Porphyromonas gingivalis* y la *Candida albicans* a las 24 horas. Sin embargo, este efecto antimicrobiano disminuye a medida que pasa el tiempo. (37).

Análisis propio: El estudio señala que el aceite esencial de muña en todas sus concentraciones exhibe capacidad inhibitoria sin embargo resultan ser inferiores respecto a fármacos como fluconazol y la doxiciclina, el mayor grado de efectividad se observó en su aplicación al 100% sobre las 3 bacterias en las primeras 24 horas, de igual forma es preciso señalar que conforme el tiempo pase, los halos de inhibición irán disminuyendo en diámetro y por ende teniendo menor efectividad.

3.2.5. **Autor:** Aigaje A, Zurita MK.

Título: Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*

Fuente: Revista Científica de las ciencias.

Año de publicación: 2017

Resumen:

El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de la *Minthostachys mollis* una planta perenne de la Serranía Ecuatoriana, sobre la *Porphyromonas gingivalis* el cual es uno de los principales patógenos del periodonto. Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, transversal, in vitro, primeramente, trató la planta por medio de la técnica “destilación por arrastre de vapor de agua”, generando 10 ml de aceite esencial, luego del procedimiento,

el mismo fue diluido para obtener tres concentraciones al 25%, 50% y 100%, se usó Clorhexidina al 0,12%, Ampicilina de 10ug como control positivo y agua como control negativo, para el análisis estadístico se utilizaron pruebas de hipótesis no paramétricas, Kruskal Wallis y Mann Whitney. Como resultados se observó efectividad antibacteriana en todas las concentraciones al 25% se obtuvo un halo promedio de 11,2 mm, al 50% la efectividad alcanzó una media de 9,6 mm y al 100% logró un promedio de 13,6 mm siendo esta concentración la más efectiva. Los controles positivos estuvieron en un rango de muy sensibles y sumamente sensibles y el control negativo no produjo efectividad. Por consiguiente, se dedujo; la clorhexidina al 0,12 y la ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (38).

Análisis Propio: En el artículo se observa, las concentraciones del aceite esencial de muña al 25% 50% y 100% presentan efectividad inhibitoria sobre la *Porphyromonas gingivalis* aunque ciertamente la efectividad que presenta no logra ser mayor a la del control positivo, como la clorhexidina al 0,12% o la ampicilina de 10ug. Los halos inhibitorios presentados por el aceite esencial al 100% es de mayores diámetros comparados a los otros halos inhibitorios presentados por las concentraciones al 25% y 50%.

3.2.6. **Autor:** Mojica DN, Ramírez-Rueda RY, Espitia MI

Título: Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de plantas contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina

Fuente: Revista Salud y Sociedad de la Universidad Pedagógica Tecnológica de Colombia.

Año de publicación: 2015

Resumen:

Las cepas de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina (EfRV) tienen resistencia a glucopeptidos, betalactámicos, aminoglucosidos, lincosamidas y trimetroprimulfametoxazol. Hoy en día se cuenta con pocas opciones

terapéuticas para el tratamiento de la infección por EfRV. Las infecciones comúnmente originadas por enterococos incluyen, infección de vías urinarias (IVU), endocarditis, bacteriemia, infecciones asociadas a catéter, infecciones de heridas, infecciones intra-abdominales y pélvicas. En diferentes momentos las cepas que causan estos cuadros infecciosos provienen de la microbiota intestinal. El objetivo fue examinar el efecto antibacteriano de extractos de siete plantas reportadas por los habitantes de la zona rural de Soracá (Colombia), Las plantas reportadas fueron: Caléndula (*Calendula officinalis*) Hinojo (*Foeniculum vulgare*), Malva (*Malva parviflora*), Llantén (*Plantago australis*), Sauco (*Sambucus nigra*), Haba (*Vicia faba*) e Hierba mora (*Solanum americanum*). Las siete plantas recolectadas fueron identificadas taxonómicamente y catalogadas en el herbario de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia como agentes con potencial acción curativa ante infecciones. La metodología empleada fue a través de extractos metanólicos y diclorometánicos de las plantas en estudio a través de extracción continua mediante Soxhlet. Se estableció la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos contra *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (resistente a vancomicina), por medio del método de microdilución en caldo propuesto por el CLSI. Se obtuvo como resultado cuatro extractos que tuvieron una CMI de 1,25 mg/mL, y el extracto diclorometánico de las hojas de *C. officinalis* tuvo una CMI de 0,625 mg/mL. Finalmente, estos resultados demuestran la capacidad inhibitoria de dichas plantas y validan parcialmente el conocimiento fitofarmacológico de los habitantes de la zona rural de Soracá (39).

Análisis Propio: En el estudio se observa, que las propiedades antibacterianas se encuentran presentes en los aceites esenciales puestos a prueba a partir de las plantas naturales nativas del país, 6 de ellas a las concentraciones de 1,25mg/ml y en el caso de *C. officinalis* a la concentración de 0,625 mg/mL sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 el cual demostró ser resistente a la vancomicina; en este estudio la técnica de microdilución, ofreció resultados bastantes similares en cuanto a la CMI de las 7 plantas para contrarrestar a el agente bacteriano.

3.2.7. Autor: Moromi , N. H.; Ramos, P. D.; Villavicencio, G. D.;
Martínez, C. E.; Mendoza, R. A.; Chavez, A. E.; Ortiz, F L. &
Quispe, S. Á

Título: Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la oleorresina de
Copaifera reticulata y el aceite esencial de *origanum majoricum* frente a
Streptococcus mutans y *Enterococcus faecalis* bacterias de importancia en
patologías orales

Fuente: . International Journal of Odontostomatology.

Año de publicación: 2018

Resumen:

El objetivo del estudio fue determinar efectividad antibacteriana in vitro de la oleorresina de *Copaifera reticulata* (C. reticulata) “copaiba” y del aceite esencial de *Oreganum majoricum* (O. majoricum) “orégano” frente a *Streptococcus mutans* (S. mutans) y *Enterococcus faecalis* (E. faecalis). Se desarrollaron pruebas de sensibilidad activando primero las cepas bacterias a tratar. La oleorresina de copaiba fue diluida con dimetilsulfóxido (DMSO), obteniéndose al final concentraciones de 100 %, 50 %, 25 %, y 12,5 %. En relación al aceite esencial de orégano; se probó solamente al 100 %. Para la prueba de difusión en agar con discos, se tomaron inóculos 100 µL de cada cepa bacteriana a una turbidez de 0,5 escala de Mc Farland, para ser cultivados por diseminación en placas de tripticasa soya agar, para luego colocar los discos de forma equidistante cargados con las diferentes concentraciones de los productos naturales, se utilizaron como control positivo al gluconato de clorhexidina al 0,12 % y al DMSO como control negativo. Posteriormente se incubaron las placas por el método de la vela en extinción a 37 °C, por 24 horas, pasado el tiempo se realizó la lectura de los halos de inhibición. Los resultados obtenidos por la copaiba, determinaron una efectividad antibacteriana en sus cuatro concentraciones, siendo los mayores halos de inhibición a la concentración del 100 %, la copaiba produjo mayores halos promedios para S. mutans de 30,00 ± 0,00 mm y para E. faecalis de 8,3 ± 0,50 mm. Para el caso del orégano se obtuvieron halos a la concentración del 100 % con un promedio de 25,3 ± 0,96

mm para *S. mutans* y para *E. faecalis* de $9,5 \pm 1,29$ mm. Se concluyó en el estudio que tanto copaiba como el orégano presentan una efectividad antibacteriana para ambas bacterias, siendo su mayor efecto antibacteriano para ambos productos naturales sobre *S. mutans* (2).

Análisis Propio: En el estudio se observa que la Copaiba presenta actividad antimicrobiana en las 4 concentraciones a las que fue sometida teniendo mayor efectividad al 100% tanto para *S. mutans* como para *E. faecalis* en el caso del orégano la efectividad solo se pudo observar en su concentración al 100% mostrando un halo inhibitorio mayor al que presentó la Copaiba sobre *E. faecalis* pero un menor diámetro de inhibición comparado con el Orégano sobre el *S. mutans*. Sin embargo ambas plantas demostraron tener mayor efectividad inhibitoria sobre la cepa de *S. mutans*.

3.2.8. Autor: Malpartida F

Título: Efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de muña y orégano en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

Fuente: Universidad Privada Norbert Wiener.

Año de publicación: 2017

Resumen:

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Para tal efecto se reactivaron los *E. faecalis* (ATCC 29212) que fueron utilizados en las dos etapas del estudio: 1.- Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ambos aceites esenciales. 2.- Determinación del efecto inhibidor de estos aceites esenciales en comparación a sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar. En la primera etapa del estudio se encontró que la CMI del aceite esencial de muña fue 10% y aceite esencial de orégano fue 30%. En la segunda etapa, los *E. faecalis* fueron sembrados en 56

placas petri que contenían el medio de cultivo Mueller Hinton con pozos de 6 mm. de diámetro donde se vertieron 100 ul. de aceite esencial de muña al 100%, aceite esencial de muña al 10% (CMI), aceite esencial de orégano al 100%, aceite esencial de orégano al 30% (CMI), hipoclorito de sodio al 5%, clorhexidina al 2% (gel), clorhexidina al 2% (solución), Calcifar - P ® y Tween 20. Las placas se incubaron a 37°C realizándose la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla pie de rey a las 24 y 48 horas. Para el análisis de los resultados se utilizaron las pruebas de ANOVA y Tukey. Se concluye que la CMI del aceite esencial de muña y orégano tienen efecto inhibidor frente a *E. faecalis* a las 24 y 48 horas, sin embargo, su efecto es menor que la Clorhexidina al 2% (solución) (40).

Análisis Propio: En el estudio se aprecia que la concentración mínima inhibitoria de la muña y del orégano del 10% y 30% respectivamente, sin embargo, a medida que pasan las horas va perdiendo efectividad, haciendo que concentraciones más altas de las mismas tengan un mayor efecto a largo plazo, pero ninguna de las concentraciones logra superar la actividad antibacteriana presentada por la clorhexidina al 2% (en solución).

3.3. HIPOTESIS

Dado que se conoce la actividad antibacteriana de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

Es probable determinar la concentración mínima inhibitoria, la concentración mínima bactericida y potencia biológica in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

A large, faint watermark of the Universidad Católica de Santa María seal is centered in the background. The seal features a central shield with a cross, a book, and a lamp, surrounded by the university's name in Spanish and English, and the year 1961 at the bottom.

CAPITULO II PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

1.1.1. Especificación

Para la recolección de datos, en esta investigación se empleó la técnica de Observación Microbiológica en Laboratorio.

1.1.2. Esquematización de la Técnica

Variables	Técnica	Instrumento
- Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i>	Observación Microbiológica	Ficha de Observación Microbiológica en Laboratorio

1.1.3. Esquematización de Procedimiento

Variables	Procedimiento	Técnicas
- Aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (Muña) - Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i>	-Recolección -Obtención de aceite esencial (arrastre por vapor de agua) -Adquisición de la Cepa -Reactivación de Cepa -Cepa Madre -Preparación de escala de Mc Farland -Preparación de Inoculo -Método de diluciones -Determinación de actividad antibacteriana -Viabilidad de Cepa Bacteriana -Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria(CMI) y Concentración mínima bactericida(CMB)	-Observación Microbiológica

1.1.4. Descripción de Procedimiento

a) Recolección del material vegetal

Procedimiento:

- Se procedió a la recolección y selección de la muña en la ciudad de Puno debido a que existen mayor cantidad de ejemplares en la Zona.
- Se seleccionaron los ejemplares y se empezara a reunir las hojas y tallos de los mismos.
- Se dejó secar la muña en un lugar seco, libre de contaminación y posteriormente selecciono las mejores muestras para el procedimiento de obtención de aceite de muña

b) Obtención de Aceite esencial por arrastre de vapor.

La muña se llevó al laboratorio, se depuro la muestra contenida en tallos, flores y hojas frescas, enseguida se procedió a depositar el material seleccionado en la cámara de contención del equipo de extracción del aceite esencial. La obtención del aceite esencial se realizó con el método por arrastre de vapor de agua, que es el más recomendable. Después de todo el procedimiento, el destilado de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) se recibió en un envase estéril y cerrado. El aceite se guardó en un ambiente estéril y se dejó refrigerar.

c) Adquisición de cepa de *Enterococcus faecalis* 29212.

La cepa fue obtenida por contacto con Genlab Perú SAC, entidad encargada de soporte técnico, asesoría, equipos, software, reactivos y suministros de utilidad en Biología Molecular, Celular y Microbiología; a través de su división Microbiología y cultivo celular (Microbiologics), encargada de fabricar y vender suministros de laboratorio incluido microorganismos (liofilizados) en Kwik-stik; se certificó la diferenciación y garantía de calidad de la cepa

bacteriana *E.faecalis* derivada de ATCC 29212. Código de proveedor: 0366P; Lote 366-401-2 para ser estudiada.

d) Reactivación de la cepa Bacteriana

El medio caldo tioglicolato se utilizó para la reactivación de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); en dos tubos madre a condiciones anaeróbicas incubándolas por 24 horas a 37°C, en el cual se observó el crecimiento bacteriano.

e) Cepa Madre

Posterior a la reactivación, se realizó el procedimiento de plaqueado en medio Agar Kf, se colocó las placas Petri (Placas Madre) en la incubadora por 24 horas a 37°C con la finalidad de obtener colonias bacterianas (Cepa Madre) y comprobar la viabilidad de las mismas.

f) Escala de Mc Farland:

Son estándares los cuales se utilizan como referencia para suspensiones bacteriológicas sirven para conocer el número de bacterias que se necesitan por mililitro o también conocidos como UFC (unidades formadoras de colonias) según una escala que va de 0.5 a 10. Para la bacteria *E.faecalis* se estandarizo al 0.5 escala de McFarland, posteriormente midiéndose la absorbancia del mismo a una longitud de onda de 625 nm.

g) Preparación del inóculo:

Para la obtención del inóculo se transfirió bacterias de las placas madre hacia un tubo de ensayo con agua destilada, para poder alcanzar la densidad bacteriana estándar 0.5 de la Escala de McFarland. Una vez que se obtuvo el grado de turbidez similar a la Escala se logró dar inicio el procedimiento por el método de diluciones.

h) Método de Diluciones

Se aplicó la técnica de diluciones a través de tubos de ensayo, los cuales comprendieron 7 series de 10 tubos, en cada uno de ellos se puso aceite esencial de muña en diferentes concentraciones, añadiendo un control positivo (Clorhexidina al 2%) y un control negativo (Agua destilada) a cada serie; dando una totalidad de 84 tubos. En cada uno de los tubos se utilizó como medio de desarrollo el caldo tioglicolato; dentro de los cuales se sometió el inóculo bacteriano frente a las diferentes concentraciones del aceite.

i) Determinación de actividad antibacteriana:

Para la determinación de la actividad antibacteriana se utilizó el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) mediante el método de diluciones utilizando el Tween20 como agente coadyuvante de dilución en concentraciones (100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% y 10%) de las cuales 100 ul de cada una de ellas se puso en los tubos de ensayo, consecuentemente se preparó Caldo Tioglicolato y se distribuyó en cada tubo de ensayo a razón de 3ml en cada tubo, se agregó 100 ul de inóculo bacteriano de *Enterococcus faecalis* y finalmente se incubó a 37°C por 24 horas.

Posterior a ello se efectuó lecturas del grado de turbidez presente en cada uno de los tubos, contrastando con un control positivo y negativo de manera visual, además se obtuvo el grado de absorbancia de cada uno de los tubos por medio del espectrofotómetro logrando tener lecturas numéricas descendentes a medida que las concentraciones aumentaban.

j) Viabilidad de la Cepa bacteriana

De los tubos obtenidos luego de aplicación de aceite de *Minthostachys mollis* (muña) al 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% sobre crecimiento de *E.faecalis*, se replicó

en placas Petri para observar viabilidad puesto que todas mostraron absorbancia, se incubaron por 24 horas a 37°C y luego se realizó las lecturas correspondientes.

k) Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB):

De las pruebas de viabilidad se logró determinar la (CMI) debido al mínimo crecimiento de colonias bacterianas de *E. faecalis* expuestas a una concentración de aceite esencial de muña al 50%, y la (CMB) resultante al nulo crecimiento de colonias bacterianas expuestas a una concentración del 60%; respaldando de esa forma la actividad antibacteriana observada en los grados de absorbancia.

1.2. Instrumentos

1.2.1. Instrumento Documental

Se utilizó una ficha de observación microbiológica elaborada de acuerdo a los indicadores y subindicadores

1.2.2. Estructura esquemática del Instrumento

VARIABLES	ITEMS	INDICADORES	SUBITEMS
Aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (Muña)	1	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	1.1
		Concentración Mínima Bactericida (CMB)	1.2

Cepa de <i>Enterococcus faecalis</i>	2	Viabilidad por presencia de colonias	2.1
--------------------------------------	---	--------------------------------------	-----

1.2.3. Instrumentos Mecánicos

- Mechero Bunsen
- Incubadora de Laboratorio para cultivos
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Estufa eléctrica

1.2.4. Materiales de Laboratorio

- Placas Petri
- Tubos de ensayo
- Micro pipetas 5ul, 10ul, 100ul
- Pipetas 1ml, 5ml
- Pinza de soporte
- Gradillas
- Matraz 1000ml
- Asa de Khole

1.2.5. Insumos

- Solución de Aceite esencial de muña
- Caldo de Tioglicolato
- Medio de Agar KF
- Cepas de bacteria *E. faecalis* ATCC29212
- Agua destilada
- Solución Tween20

1.2.6. Materiales del investigador

- Plumón

- Cinta
- Computadora y accesorios
- Hojas y Lapicero

2. CAMPO DE VERIFICACION

2.1. Ubicación espacial

2.1.1. Ámbito General

Ciudad de Arequipa

2.1.1. Ámbito Especifico

Laboratorio del Centro de salud Edificadores Misti.

2.2. Ubicación Temporal

-La investigación se llevó a cabo entre los años 2021 y 2022 durante los meses de Julio (2021) y el primer semestre del año (2022), por tanto, es una investigación actual de corte longitudinal.

2.3. Unidades de Estudio

2.3.1. Población:

La población se constituyó de microorganismos de *Enterococcus Faecalis* obtenidos (población infinita).

2.3.2. Muestra:

Se utilizó la opción de “Muestra a partir de un universo de magnitud desconocida”; debido a que el tamaño del universo es desconocido; y para el cálculo del tamaño de la muestra, se usó la fórmula para estimación de una proporción en una población infinita.

2.3.3. Tipo de Muestreo:

El tipo de Muestreo es no probabilístico debido a que se usó a los de microorganismos de *Enterococcus Faecalis* que fueron divididas y estudiadas partiendo de una hipótesis para finalmente alcanzar una conclusión.

2.4. Criterios de Cualificación

2.4.1. Criterios de inclusión

- Cepas de *Enterococcus faecalis*. que no hayan sufrido afecciones externas que pudieran alterar su reacción frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)
- Cepas de *Enterococcus faecalis* que se encontraron aptas a ser activadas.

2.4.2. Criterios de exclusión

- Cepas de *Enterococcus faecalis*. que hayan sufrido afecciones externas que pudieran alterar su reacción frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)
- Cepas de *Enterococcus faecalis* que no se encontraron aptas a ser activadas.

2.5. Criterios de Cuantificación:

Para determinar el número de réplicas a realizar por concentración, se utilizó la siguiente formula:

$$n = \frac{Z^2 \alpha \cdot P (1-P)}{i^2}$$

Datos:

$Z\alpha=1.96$ (Constante para un error del 0.05)

P: Proporción esperada para la variable

$$P= 0.50$$

i: Precisión para estimar la proporción

$$i= W/2 = 0.25/2 = 0.125$$

W: Amplitud total del intervalo de confianza

$$W= 0.25$$

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot (0.50) \cdot (1- 0.50)}{(0.125)^2}$$

n= 63 Replicas en total; a razón de 7 réplicas por cada grupo

Al 100%	7 Replicas
Al 90%	7 Replicas
Al 80%	7 Replicas
Al 70%	7 Replicas
Al 60%	7 Replicas
Al 50%	7 Replicas
Al 40%	7 Replicas
Al 30%	7 Replicas
Al 20%	7 Replicas
Al 10%	7 Replicas
Control Positivo (+)	7 Replicas
Control Negativo (-)	7 Replicas

3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.1. Organización:

- Primeramente, se tramito la Autorización del decano
- En segundo momento se coordinó con la Universidad Católica Santa María para la autorización de la realización del proyecto en Laboratorios y para obtención de resoluciones necesarias.
- En tercer momento se gestionó la certificación de aprobación de los especialistas encargados de Laboratorios.
- Observación, Medición, recuento y manejo de los resultados obtenidos

3.2. Recursos

3.2.1. Recursos Humanos

Investigador: Rodrigo Fernando Sanga Mendizábal.
Asesor: Ruth Alvares Monge.

3.2.2. Recursos Físicos

Ambiente Particular de trabajo personal.

3.2.3. Recursos económicos

El presupuesto para el proyecto de investigación fue autofinanciado.

3.3. Validación del instrumento

Prueba Piloto

3.4. Criterios para el manejo de resultados

3.4.1. Tipo de procesamiento

El procesamiento fue manual y computarizado.

3.4.2. Operaciones del procesamiento

Para procesar la información obtenida se usó el programa de Excel con el cual se construyó tablas de frecuencia de doble entrada para ordenar, agrupar y resumir datos, con sus respectivos datos de frecuencia absoluta y relativa, acompañados de los gráficos de barra que se emplearon para los resultados.

3.4.3. Análisis estadístico

En el análisis estadístico se utilizó prueba de ANOVA para observar y comparar las lecturas obtenidas en las diferentes concentraciones, además de la prueba T de Student.

3.5. CRONOGRAMA DE TRABAJO

ACTIVIDADES PERIODO 2021-2022	MESES							
	PERIODO 2021				PERIODO 2022			
	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Elaboración del Proyecto de investigación	X							
Presentación de proyecto de investigación		X						
Aprobación de Tesis			X					
Implementación del proyecto				X				
Ejecución del proyecto					X			
Análisis e interpretación de Resultados						X		
Elaboración de informes							X	
Elaboración de informe final								X

A large, faint watermark of the Universidad Católica de Santa María logo is centered in the background. It features a shield with a cross, a book, and a lamp, surrounded by the university's name in Spanish and English, and the year 1961.

CAPITULO III

RESULTADOS

Tabla 1.: Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones expresados en unidades formadoras de turbidez (UFT) frente a *E.faecalis* ATCC 29212

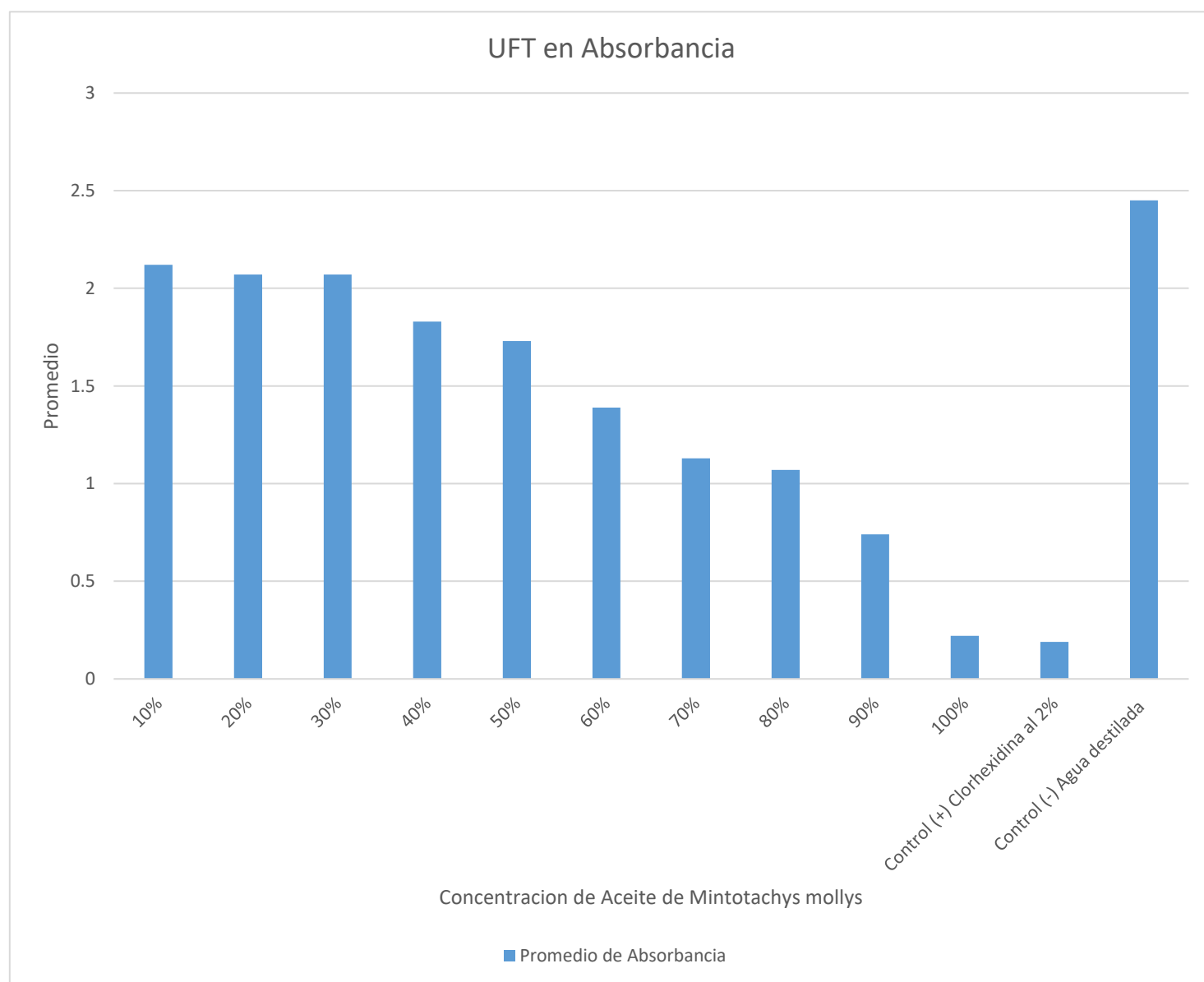
Concentración de Aceite esencial de muña	N° de Repeticiones	Promedio de Absorbancia
10%	7	2.12
20%	7	2.07
30%	7	1.92
40%	7	1.83
50%	7	1.73
60%	7	1.39
70%	7	1.13
80%	7	1.07
90%	7	0.74
100%	7	0.22
Control (+) Clorhexidina al 2%	7	0.20
Control (-) Agua destilada	7	2.45
Total	84	-

Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

INTERPRETACION:

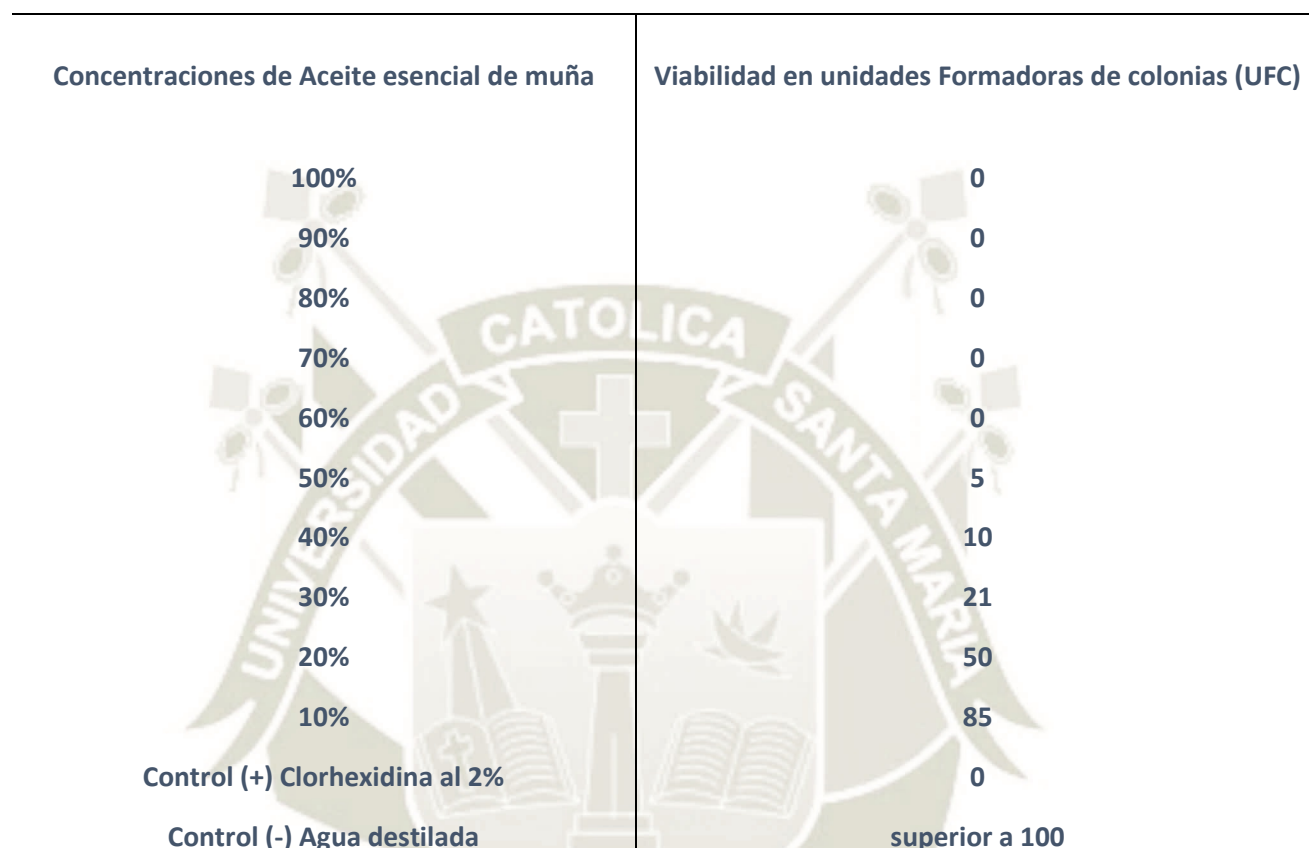
En la tabla N°1 se aprecia la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepas de *E. faecalis*, siendo directamente proporcional a la concentración de aceite de muña, esto se observa expresado en unidades formadoras de turbidez (UFT).

Gráfico 1: Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a diferentes concentraciones expresados en unidades formadoras de turbidez (UFT) frente a *E. faecalis* ATCC 29212



Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

Tabla 2. Viabilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en UFC post tratamiento a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).



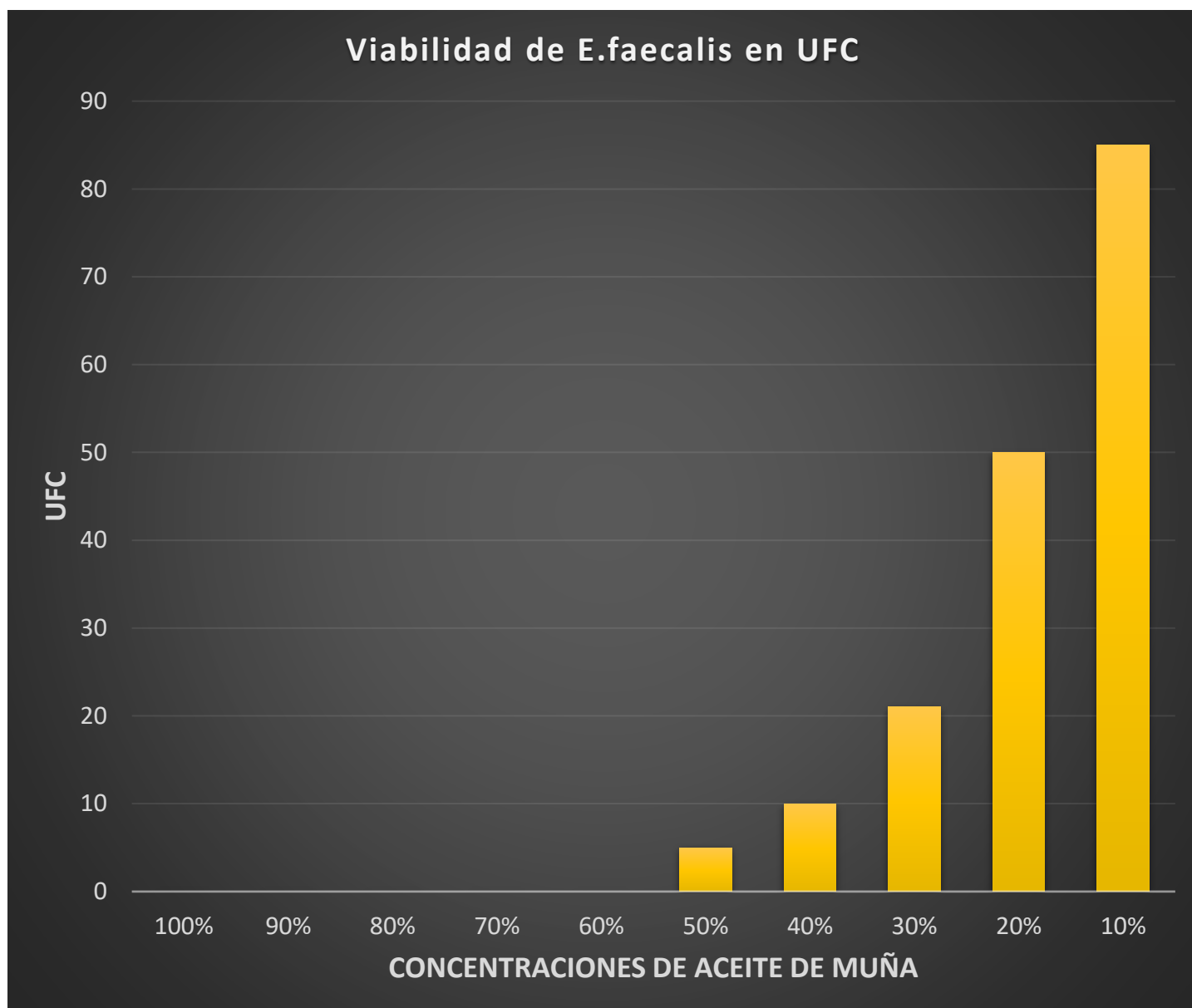
Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

INTERPRETACION:

En la tabla N°2 se observa la viabilidad de *Enterococcus faecalis* a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), siendo inversamente proporcional a la concentración del aceite de muña expresado en unidades formadoras de colonias (UFC).

Asimismo, se registra que las concentraciones de aceite esencial de muña a partir del 60% no registran crecimiento alguno de cepas bacterianas de *Enterococcus faecalis*.

Gráfico 2. Viabilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en UFC post tratamiento a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).



Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

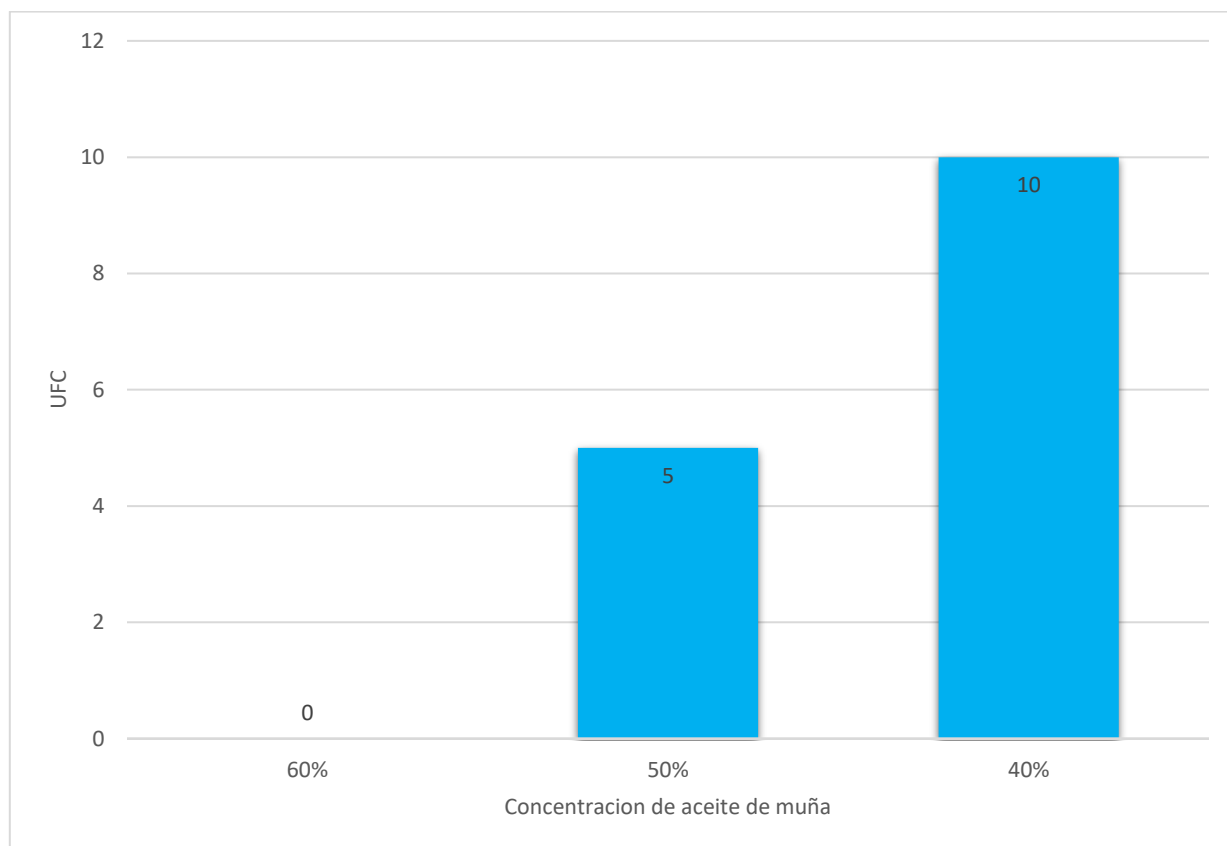
Concentración de aceite esencial de muña	Unidades Formadoras de Colonias
60%	0
50%	5
40%	10

Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

INTERPRETACION:

En la tabla N°3 se observa que la concentración del 50% de aceite esencial de muña sobre *E.faecalis* exhibe una mínima cantidad de (UFC), siendo la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento bacteriano.

Gráfico 3. Concentración mínima inhibitoria de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.



Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

Tabla 4. Concentración mínima bactericida de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

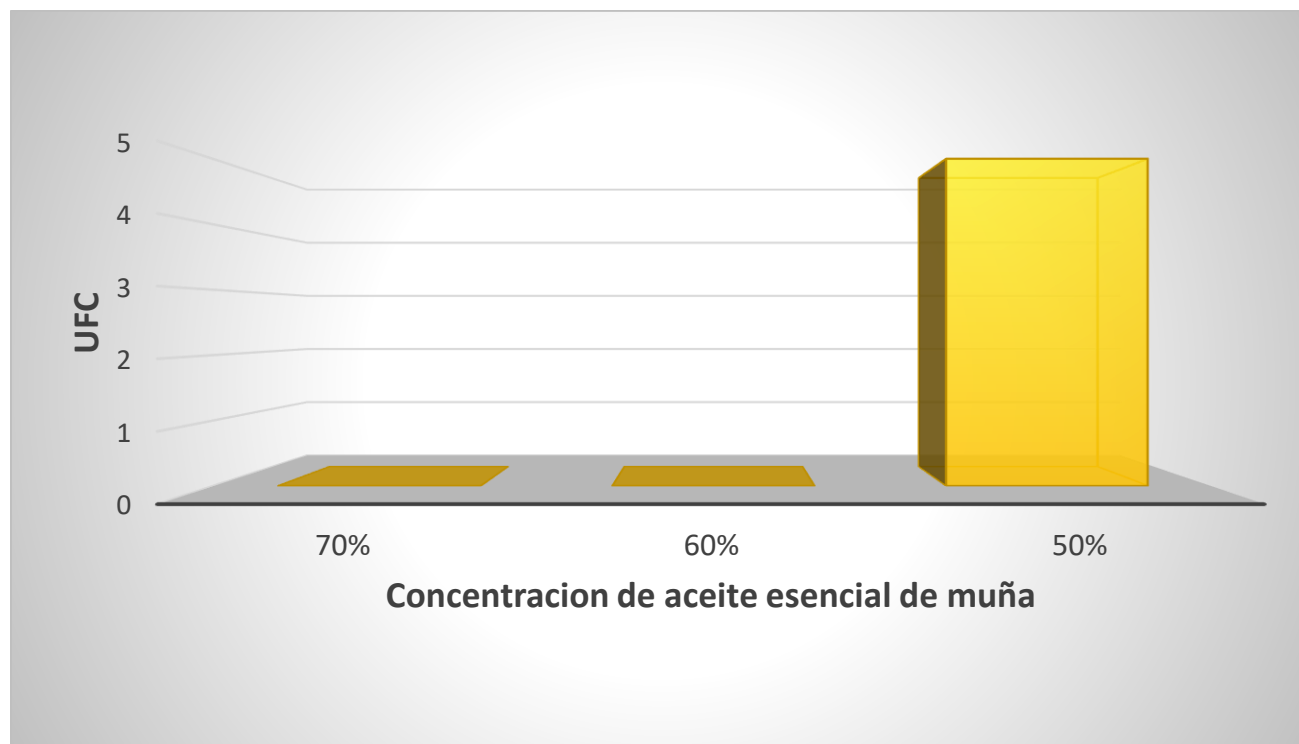
Concentración de aceite esencial de muña	Unidades Formadoras de Colonias
70%	0
60%	0
50%	5

Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

INTERPRETACION:

En la tabla N°4 se observa que la concentración del 60% de aceite esencial de muña sobre *E.faecalis* exhibe una nula cantidad de (UFC), siendo la concentración mínima capaz de eliminar el crecimiento bacteriano.

Gráfico 4. Concentración mínima bactericida de aceite esencial de *Minthostachys mollis* establecida a partir de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.



Fuente: Elaboración propia (Matriz de datos)

DISCUSION:

En relación con los antecedentes se puede constatar que el estudio realizado por Castañeda y Jiménez (2015) en el cual apreciaron actividad antibacteriana del aceite esencial de muña al 50% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC (29212). Son similares a los resultados obtenidos en esta investigación.

Sin embargo, en relación a la contrastación de resultados con otros expuestos de anteriores investigaciones realizadas, tenemos que hay diferencias como se puede verificar con lo que afirma Malpartida F. (2017) el cual determinó que la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de muña sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC (29212) fue al 10%.

Cabe mencionar que existen una mayor cantidad de investigaciones en las cuales el principal objetivo es el determinar la efectividad antibacteriana del aceite esencial de muña respecto a determinar la concentración mínima inhibitoria y bactericida del aceite de muña como el que se puede observar en el realizado por Quispe y Mamani (2016) los cuales concluyeron en que la mayor efectividad del aceite de muña sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC (29212) es al 100% mostrando una alta actividad bactericida mas no indagando en la CMI o CMB.

Asimismo, el estudio hecho por Huallpa E, (2017) el cual se enfocó en determinar el efecto inhibitor del aceite de muña sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC (29212) utilizando el aceite de muña al 100%, comparó con medicamentos intrarradiculares, sin embargo, el investigador no expuso la concentración mínima inhibitoria o bactericida del aceite de muña.

Los estudios de efectividad antibacteriana de la muña comprendieron el método de difusión por discos, el cual solamente permite analizar las medidas de halos inhibitorios y comprobar la existencia o carencia de actividad antibacteriana, sin embargo, el método de diluciones aplicado en el presente estudio, da resultados más exactos de actividad antibacteriana en diferentes concentraciones siendo más preciso por los grados de absorbancia que se demuestran, además de emplear evaluaciones de viabilidad para respaldar los resultados encontrados.

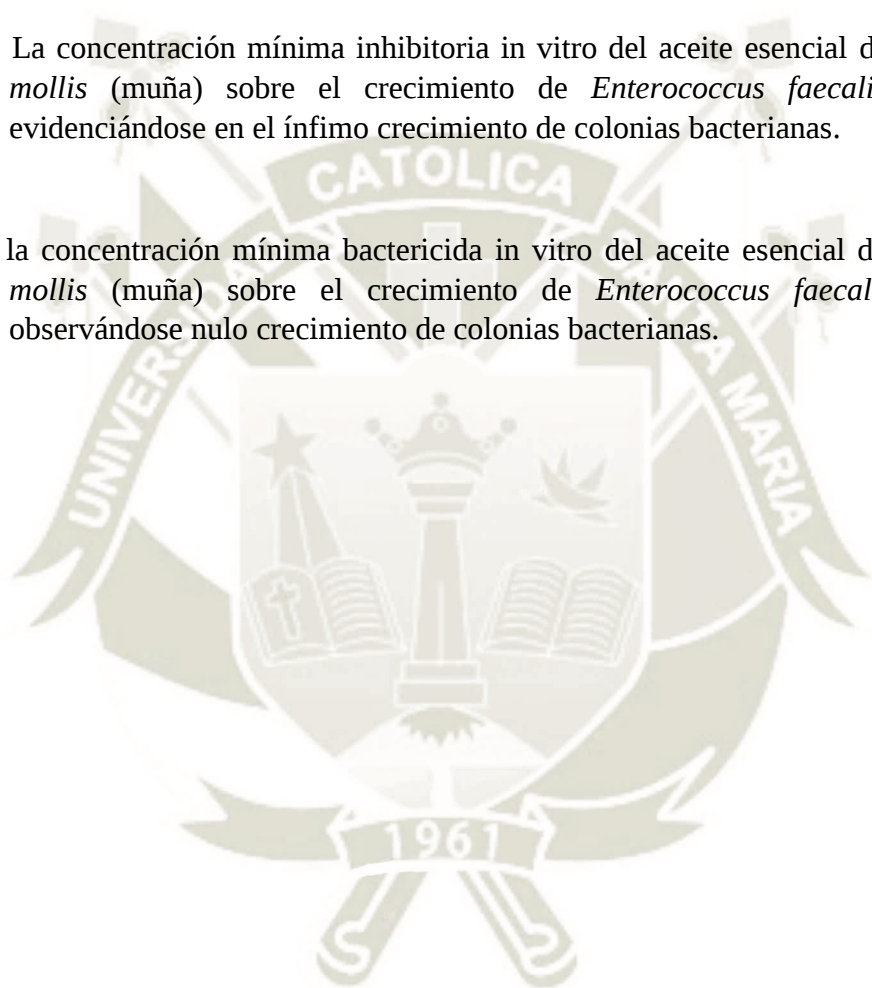
Por tanto, la presente investigación abordó de manera más detallada las concentraciones necesarias para obtener actividad bacteriostática y bactericida.

CONCLUSIONES:

PRIMERA: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) evidenció actividad bactericida sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis*, siendo las concentraciones más altas las que tuvieron mayor efecto sobre ellas.

SEGUNDA: La concentración mínima inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* fue al 50%, evidenciándose en el ínfimo crecimiento de colonias bacterianas.

TERCERA: la concentración mínima bactericida in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* fue al 60% observándose nulo crecimiento de colonias bacterianas.



RECOMENDACIONES

1. Se recomienda ampliar el estudio de concentración mínima inhibitoria y bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) incidiendo en la plausible acción sinérgica de este con diferentes medicamentos intraconducto que se hallan en la actualidad.
2. Se sugiere extender el estudio de concentración mínima bactericida de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) in vivo.
3. Complementar el estudio identificando los componentes químicos que otorgan la actividad antibacteriana al aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).
4. Replicar esta investigación in vitro incrementando el número de placas para la prueba de viabilidad bacteriana.
5. Se sugiere extender el estudio de CMI y CMB de aceite esencial de muña sobre *Candida albicans* u otros agentes fúngicos de implicancia estomatológica.
6. Se recomienda investigar la concentración mínima inhibitoria y bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre diferentes cepas bacterianas de importancia endodóntica.
7. Se sugiere realizar estudios comparativos de CMI y CMB del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) respecto a diferentes aceites esenciales de plantas medicinales de la región de Arequipa, aplicados sobre *E. faecalis* (ATCC 29212).

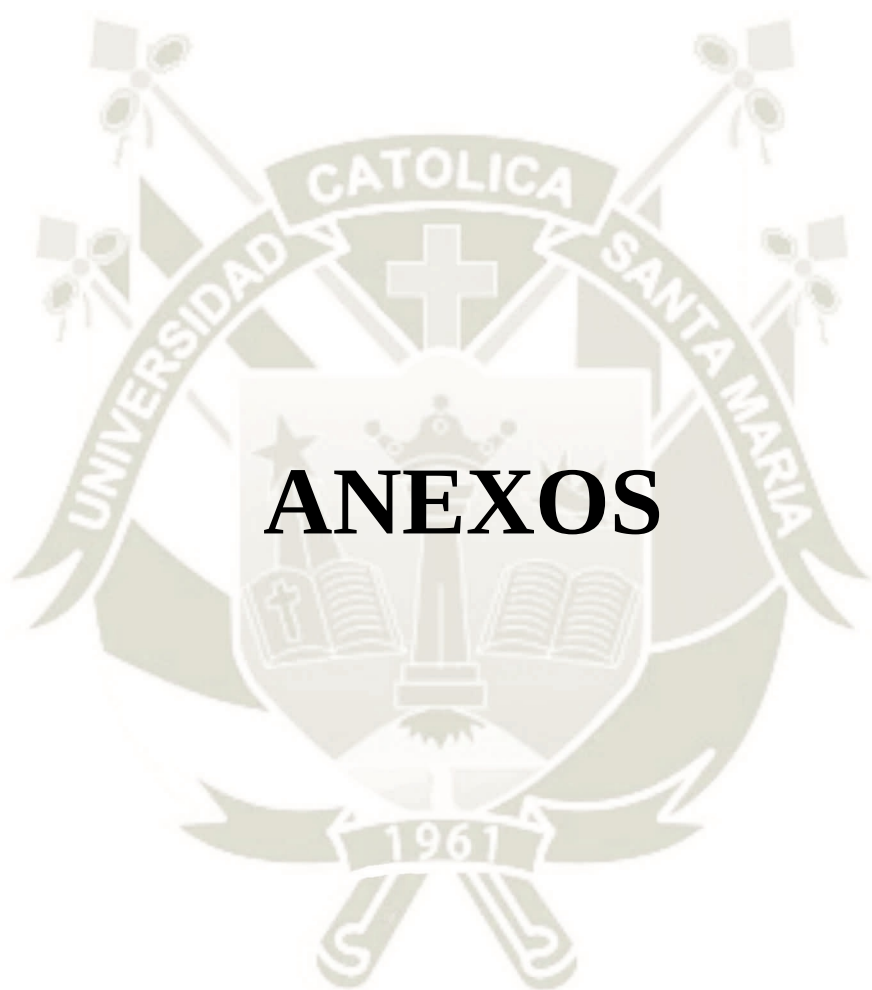
V REFERENCIAS

1. Aguilar-Ancori EG, Aguilar-Ancori KV, Garay B, Mamani V, Quispe-Flórez MM. Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018;35(1): 161-3
2. Moromi , N. H.; Ramos, P. D.; Villavicencio, G. D.; Martínez, C. E.; Mendoza, R. A.; Chavez, A. E.; Ortiz, F L. & Quispe, S. Á.. Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la oleorresina de *Copaifera reticulata* y el aceite esencial de *origanum majoricum* frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* bacterias de importancia en patologías orales. *Int. J. Odontostomat*. 2018; 12(4):355-361.
3. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2014;31(1):165-8.
4. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial activity of some essential oils present status and future perspectives. *Medicines*. 2017; 4(3):58.
5. Torrenegra, AM; Granados, CC; Duran, LM; León MG; Yáñez, RC. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Rev Orinoquia* [Internet]. 2016 [citado 2021 Jun 07]; 20(1) , Disponible en : <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
6. Rodríguez C; Oporto G. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados. *Rev. Odontológica Mexicana*. 2015; 19(3): 181-186.
7. Del Carpio, AE; Bramante, CM; Duarte, MA; Cavenago, BC; Villas-boas, MH; et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *Journal of endodontics*, 2011; 37(8):1134-1138
8. Bruneton J. Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales. 2da Edicion. Zaragoza. Editorial Acribia .S.A. 2001: 478-565
9. Goldsmith J. Thorpe's Dictionary of applied Chemistry. 10º Edición. Londres: Editorial Sir Ian Heilbron; 1967(8): 658.
10. Agapito T. y Sung I. Fito Medicina 110 Plantas Medicinales. 1º edición. Lima: Editorial Isabel IRL; 2003.

11. Cano C. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Tesis de maestría para Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Lima: UNMSM; 2007
12. Azaña I. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico TESIS para obtener el título de Cirujano Dentista. Lima –Perú: UNMSM; 2010
13. Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales, 1ª Edición. Barcelona: Editorial RBA libros S.A; 2012.
14. Medalith G. efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en *streptococcus mutans*, tesis para optar el título profesional de cirujano dentista, UNMSM- Lima, Perú; 2014
15. Quispe D. Mamani J. “Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (muña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico” Tesis para optar el título profesional de Cirujano dentista, UNA – Puno, Perú. 2016
16. Brako, L. & Zarucchi, JL. Catálogo de Plantas Florecientes y Gimnospermas del Perú Monografías en botánica sistemática del Jardín Botánico de Missouri, 1993; 45(1): 582.
17. Mora F. et al. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil *Minthostachys mollis* from Venezuela Andes. Natural Product Communications, Mora F. et al, 2009; 4(7): 997-1000.
18. Laucata SNC. Presentado por. Univ Nac del Altiplano. 2013;1(CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Minthostachys mollis* (MUÑA), FRENTE A LA ACTIVIDAD BACTERIANA DE *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. PUNO 72 2013):1-76.
19. Barba Carrión BE. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (MUÑA), sobre *Salmonella* comparado con Cotrimoxazol. tesis para obtener el título profesional de: Médico Cirujano, UCV- Trujillo, Peru; 2019.
20. Prats G. Microbiología clínica, 1ª Edición, Madrid: Editorial Medica Panamericana; 2008.

21. Ingraham J, Ingraham C. Introducción a la Microbiología, 1ª edición Vol.2, Barcelona: Editorial Reverte S.A; 1998.
22. Negroni M, Microbiología Estomatológica Fundamentos y Guía Práctica, 2da Edición, Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2009.
23. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transferencia de *Streptococcus faecalis* y *Streptococcus faecium* al género *Enterococcus* nom rev. como *Enterococcus faecalis* comb. nov. y *Enterococcus faecium* comb. Nov. J. Syst. Bacteriol, 1984; 34(2): 31-34
24. Bennet J, Dollin R, Blaser M. Compendio de enfermedades infecciosas 1ra Edición, Barcelona: Editorial Elsevier, 2017. Pág 238
25. Giron J, Perez R, Tratamiento de infecciones por enterococo, Rev Clinica española, 2003; 203(10): 482-485
26. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Koneman. Diagnóstico Microbiológico 6ta Edición, Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 2008.
27. Bordoni N, Escobar A, Castillo R, Odontología pediátrica 1ra edición, Buenos Aires: Editorial medica panamericana, 2010
28. Siqueira S, Rôças N. Polymerase chain reaction – based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. Oral Surg. 2004; 97(1): 85-94
29. Canlada C, Brau E. Endodoncia técnicas clínicas y bases científicas 2da edición, Barcelona: Editorial ELSEVIER, 2006.
30. Walton, R. Torabinejad, M. Endodoncia, Principios y Práctica, 4ta Edición, Barcelona: Editorial Elsevier; 2010
31. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med 2004 Sept; 15(5):308-320.
32. Liebana J. Microbiología Oral, 2da Edición, España; Editorial McGraw-Hill; 2002
33. Soarez I, Goldberg F, Endodoncia técnica y fundamentos, Argentina Editorial Medico panamericana, 2002

34. Berman L, Margreaves K, Cohen vías de la Pulpa, 12va Edición, España Editorial Elsevier, 2022
35. Castañeda W, Jiménez C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Rev. Simiykita. 2015 Ene-Jun; 1(1):15-22.
36. Huallpa E. Efecto inhibidor del aceite esencial de muña mezclado con hidróxido de calcio comparado con cuatro soluciones frente a *Enterococcus faecalis* (Tesis para obtener el título profesional de Cirujano Dentista). Lima Universidad Privada Norbert Wiener. 2017
37. Paucar E, Peltroche N, Cayo C, Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral Rev. Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2021;40(5):1450
38. Aigaje A, Zurita MK. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. Rev. Científica de las ciencias. 2017 enero; 3 (1):3-20
39. Mojica DN, Ramírez-Rueda RY, Espitia MI. Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de plantas contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. Salud Soc Uptc. 2015;2(1): pp. 27-32
40. Malpartida F. Efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de muña y orégano en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. estudio in vitro -lima 2014. (Tesis para optar el Grado Académico de: Doctor en salud) . Lima- Universidad Privada Norbert Wiener. 2017.



ANEXOS

ANEXO 1: CONSTANCIA DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

 *Universidad Nacional Del Altiplano - Puno*
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA
ACREDITADA
(Resolución de Presidencia del Consejo Directivo AD-HOC Nro. 210-2016 SINEACE/CDAH-P)



N° 001-2021-D-FIQ-UNA

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERIA QUÍMICA DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO.

HACE CONSTAR:

Que, el Sr.: **RODRIGO FERNANDO SANGA MENDIZABAL**,
Bachiller en Odontología de la Universidad Católica de Santa María, ha utilizado
el laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios de la Facultad de Ingeniería
Química-UNA PUNO, específicamente el equipo de extracción de aceite
esencial, donde realizo PRUEBAS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE
MUÑA (*Mynthostachys mollis*), necesaria para su tesis de grado intitulado
"CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE (*Mynthostachys mollis*) MUÑA
SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212 UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE SANTA MARIA".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para
los fines que estime por conveniente.

Puno C.U., 05 de octubre de 2021

 
Walter B. Apaza Aragón, Ph.D.
DECANO - FIQ-UNA

C.c.
Archivo '21
WBAA/rvs

Ciudad Universitaria Av. Floral N° 1153
TELÉFONO: 051-366190

ANEXO 2: CONSTANCIA DE EXPERIMENTACION EN LABORATORIO

"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

CONSTANCIA

Por medio de la presente se hace constar que:

Sr. Rodrigo Fernando Sanga Mendizabal

Ha realizado la parte práctica de su tesis Titulado "Concentración mínima inhibitoria in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC29212, Universidad Católica Santa María, Arequipa 2021. En el laboratorio del Centro de Salud Edificadores Misti acreditado en el nivel I-4; durante el mes de enero del presente.

Constancia que se expide a petición del interesado, al tres (03) de mayo del dos mil veintidós (2022)

Atentamente

GOBIERNO REGIONAL AREQUIPA
SECRETARÍA REGIONAL DE SALUD
CENTRO DE SALUD EDIFICADORES MISTI


Sonia Mamani Churruarín
BIÓLOGA
C.R. 1374

ANEXO 3: MODELO DE INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION LABORATORIAL

Tubo/Serie	Serie 1ra repetición	Serie 2da repetición	Serie 3ra repetición	Serie 4ta repetición	Serie 5ta repetición	Serie 6ta Repetición	Serie 7ma repetición
Control -							
1 100%							
2 90%							
3 80%							
4 70%							
5 60%							
6 50%							
7 40%							
8 30%							
9 20%							
10 10%							
Control +							

VIABILIDAD POR SIEMBRA EN PLACAS

Presencia de colonias en Placa	Control (-)	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	Control (+)
Siembra 1												
Siembra 2												

ANEXO 4: MATRIZ DE DATOS (ESPECTROFOTOMETRIA)

Concentración de Aceite esencial de muña	Repeticiones							PROMEDIO
	Serie 1 Absorbancia	Serie 2 Absorbancia	Serie 3 Absorbancia	Serie 4 Absorbancia	Serie 5 Absorbancia	Serie 6 Absorbancia	Serie 7 Absorbancia	
100%	0.3	0.24	0.27	0.26	0.18	0.11	0.2	0.222857143
90%	1.2	0.86	0.68	0.63	0.69	0.59	0.57	0.745714286
80%	0.98	1.13	1.14	1.15	1.17	0.97	0.98	1.074285714
70%	0.8	1.18	1.29	1.17	1.16	1.26	1.08	1.134285714
60%	1.37	1.38	1.35	1.38	1.44	1.37	1.47	1.394285714
50%	1.87	1.68	1.8	1.72	1.67	1.66	1.77	1.738571429
40%	2	1.8	1.7	1.89	1.8	1.85	1.79	1.832857143
30%	1.86	2.03	1.6	1.95	2.04	1.94	2.05	1.924285714
20%	2.12	2.1	2.04	2.13	1.98	1.96	2.2	2.075714286
10%	1.98	2.25	2.07	2.08	2.19	1.9	2.38	2.121428571
Control Negativo (Agua destilada)	2.4	2.28	2.58	2.56	2.56	2.31	2.46	2.45
Control Positivo (Clorhexidina)	0.46	0.2	0.11	0.21	0.1	0.25	0.11	0.205714286

ANEXO 5: MATRIZ DE DATOS (CRECIMIENTO DE COLONIAS)

Concentraciones de aceite esencial de muña	Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de <i>Enterococcus faecalis</i>				
	Número de placas	Viabilidad de Siembra 1		Viabilidad de Siembra 2	
		Presencia	n	Presencia	n
100%	Placa 1	UFC	0	UFC	0
90%	Placa 2	UFC	0	UFC	0
80%	Placa 3	UFC	0	UFC	0
70%	Placa 4	UFC	0	UFC	0
60%	Placa 5	UFC	0	UFC	0
50%	Placa 6	UFC	10	UFC	0
40%	Placa 7	UFC	0	UFC	20
30%	Placa 8	UFC	40	UFC	2
20%	Placa 9	UFC	60	UFC	40
10%	Placa 10	UFC	90	UFC	80
Control (+) Clorhexidina al 2%	Placa 11	UFC	0	UFC	0
Control (-) Agua destilada	Placa 12	UFC	Superior a 100	UFC	Superior a 100

ANEXO 4 GALERIA DE FOTOGRAFIAS

Obtención de plantas

Fotografía N°1: Muña (*Minthostachys mollis*)



Fotografía N°2: Secado de muña en superficie seca y limpia



Fotografía N°3 Equipo de extracción de aceite esenciales por destilación por arrastre con vapor de agua



Fotografía N°4: Pesado de planta



Fotografía N°5: Procedimiento de destilación por arrastre con vapor de agua





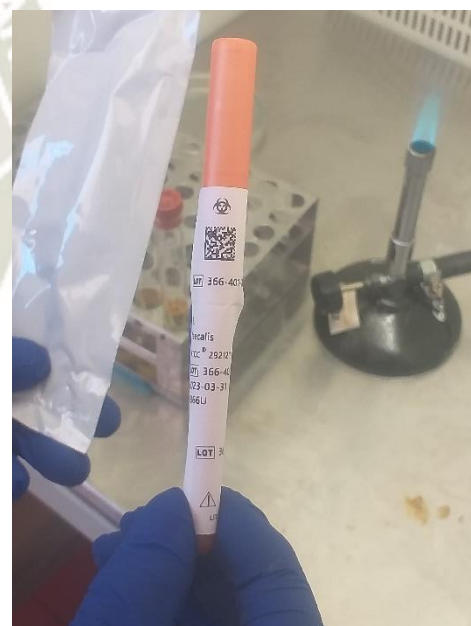
Fotografía N°6: Obtención aceite esencial de muña



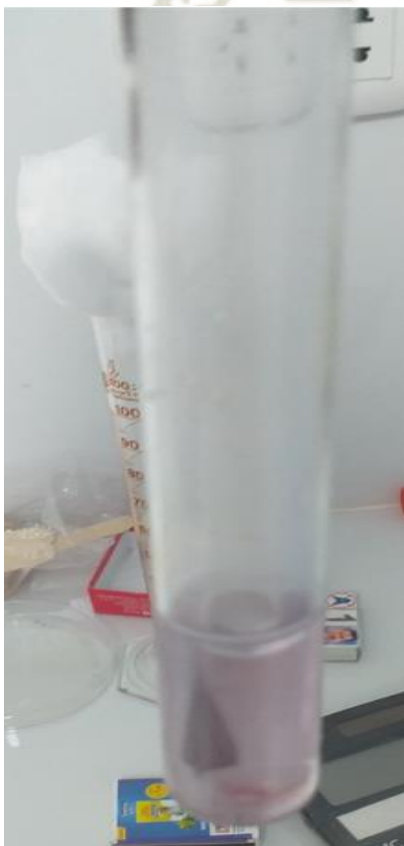
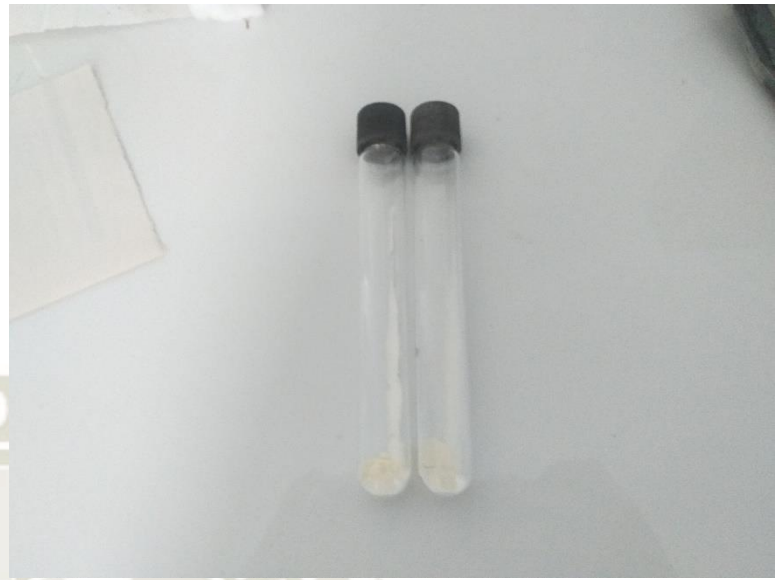
Fotografía N°7: Esterilización de placas Petri y caldo tioglicolato en autoclave



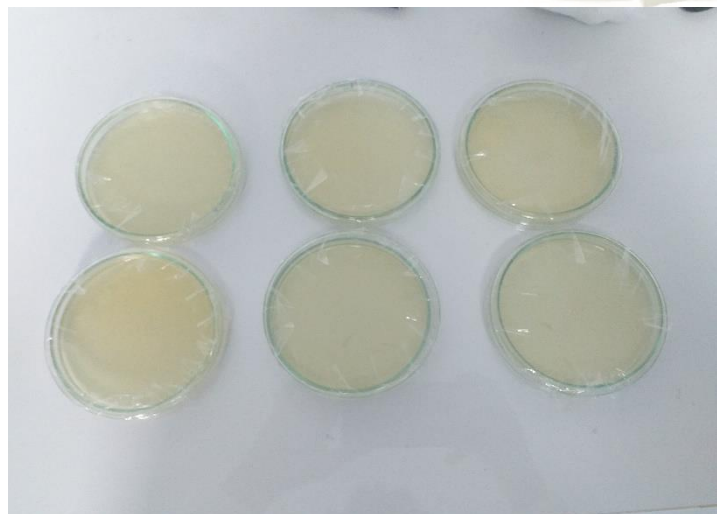
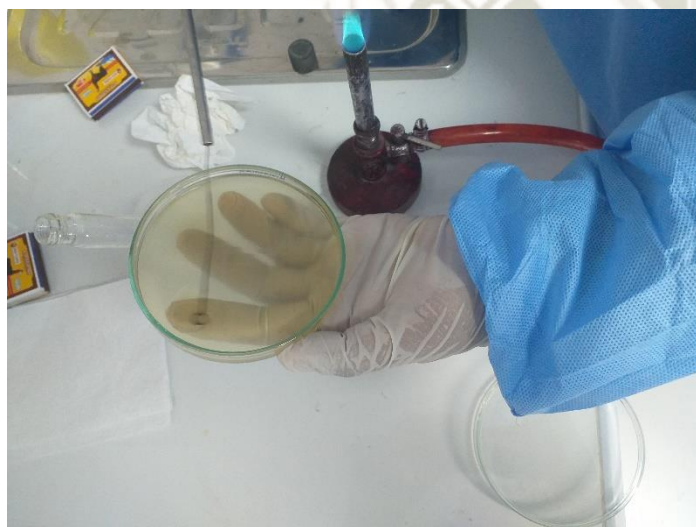
Fotografía N°8: Bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC29212 presentación en KWIK-STICK



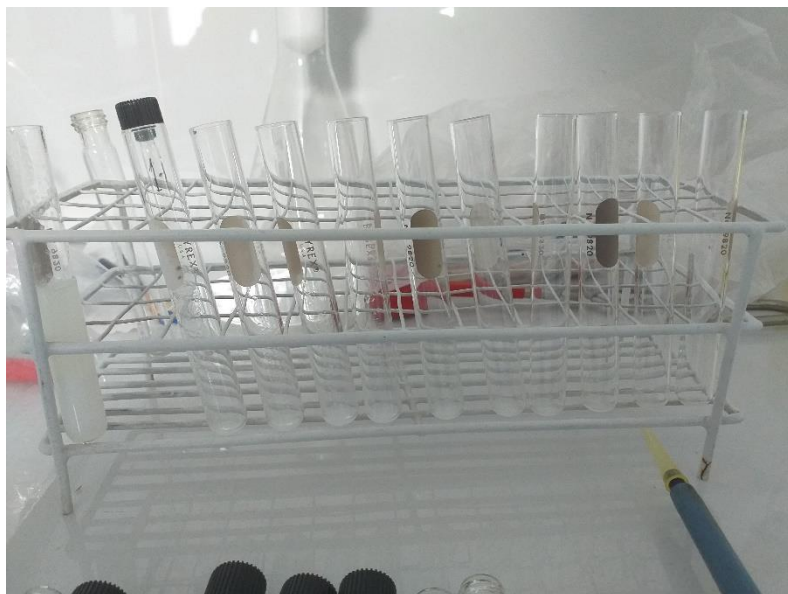
Fotografía N°9: Reactivación de cepa en caldo tioglicolato



Fotografía N°10: Sembrado de las bacterias sobre medio KF en placas Petri



Fotografía N°11: Preparación de Aceite de muña a diferentes concentraciones



Fotografía N°12: Inoculo a Escala de Mcfarland al estándar 0.5



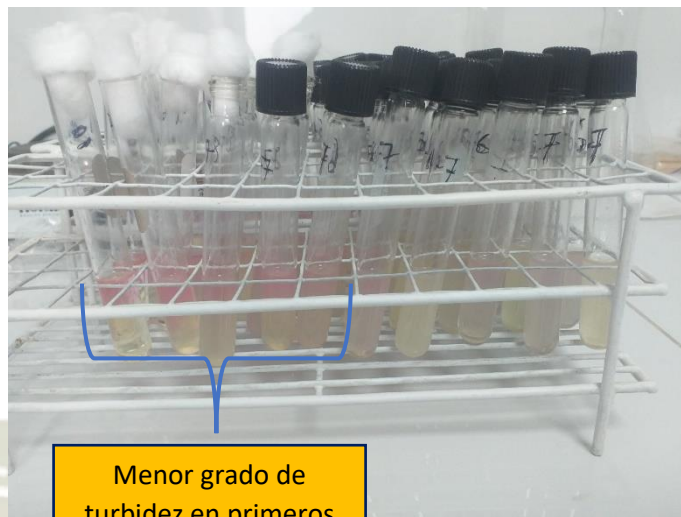
Fotografía N°13: Preparación de Método de Diluciones



Fotografía N°14: Preparación de Caldo tioglicolato

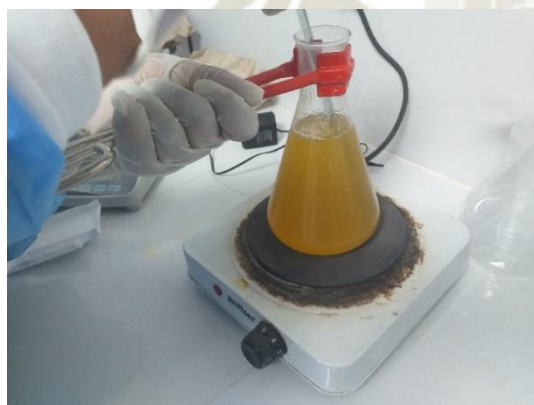
7 SERIES





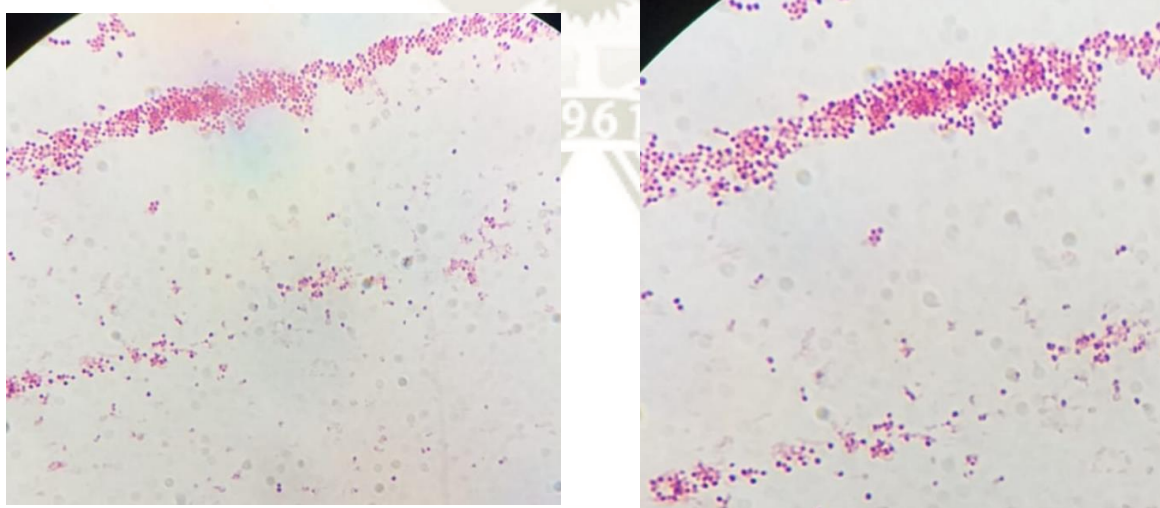
Menor grado de
turbidez en primeros
5 tubos hasta 60% de
Aceite de muña

Fotografía N°15: Pruebas de Viabilidad





Fotografía N°16: Tinción de Gram de *E. faecalis*



-Viabilidad al 100% de aceite



-Viabilidad al 90% de aceite



-Viabilidad al 80% de aceite



-Viabilidad al 70% de aceite



-Viabilidad al 60% de aceite



-Viabilidad al 50% de aceite



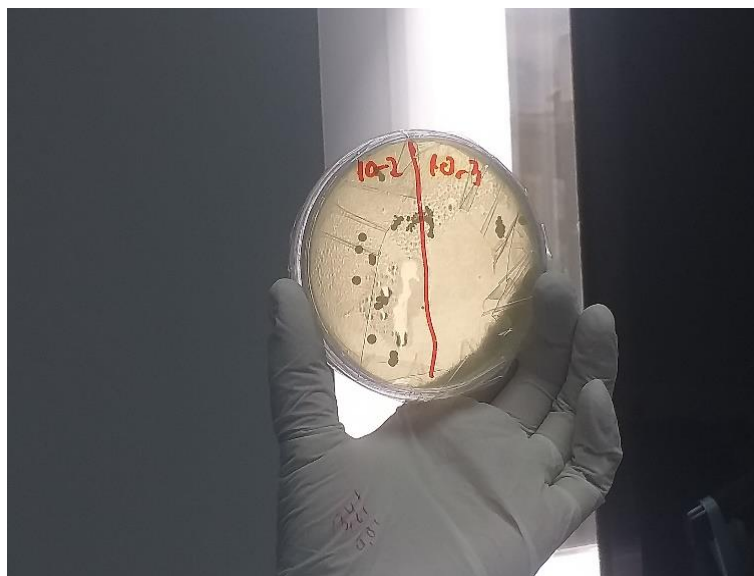
-Viabilidad al 40% de aceite



-Viabilidad al 30% de aceite



-Viabilidad al 20% de aceite



-Viabilidad al 10% de aceite



-Viabilidad control (+) y control (-)



-Viabilidad control (+) y (-)



