

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL *SYZYGIUM AROMATICUM*
“CLAVO DE OLOR” Y *ORIGANUM VULGARE* “ORÉGANO” FRENTE A
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175

AUTOR:

Bach. WILLIAM ALONSO ALBINES NIZAMA

ASESORA:

DRA. PRISCILA SCHREIBER CUEVA

COASESORA:

DRA. ELVA MANUELA MEJÍA DELGADO

Trujillo – Perú

2020

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y la oportunidad de cumplir con mis metas, darme fortaleza para no rendirme y por regalarme la familia y los amigos que tengo. **A la Virgen**, nuestra madre, por guiarme y protegerme en todo este camino, y los sueños que aún tengo por cumplir.

A mis padres, Edita y Segundo, quienes me enseñaron y forjaron con buenos valores y lo que me hace ser hoy un hombre de bien. **A mis hermanas**, por darme la fuerza y saber aconsejarme cuando lo necesité.

A mi familia, a mis abuelitos que siempre me desearon lo mejor, y con mucho cariño para mi abuelita Cila, a quien quiero mucho. **A mis amigos**, que más que amigos para mí son mis hermanos y sé que contaré con ellos siempre.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a la Virgen, por la vida, por brindarme salud a mí y mi familia, y permitirme culminar mi etapa universitaria de la mejor manera.

A mis padres, por darme un hogar lleno de amor y de valores, que con su trabajo y dedicación nos han podido dar todo lo necesario a mí y mis hermanas para poder sacarnos adelante. A mis hermanas Katia y Paola, que siempre me apoyaron en todo, y me enseñaron que la familia es un regalo de Dios.

Agradezco de manera muy especial a mi asesora, la Dra. Priscila Schreiber Cueva, por su tiempo, apoyo y disposición para ser mi guía en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Elva Mejía Delgado, por brindarme su tiempo, apoyo y disposición para ser mi guía durante la ejecución del proyecto.

A la Dra. Maria Espinoza Salcedo, por su apoyo y orientación durante la elaboración y culminación de esta investigación.

A mis mejores amigos, de Piura y de Trujillo, quienes me dieron su apoyo en los buenos y sobre todo en los malos momentos; como siempre les digo, para mí ellos son mi familia, los hermanos y hermanas de otra sangre que Dios puso en mi camino para la vida.

A los docentes y autoridades de esta prestigiosa universidad, por compartir sus conocimientos a lo largo de mi etapa universitaria, y de manera especial, agradezco a la Dra Paola Alvarado, por su apoyo, sus enseñanzas, y su amistad.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material y método: El presente estudio de corte transversal, comparativo, se realizó mediante el método de difusión en agar con disco de Kirby – Bauer para evaluar la sensibilidad bacteriana. Se obtuvieron aceites esenciales de orégano y clavo de olor de la empresa de aromaterapia Ekala, ambos a una concentración del 100%. Asimismo, se consiguió la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 del laboratorio GenLab del Perú Sac; donde cada cepa se cultivó en placas Petri en agar Müller Hinton y se colocaron discos de papel filtro embebidos con aceites esenciales de clavo de olor y orégano a una concentración del 100% cada una. Estos aceites esenciales fueron comparados con Gluconato de clorhexidina al 0.12% como grupo control. Posteriormente, se incubaron a 37° C por 24 horas, para luego realizar la medición del diámetro del halo de inhibición. Para la confiabilidad de este estudio, se utilizó el método estadístico Kappa. Para el análisis de resultados se empleó el programa estadístico SPSS versión 23 y Excel, para luego presentar los resultados en tablas y gráficos.

Resultados: Al evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observó que el halo de inhibición del *Syzygium aromaticum* (100%) tuvo un promedio de 20.09 mm \pm 1.87mm, mientras que el halo de inhibición del *Origanum vulgare* tuvo un promedio de 14.74 mm \pm 0.41.

Conclusiones: Se concluye que el mayor promedio fue del *Syzygium aromaticum* (100%) con un halo de 20.09mm y el menor promedio fue para el Gluconato de Clorhexidina (0,12%) con un halo de 10.63mm.

Palabras claves: Efecto antibacteriano, aceites esenciales, *syzygium aromaticum*, *origanum vulgare*, *Streptococcus mutans* ATCC 25175

ABSTRACT

Objective: To evaluate the in vitro antibacterial effect of *Syzygium aromaticum* "clove" and *Origanum vulgare* "oregano" against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material and method: This comparative cross-sectional study was carried out using the Kirby-Bauer disc agar diffusion method to evaluate bacterial sensitivity. Essential oils of oregano and clove were obtained from the aromatherapy company Ekala, both at a concentration of 100%. Likewise, the *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strain was obtained from the GenLab laboratory in Peru Sac; where each strain was grown in Petri dishes in Müller Hinton agar and filter paper discs embedded with essential oils of clove and oregano were placed at a concentration of 100% each. These essential oils were compared with 0.12% chlorhexidine gluconate as a control group. Subsequently, they were incubated at 37 ° C for 24 hours, and then measured the diameter of the inhibition halo. For the reliability of this study, the Kappa statistical method was used. For the analysis of results, the statistical program SPSS version 23 and Excel was used, to then present the results in tables and graphs.

Results: When evaluating the in vitro antibacterial effect of *Syzygium aromaticum* "clove" and *Origanum vulgare* "oregano" against *Streptococcus mutans* ATCC 25175, it was observed that the inhibition halo of *Syzygium aromaticum* (100%) had an average of 20.09 mm \pm 1.87 mm, while the *Origanum vulgare* inhibition halo averaged 14.74 mm \pm 0.41.

Conclusions: It is concluded that the highest average was *Syzygium aromaticum* (100%) with a halo of 20.09mm and the lowest average was for Chlorhexidine Gluconate (0.12%) with a halo of 10.63mm.

Keywords: Antibacterial effect, essential oils, *syzygium aromaticum*, *origanum vulgare*, *Streptococcus mutans*. ATCC 25175

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN	7
II.- METODOLOGÍA.....	11
III.- RESULTADOS	17
IV.- DISCUSIÓN	25
V.- CONCLUSIONES	30
VI.- RECOMENDACIONES.....	31
VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS.....	35

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

Actualmente, existen diversos problemas de salud pública en el Perú que requiere atención, por las consecuencias que pueden generarse y por la evidencia disponible de intervenciones costo efectivas; uno de estos problemas de salud pública, precisamente es la caries dental, considerada como una de las enfermedades prevenibles y que, además, es bastante común la presencia de esta en la etapa de la niñez; sin la intervención del odontólogo y del padre de familia, esta enfermedad puede progresar hasta que origine perdida y destrucción de las piezas afectadas.¹

La salud bucal en el Perú, es considerada un grave problema de salud pública, por tal motivo, es de vital importancia un abordaje integral de dicho problema, teniendo en cuenta medidas útiles de promoción y prevención de la salud bucal.²

El ministerio de salud (MINSA) indicó que el 90.4% de los peruanos tiene caries dental y el 85% tiene enfermedad periodontal, indicando que hábitos poco efectivos de higiene bucal, son la causa principal de estos principales problemas de salud pública. Se consideró necesario que se identifiquen factores de riesgo frecuentes como, predisposición genética, microorganismos patógenos y hábitos como el tabaquismo.³

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a la caries dental como el reblandecimiento de tejido duro de la pieza dentaria, que evoluciona hasta la formación de una cavidad, afectando no solo la salud general sino también la calidad de vida de los individuos.⁴

1.2. Marco teórico

La caries dental sigue siendo la enfermedad infecciosa oral más prevalente y costosa en el mundo, representando un problema de salud pública mundial.⁵ En conjunto con otras enfermedades periodontales, está asociada con bacterias acidogénicas y acidúricas que se adhieren a la superficie del diente como un biofilm (placa dental)⁶ comprometiendo la estructura y función de los dientes.⁷ La especie bacteriana, *Streptococcus mutans*, se destaca por ser el principal agente asociado a la caries dental, debido a sus propiedades que le permiten adaptarse y sobrevivir a los cambios ambientales⁸, así como sintetizar polisacáridos extracelulares y fermentar azúcares.⁹

El control del desarrollo del biofilm dental puede prevenir las enfermedades periodontales, pero la progresión de la resistencia a los antibióticos, aumenta la gravedad de estas patologías.¹⁰ Dado que la resistencia bacteriana se ha convertido en un grave problema en el mundo, es necesario buscar nuevos principios activos que puedan mejorar la eficacia del tratamiento de las infecciones bacterianas.¹¹

Existe una tendencia de nuevas alternativas antimicrobianas de productos naturales, es decir, plantas medicinales, cuyas propiedades son una alternativa efectiva frente a los antibióticos, representando un enfoque prometedor en la prevención de caries dental y otras infecciones orales.¹²

Los productos naturales son más efectivos y muestran menos efectos secundarios en comparación con los antibióticos comerciales, es por eso que se utilizan como un remedio alternativo para el tratamiento de diversas infecciones.¹³ El auge de la medicina herbal ha despertado el interés en los efectos de los extractos de plantas para el control de la placa y otras enfermedades orales.¹⁴ Muchas hierbas ejercen actividad antimicrobiana debido a sus fracciones de aceites esenciales.¹⁵ Los aceites esenciales son mezclas naturales volátiles extraídas de diferentes partes de la planta (flores, brotes, semillas, hojas, ramitas, corteza, hierbas, madera, frutas y raíces).¹⁶

Dentro de las plantas que poseen propiedades terapéuticas y que se utilizan en fitoterapia (terapia complementaria en la que se maneja y utiliza plantas o partes de las mismas con fines terapéuticos) tenemos al orégano (*Origanum vulgare*) y al clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).¹⁷

El orégano, es una planta cultivada en la sierra y en zonas altoandinas del Perú y Argentina.¹⁸ Al menos 61 especies y 17 géneros que pertenecen a seis familias botánicas diferentes se conocen como orégano; Verbenaceae y Lamiaceae son las familias más representativas debido a su importancia económica.¹⁹ Sus aceites esenciales son considerados productos secundarios del metabolismo²⁰ y han demostrado una buena actividad bactericida y fungicida contra diferentes patógenos.²¹

Así mismo, el *Syzygium aromaticum*, comúnmente conocido como clavo de olor, es un árbol de la familia Mirtaceae oriunda de las islas Maluku.²² El aceite de clavo de olor es medicinal²³ y muestra actividad antimicrobiana contra patógenos orales que se asocian a caries dental y enfermedad periodontal.²⁴

La combinación de agentes antibacterianos es una estrategia prometedora contra las infecciones orales, permitiendo aumentar la inhibición del biofilm y reduciendo el riesgo de resistencia antibacteriana; entre varios agentes antibacterianos, la clorhexidina se considera el "estándar de oro" de los antisépticos orales.²⁵

El gluconato de clorhexidina, comúnmente utilizado, es un agente de amplio espectro, ya que presenta actividad inhibitoria y letal para las bacterias grampositivas y gramnegativas.²⁶ Sin embargo, se muestran limitaciones con respecto a esta sustancia puesto que su uso podría producir tinción dentaria, de tejidos blandos o de restauraciones; así mismo podría producirse sabor desagradable, sensación de ardor e irritación.²⁷

Swadas y col.²⁸ (2016-India) evaluaron y compararon la actividad antibacteriana del extracto de semillas de uva a diferentes concentraciones con gluconato de clorhexidina frente a *Streptococcus mutans*; concluyeron

que la clorhexidina tiene la acción antibacteriana más potente frente al *Streptococcus mutans* en comparación con todas las diferentes concentraciones de extracto de semilla de uva.

Besra y Kumar²⁹ (2017-India) estudiaron la actividad antimicrobiana de extractos y aceites de plantas medicinales contra patógenos de la caries dental, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*; donde concluyeron que el aceite esencial de brote de *Syzygium aromaticum* fue el más activo contra *S. mutans*.

Vilca³⁰ (2017-Perú) observó el efecto antibacteriano in vitro de tres concentraciones de aceite esencial de *Origanum vulgare* de Otuzco sobre *Streptococcus mutans*, concluyendo que el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% posee mayor efecto antibacteriano in vitro sobre *S. mutans*, en comparación con las concentraciones de 10% y 25%.

El odontólogo del siglo XXI debe tener conocimiento que la caries dental es una de las enfermedades más prevalentes en nuestra población y que afecta la calidad de vida de los individuos; además, el auge de las plantas medicinales con propiedades antibacterianas y antifúngicas pueden prevenir y ser el tratamiento de las enfermedades más comunes de la cavidad oral. Así mismo, elaborar fármacos naturales cuya composición contenga químicos propios de dichas plantas generando una variedad de productos farmacéuticos de origen natural, permitiendo también que las poblaciones de bajos recursos puedan acceder a los productos con un menor costo para el tratamiento de estos microorganismos.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con la finalidad de encontrar nuevas alternativas, en base a recursos de la flora peruana, para desarrollar productos que puedan prevenir infecciones del tipo bacteriano.

1.3. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del *syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.4. Hipótesis

El aceite esencial de *syzygium aromaticum* y el aceite de *origanum vulgare* inhiben el crecimiento bacteriano in vitro del *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.5. Objetivos de la investigación

1.5.1 General

Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175

1.5.2 Específicos

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” al 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* “orégano” al 100% frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina al 0.12% frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, como grupo control.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con el grupo control de gluconato de clorhexidina al 0.12%.

1.6. Variables

VARIABLES		DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CLASIFICACIÓN POR SU NATURALEZA	CLASIFICACIÓN POR SU FUNCIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN
AGENTES ANTIBACTERIANOS	<i>SYZYGIUM AROMATICUM</i>	Comúnmente llamado clavo de olor, pertenece a la familia Myrtaceae, se considera una planta medicinal importante ³¹ con actividades antibacterianas, antifúngicas y antivirales. ³²	Aceite esencial de clavo obtenido por arrastre de vapor de agua al 100%	Cualitativa	Independiente	Nominal
	<i>ORIGANUM VULGARE</i>	Orégano es la especie más variable del género <i>Origanum</i> , se caracteriza por una gran diversidad morfológica y química. ³³ Tiene propiedades antifúngicas, antiparasitarias, antibacterianas y antioxidantes. ³⁴	Aceite esencial de orégano obtenido por arrastre de vapor de agua al 100%	Cualitativa	Independiente	Nominal
	GLUCONATO DE CLORHEXIDINA	Agente químico estándar de control de placa, con amplia actividad bacteriana, muy baja toxicidad y fuerte afinidad por el tejido epitelial y las membranas mucosas. ³⁵	Colutorio bucal al 0.12% será utilizado como grupo control.	Cualitativa	Independiente	Nominal
EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA SOBRE <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i> ATCC 25175		Capacidad de un agente para eliminar o inhibir el crecimiento bacteriano que se desarrollan en un medio dado. ³⁶	Se medirá según la susceptibilidad de los halos de inhibición mediante la escala de Duraffourd diámetro mm.	Cuantitativa	Dependiente	Razón

II. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

Número de mediciones	Número de grupos a estudiar	Tiempo en el que ocurrió el fenómeno a estudiar	Forma de recolectar los datos	Posibilidad de intervención del investigador
Transversal	Comparativo	Prospectivo	Prolectivo	Experimental

2.2. Área de estudio

La presente investigación fue realizada en los ambientes de laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.3. Definición de la población muestral

La población estuvo constituida por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

2.3.1. Características generales

2.3.1.1. Criterios de inclusión

- Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Aceite esencial de *Syzygium Aromaticum* (clavo de olor) al 100%.
- Aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%.
- Placas Petri con Agar Müller Hinton con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, gluconato de clorhexidina y aceites esenciales de *Syzygium Aromaticum* y *Origanum vulgare* a la concentración correspondiente.

2.3.1.2. Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que no pertenezcan al grupo Viridans.

- Placas petri con Agar Müller Hinton contaminadas, fracturadas, o algún tipo de daño durante el proceso de incubación.
- Placas Petri con Agar Müller Hinton cuyo resultado en el proceso de incubación sea dudoso.

2.3.2. Diseño estadístico de muestreo

2.3.2.1. Unidad de Análisis

La unidad de análisis estuvo constituida por cada una de las placas Petri conteniendo siembras de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y los respectivos de agentes antibacterianos por grupos: el aceite esencial de *Syzygium Aromaticum* al 100%, el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, gluconato de clorhexidina al 0.12% como grupo control.

2.3.2.2. Unidad de muestreo

La unidad de análisis estuvo constituida por cada una de las placas Petri conteniendo siembras de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y los respectivos de agentes antibacterianos por grupos: el aceite esencial de *Syzygium Aromaticum* al 100%, el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100%, gluconato de clorhexidina al 0.12% como grupo control.

2.3.2.3. Tamaño muestral

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso de un estudio previo³⁷, empleándose la siguiente fórmula de comparación de medias:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Donde:

n= número de discos.

Z α = Riesgo de 0.05= 1.645

Z β = Poder estadístico de 80%= 0.842

S²= Valor del grupo de referencia ³⁷ = (0.29)²

d²= Valor mínimo de diferencia ³⁷ = (0.31)²

Se obtuvo:

$$n = \frac{2 * (1.645 + 0.842)^2 * 0.29^2}{0.31^2}$$

$$n = 10.83 = 11 \text{ discos por grupo}$$

La muestra estuvo conformada por 33 discos, los cuales fueron seleccionados a conveniencia y divididos en 3 grupos: 11 discos para el grupo de *Syzygium aromaticum*, 11 discos para el grupo de *Origanum vulgare* y 11 discos para el grupo control de Gluconato de clorhexidina al 0.12%, los cuales debían cumplir con los criterios de inclusión.

2.3.3. Método de selección:

No probabilístico - Por conveniencia del investigador.

2.4. Técnicas e instrumentos de investigación

2.4.1. Método: Observación y medición

2.4.2. Descripción del Procedimiento

A. De la aprobación del proyecto

El primer paso para la realización de la presente investigación fue solicitar el permiso para su ejecución, mediante la aprobación e inscripción del proyecto por parte de la Unidad de Investigación de la Escuela de Estomatología de la Universidad Privada Antenor Orrego con la correspondiente Resolución Decanal. (Anexo 1)

B. De la autorización para la ejecución

Una vez aprobado el proyecto se procedió a solicitar permiso al coordinador/a del curso de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional para contar con su apoyo y acceso a los ambientes de laboratorio durante el tiempo que se realizó el proyecto. (Anexo 2)

C. De la calibración del investigador

Para dar mayor validez y confiabilidad a la presente investigación, se realizó una prueba intraevaluador, donde el investigador se entrenó y calibró de la mano con un experto en el tema (Microbiólogo) en la inspección visual de la placa Petri y medición del halo de inhibición. Los resultados obtenidos, fueron sometidos a un método estadístico de Kappa Cohen. (Anexo 3)

D. Instrumento

Se empleó una ficha de recolección de datos elaborada por el investigador, donde se registró la medida del halo de inhibición que se obtuvo por medio de una regla milimetrada, de cada una de las 11 muestras, por cada grupo a evaluar (3 grupos) que, a la vez, estuvieron debidamente clasificados. (Anexo 4)

E. Recolección de la muestra

1. Obtención de los aceites esenciales

Los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Syzygium aromaticum* se obtuvieron del laboratorio de aromaterapia, Ekala, de la ciudad de Lima, transportados mediante un servicio de encomiendas a la ciudad de Trujillo, y entregados al mismo investigador en óptimas condiciones con el objetivo de mantener sus propiedades físicas y químicas. Así mismo, el laboratorio de aromaterapia nos proporcionó un certificado de análisis de ambos aceites, con las características y propiedades de los mismos. (Anexo 5)

2. Obtención de la cepa

Las cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron obtenidos del laboratorio GenLab del Perú Sac del departamento de Lima, transportadas mediante un servicio de encomiendas a la ciudad de Trujillo, y entregadas al investigador. Posteriormente fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de medicina de la UNT para realizar los procedimientos necesarios para su mantenimiento de la mano con la microbióloga a cargo.

3. Preparación de la cepa

Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se cultivaron en tubos de ensayos conteniendo el medio Soya tripticasa e incubadas en condiciones de microanaerobiosis a 37°C con el objetivo de obtener colonias jóvenes. Después de 24 horas, se procedió a sembrar en medio tioglicolato, con el fin de obtener una turbidez similar al tubo número 0.5 de la Escala de Marc Farland. Los tubos, cuyo contenido tenían a la bacteria estudiada, fueron girados entre las manos durante 30 segundos antes de proceder con el sembrado, para distribuir los microorganismos de forma adecuada.

4. Inoculación de Placas

Después de haber hecho el ajuste de la turbidez del inocuo, se realizó la siembra de la bacteria en placas con Agar Müller Hinton, para ello se sumergió un hisopo estéril en el inocuo ajustado, embebiéndolo completamente y haciendo movimientos rotatorios, antes de retirarlo se presionó con las paredes el tubo para retirar el exceso del líquido del hisopo. Luego se sembró la placa de agar Müller Hinton con el hisopo, de tal forma que el hisopo debió estriar toda la superficie de la

placa de forma paralela y rotando la placa aproximadamente 60°.

5. Prueba de la susceptibilidad

Se clasificó el diámetro de los halos de inhibición teniendo en cuenta la escala de Duraffourd, utilizada para determinar el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición:

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

Para ello se preparó las 3 soluciones correspondientes a los 3 grupos. Cada placa Petri estuvo rotulada con el nombre al grupo perteneciente, de la misma manera, se rotuló en la placa Petri, cada disco de papel filtro del 1 al 11 para evitar confusiones a la hora de medir el halo de inhibición.

Se empleó la técnica de difusión (Kirby y Bauer) en disco de papel filtro. Previamente, estos discos fueron colocados en 3 frascos estériles correspondientes a cada grupo; luego utilizando jeringas de tuberculina, se colocó 0.5mm de cada sustancia (clavo de olor, orégano y clorhexidina) por un tiempo aprox. de 30 minutos, de tal forma que, los discos de papel quedaron sumergidos dentro de cada aceite esencial y grupo control. Fueron 11 discos por cada grupo. Después se procedió a colocarlos en las placas Petri preparadas con cultivos de *Streptococcus mutans ATCC 25175*.

Todo el procedimiento se realizó en un diámetro de 10cm de la llama de un mechero. Posteriormente, para incubar las placas, se necesitó una jarra de Gas-Pack (con el método de la vela) y se incubaron a 37°C en microanaerobiosis.

La lectura se realizó a las 48 horas de incubadas las placas. Se midió con una regla pie de rey el halo de inhibición de cada

uno de los grupos, luego se clasificaron teniendo en cuenta la escala de duraffourd.

2.5. Procesamientos y análisis de datos

Los datos recolectados fueron procesados en el programa estadístico SPSS versión 23 y Excel; los resultados fueron presentados en tablas y gráficos de acuerdo a los objetivos planteados, además se añadieron frecuencias y porcentuales. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba estadística t-student para comparar dos grupos, y ANOVA para comparar más de dos grupos, considerándose un nivel de significancia del 5%.

2.6. Consideraciones éticas

Para la ejecución de la presente investigación, se contó con la autorización de la Facultad de Medicina, además, se siguen los principios de la Declaración de Helsinki, adoptada por la 18° Asamblea Médica Mundial (Helsinki, 1964), revisada por la 29° Asamblea Médica Mundial (Helsinki, 1964) y modificada en Fortaleza - Brasil, Octubre 2013, teniendo en cuenta principios de bioseguridad, prestando atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

III. RESULTADOS

3.1. Del estudio

En el presente estudio sobre efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observó lo siguiente:

Al evaluar el efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observó que el halo de inhibición del *Syzygium aromaticum* (100%) tuvo un promedio de 20.09 mm \pm 1.87mm, mientras que halo de inhibición del *Origanum vulgare* tuvo un promedio de 14.74 mm \pm 0.41. Así mismo, al comparar estos grupos se observó que existe diferencia significativa ($p=0.000$). (Tabla 1)

Tabla 1. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Tratamiento	N	Promedio	Desviación Estándar	t-student	P
<i>Syzygium aromaticum</i> (100%)	11	20.09	1.87	8.891	0.000
<i>Origanum vulgare</i> (100%)	11	14.74	0.41		

Los valores obtenidos en los halos de inhibición utilizando *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fueron en el rango de > 20 mm el 55% (6 muestras), seguido del rango de 14 a 20 mm con 45% (5 muestras); mientras que en el rango < 8mm y el de 8 a 14mm fue 0%. (Tabla 2 y figura 1)

Tabla 2. Porcentaje del efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Rango de Diámetro	Frecuencia	Porcentaje
Nula (-): < 8 mm	0	0%
Sensibilidad límite (sensible +): 8 a 14 mm	0	0%
Medio (muy sensible ++): 14 a 20 mm	5	45%
Sumamente sensible (+++): > 20 mm	6	55%
Total	11	100%

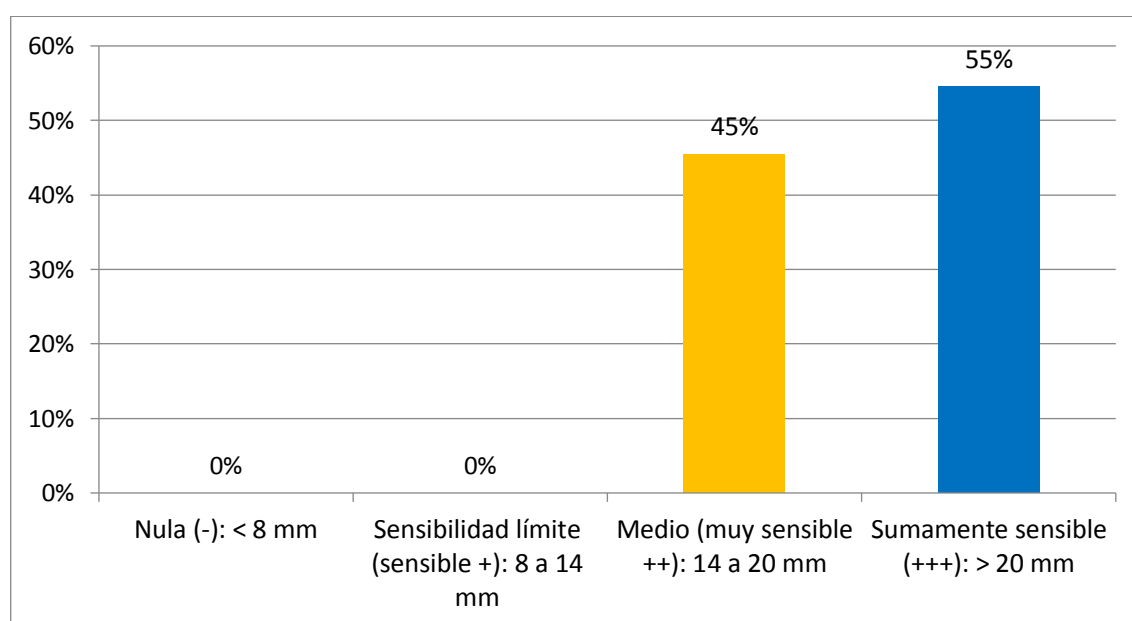


Figura 1. Efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

También evaluamos los valores en los diámetros de los halos de inhibición utilizando *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, siendo el 100% en el rango de 14 a 20 mm. (Tabla 3 y figura 2)

Tabla 3. Porcentaje del efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Rango de Diámetro	Frecuencia	Porcentaje
Nula (-): < 8 mm	0	0%
Sensibilidad límite (sensible +): 8 a 14 mm	0	0%
Medio (muy sensible ++): 14 a 20 mm	11	100%
Sumamente sensible (+++): > 20 mm	0	0%
Total	11	100%

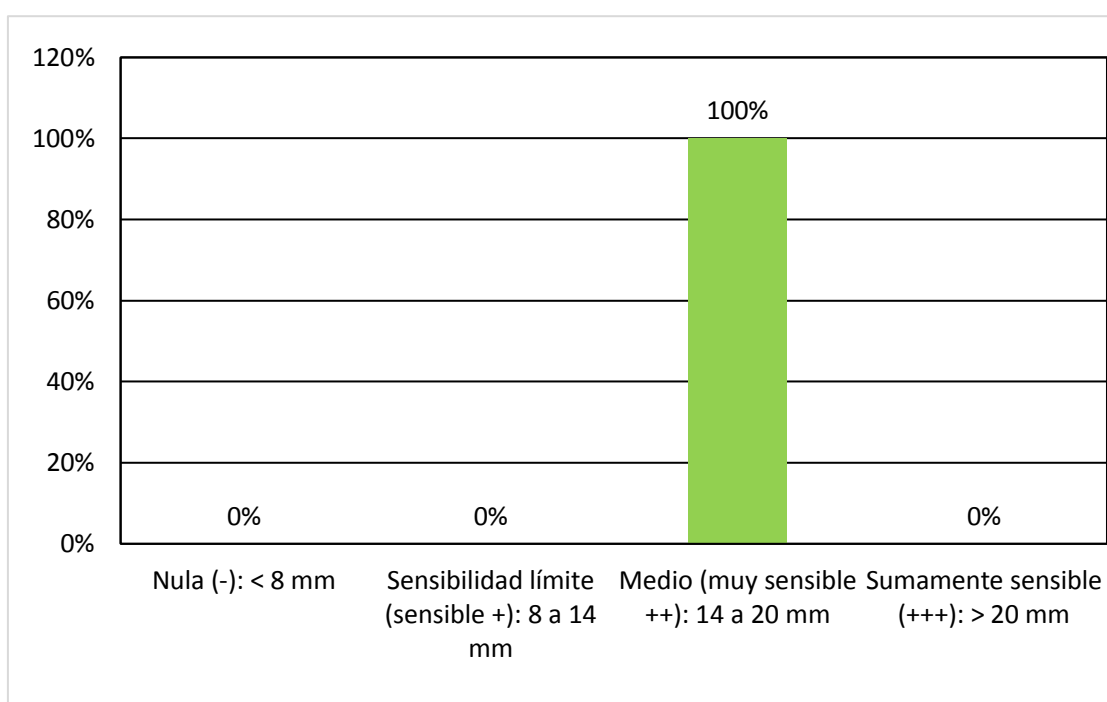


Figura 2. Efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Al evaluar el efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observó que el diámetro del halo de inhibición de las muestras de este grupo control tuvo un promedio de 10.63 mm ± 1.59mm. (Tabla 4)

Los halos de inhibición utilizando Gluconato de Clorhexidina (0.12%) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estuvieron en el rango de 8 a 14 mm con 91% (10 muestras) encontrando un promedio 10.63mm, seguido del rango de 14 a 20 mm con 9% (1 muestra); mientras que, en el rango < 8mm y > 20 mm no se encontraron halos de inhibición (Tabla 4 y figura 3)

Tabla 4. Porcentaje del efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, como grupo control.

Rango de Diámetro	Gluconato de Clorhexidina (0.12%)	
	Frecuencia	Porcentaje
Nula (-): < 8 mm	0	0%
Sensibilidad límite (sensible +): 8 a 14 mm	10	91%
Medio (muy sensible ++): 14 a 20 mm	1	9%
Sumamente sensible (+++): > 20 mm	0	0%
Total	11	100%

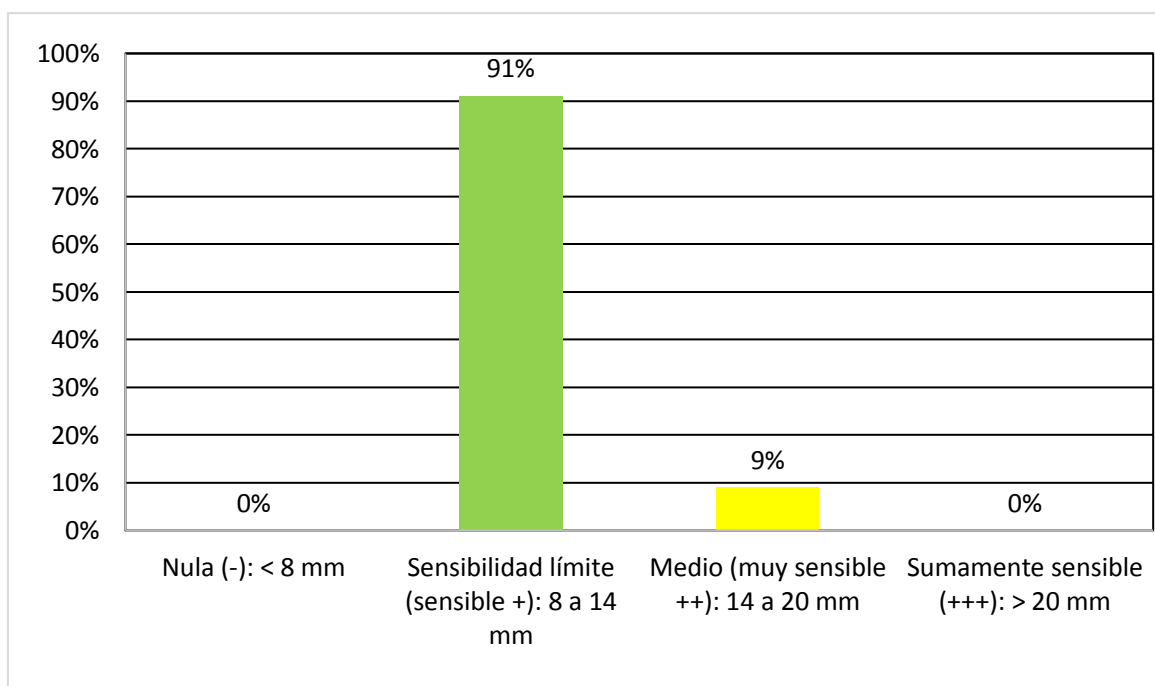


Figura 3. Efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, como grupo control.

Al comparar los 3 grupos de estudio, se obtuvo que el promedio de halo de inhibición fue mayor en el grupo de *Syzygium aromaticum* (100%) con un valor de 20.09mm y el menor promedio fue para el grupo de Gluconato de Clorhexidina (0,12%) con 10.63mm; existiendo diferencia estadísticamente significativa $p=0.000$ mediante la prueba estadística ANOVA. (Tabla 5)

Tabla 5. Comparación del efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con el grupo control.

Tratamiento	N	Promedio	Desviación Estándar	F (ANOVA)	P
<i>Syzygium aromaticum</i> (100%)	11	20.09	1.87	255.084	0.000
<i>Origanum vulgare</i> (100%)	11	14.74	0.41		
Gluconato de Clorhexidina (0.12%)	11	10.63	1.59		

IV. DISCUSIÓN

Actualmente en Odontología, existe una tendencia de búsqueda a nuevas alternativas antimicrobianas de productos naturales, es decir; plantas medicinales, cuyas propiedades son una alternativa efectiva frente a la resistencia a los antibióticos, representando un enfoque prometedor en la prevención de caries dental y otras infecciones orales.¹² Específicamente, esta tendencia se basa en el estudio de aceites esenciales extraídos de una gran variedad de plantas alrededor del mundo y pueden ser considerados fuentes prometedoras de moléculas bioactivas efectivas contra microorganismos relacionados con caries dental, particularmente con *Streptococcus mutans*.⁵

En el presente estudio de tipo experimental, tiene como finalidad evaluar el efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *syzygium aromaticum* “clavo de olor” al 100% y de *origanum vulgare* “orégano” al 100%, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y compararlos con el efecto antibacteriano del gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Para determinar el tamaño de la muestra, se empleó la fórmula de comparación de medidas, obteniendo un tamaño muestral de 33 discos (11 discos por cada grupo), además, se hizo uso de estudios previos como: Vilca³⁰, Lara L³⁷, siendo el tamaño de su muestra similar a la utilizada en este estudio.

De acuerdo con el objetivo general y los resultados obtenidos en este estudio, al evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observa que el mayor halo de inhibición lo tuvo el *Syzygium aromaticum* (100%) con un promedio de 20.09 mm \pm 1.87mm; a diferencia del *Origanum vulgare* (100%) que presenta un promedio de 14.74 mm \pm 0.41; por consiguiente, al comparar estos grupos se observó que existe diferencia estadísticamente significativa (p=0.000).

Así mismo, al determinar el efecto antibacteriano de Gluconato de clorhexidina (0.12%) como grupo control frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obtenemos el halo de inhibición cuyo promedio es de 10.63 mm \pm 1.59mm; de tal manera que, al comparar los 3 grupos de estudio, se obtiene una diferencia estadísticamente significativa de p=0.000.

Esto comprueba que el aceite esencial de *syzygium aromaticum* y el aceite de *origanum vulgare* inhiben el crecimiento bacteriano in vitro del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, sin embargo, cabe destacar que el mayor halo de inhibición lo tuvo el aceite esencial de *syzygium aromaticum* (clavo de olor).

Estos resultados son comparables con el propuesto por Chaudhari L et al.³⁹, quienes evaluaron y compararon in vitro la actividad antibacteriana de nueve aceites esenciales comerciales, entre ellos el *syzygium aromaticum*, contra la bacteria *Streptococcus mutans*, concluyendo que el aceite de clavo exhibía propiedades antibacterianas contra la misma.

Así mismo, en el estudio de Besra y Kumar²⁹, quienes estudiaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de clavo de olor y el extracto de su principal activo, el eugenol, y los compararon frente a cepas de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*; concluyeron que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* fue el más activo, mostrando una fuerte actividad inhibitoria de 16.3 ± 0.57 mm contra el *Streptococcus mutans*. De la misma manera, estos resultados mantienen relación con el estudio de Mandava K et al.³⁸, quienes evaluaron el efecto anticaries a nivel molecular del aceite de *syzygium aromaticum* y otras plantas medicinales contra *Streptococcus mutans* y glucosiltransferasas, donde concluyeron que el aceite de *syzygium aromaticum* (clavo) mostró una inhibición superior al de la clorhexidina.

Por otro lado, en el estudio propuesto por Vilca³⁰, cuyo objetivo fue comparar in vitro el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 10%; 25% y 50% con Gluconato de clorhexidina al 0.12%, como grupo control, frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, concluye que el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% tiene mejor efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans*, en comparación con las concentraciones de 10% y 25%. Además, determina que el aceite esencial de *Origanum vulgare* en todas sus concentraciones, presentó mayor efecto antibacteriano que el digluconato de clorhexidina al 0.12%; muy similar a este estudio, ya que, el aceite esencial de *Origanum vulgare* tuvo un promedio de 12.15mm para la concentración de 10%, 16.38mm para la concentración de 25% y 20.00mm para la concentración de 50%, mientras que para la Clorhexidina su promedio fue de 10.15mm al 100%.

De igual manera, en el estudio in vitro de Lara L³⁷, donde determinó el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% y 100% sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mostrando que el aceite esencial de *Origanum vulgare* al 100% tiene una mayor acción antibacteriana (halo promedio de 27.5mm), frente a la concentración de 50% (halo promedio de 10mm) y a la clorhexidina al 0,12 % (halo promedio de 14.8mm) sobre *Streptococcus mutans*. En comparación con este estudio, existe diferencia respecto al promedio del halo de inhibición, ya que el *Origanum vulgare* al 100% del presente trabajo tiene un halo promedio de 14.74mm, mientras que el halo de la clorhexidina al 0.12% tuvo un halo promedio de 10.63mm; sin embargo, ambos estudios comparten el mismo resultado favorable del aceite esencial frente a la clorhexidina.

V. CONCLUSIONES

- El efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente al *Streptococcus mutans* ATCC 2517 fue significativo estadísticamente, donde el mayor halo de inhibición fue del *Syzygium aromaticum* con 20.09mm.
- El efecto antibacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue mayor en el rango de > 20 mm con 55% (6 muestras), seguido del rango de 14 a 20 mm con 45% (5 muestras), distribuyéndose todo el grupo en estos rangos altos de inhibición bacteriana.
- En cuanto al efecto antibacteriano in vitro del *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se observa al 100% del grupo en el rango de 14 a 20 mm.
- El efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175, está en el rango de 8 a 14 mm con 91% (10 muestras), seguido del rango de 14 a 20 mm con 9% (1 muestra); mientras que en el rango < 8mm y > 20 mm no se encontraron halos de inhibición.
- Al comparar el efecto bacteriano in vitro del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con el grupo control de gluconato de clorhexidina al 0.12%, se concluye que el mayor promedio fue *Syzygium aromaticum* (100%) con un halo de 20.09mm y el menor promedio fue para el Gluconato de Clorhexidina (0,12%) con un halo de 10.63mm, determinándose una diferencia altamente significativa.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios que determinen la posibilidad del uso de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” en colutorios bucales y/o pastas dentales con fines anticariogénicos.
- Realizar estudios que comparen el efecto antibacteriano del *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a otras bacterias periodontopatógenas de mayor relevancia.
- Realizar estudios donde se evalué el efecto sinérgico de los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” y *Origanum vulgare* “orégano” con el aceite esencial de diferentes plantas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández A, Vilcarrromero S y Rubilar J. Desatención a la salud oral infantil como un problema de salud pública en el Perú. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública* [Internet]. 2015 Jul [citado 2019 Oct 24]; 32(3): 604-605. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342015000300029&Ing=es
2. Ministerio de Salud. Salud Bucal [Internet]. Perú: MINSA; 2019. [Consultado el 25 Oct de 2019]. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=13
3. Andina Agencia Peruana de Noticias. Minsa: el 90.4% de los peruanos tiene caries dental [Internet]. Perú: [Publicado el 09 de Jul de 2019; consultado el 25 de Oct de 2019]. Disponible en: <https://andina.pe/agencia/noticia-minsa-904-de-peruanos-tiene-caries-dental-758078.aspx>
4. Espinoza M y León R. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. *Rev. Estomatol. Herediana* [Internet]. 2015 Jul [citado 2019 Oct 24]; 25(3): 187-193. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552015000300003&Ing=es
5. Freires I y col. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. *Molecules*. 2015 Apr 22;20(4):7329-58. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25911964>
6. Bardají D y col. Antibacterial activity of commercially available plant-derived essential oils against oral pathogenic bacteria. *Nat Prod Res*. 2016;30(10):1178-81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26165725>
7. Azizan N y col. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Orthosiphon stamineus* Benth and *Ficus deltoidea* Jack against Pathogenic Oral Bacteria. *Molecules*. 2017 Dec 5;22(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29206142>

8. Tofiño A y col. Effect of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* essential oils on biofilms of *Streptococcus mutans* and cytotoxicity in CHO cells. *J Ethnopharmacol.* 2016 Dec 24; 194:749-754. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27765606>
9. Panpaliya N y col. In vitro evaluation of antimicrobial property of silver nanoparticles and chlorhexidine against five different oral pathogenic bacteria. *Saudi Dent J.* 2019 Jan;31(1):76-83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30723364>
10. Tardugno R y col. Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria. *Nat Prod Res.* 2018 Mar;32(5):544-551. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28514868>
11. Hassan S y col. Antibacterial activity of natural compounds - essential oils. *Ceska Slov Farm.* 2015 Dec;64(6):243-53. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26841699>
12. Pimentel E y col. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en la tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev. Estomatol. Herediana [Internet].* 2015 Oct [citado 2019 Nov 25]; 25(4): 268-277. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552015000400004&lng=es.
13. Kshirsagar M y col. Antibacterial activity of garlic extract on cariogenic bacteria: An in vitro study. *Ayu.* 2018 Jul-Sep;39(3):165-168. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454914/>
14. Lobo P y col. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: a randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine.* 2014 Jul-Aug;21(8-9):1043-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24863037>

15. Thosar N y col. Antimicrobial efficacy of five essential oils against oral pathogens: An in vitro study. *Eur J Dent.* 2013 Sep; 7(Suppl 1): S71–S77. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4054083/>
16. Seow Y y col. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(5):625-44. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24261536>
17. Schovelin A y Muñoz M. Antibacterial Effect of Oregano Infusion (*Origanum vulgare*) on in Vitro Growth of *Streptococcus mutans*. *Int. J. Odontostomat.* 2018 Dic;12(4):337-42. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2018000400337&script=sci_arttext&tlng=en&fbclid=IwAR3OqNLI5RTPs5ufpJJl1BEqB_80DwztCK2FyG6g5Uz4Hnma6lDi7vBSn2c
18. Benavides L y col. Efecto antibacteriano del *origanum vulgare* frente a la microflora de la placa subgingival. *Rev.Estomatol. Altiplano.* 2015;2(2):17-21. Disponible en: <http://huajsapata.unap.edu.pe/journal/index.php/REA/article/view/176/142>
19. Leyva N y col. Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules.* 2017 Jun 14;22(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28613267>
20. Moromi N y col. 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 Dic;12(4):355-61. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2018000400355&script=sci_arttext&fbclid=IwAR0aFy1muVnl-khj00Q2Zct148LgWcl3fl7Sw1Nu0o9NQo3yOCFxQkmlgaU
21. Pradebon L y col. Evaluation of anti-enzyme properties of *Origanum vulgare* essential oil against oral *Candida albicans*. *J Mycol Med.* 2018 Mar;28(1):94-100. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29402621>

22. Cortés D, De Souza C y Oliveira W. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014 Feb;4(2):90-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25182278>
23. Oluwasina O y col. Antimicrobial potential of toothpaste formulated from extracts of *Syzygium aromaticum*, *Dennettia tripetala* and *Jatropha curcas* latex against some oral pathogenic microorganisms. *AMB Express*. 2019 Feb 4;9(1):20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30715633>.
24. Cai L y Wu C. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J Nat Prod*. 1996 Oct;59(10):987-90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8904847>
25. Lu M y col. Redox/pH dual-controlled release of chlorhexidine and silver ions from biodegradable mesoporous silica nanoparticles against oral biofilms. *Int J Nanomedicine*. 2018 Nov 19;13:7697-7709. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30538453>
26. Yadiki J y col. Comparative Evaluation of the Antimicrobial Properties of Glass Ionomer Cements with and without Chlorhexidine Gluconate. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2016 Apr-Jun;9(2):99-103. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27365927>
27. Dadpe M y col. Evaluation of antimicrobial efficacy of *Trachyspermum ammi* (Ajwain) oil and chlorhexidine against oral bacteria: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2018 Oct-Dec;36(4):357-363. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30324925>
28. Swadas M y col. Evaluation and Comparison of the Antibacterial Activity against *Streptococcus mutans* of Grape Seed Extract at Different Concentrations with Chlorhexidine Gluconate: An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2016 Jul-Sep;9(3):181-185. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27843246>
29. Besra M y Kumar V. In vitro investigation of antimicrobial activities of ethnomedicinal plants against dental caries pathogens. *3 Biotech*. 2018 May;8(5):257. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29765815>

30. Vilca J. Efecto antibacteriano in vitro de tres concentraciones de aceite esencial de *Origanum vulgare* de Otuzco sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista]. Trujillo (Perú): Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2017. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/10087>
31. Osanloo M y col. Larvicidal Activity of Essential Oil of *Syzygium aromaticum* (Clove) in Comparison with Its Major Constituent, Eugenol, against *Anopheles stephensi*. *J Arthropod-Borne Dis*, December 2018, 12(4): 361–369. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30918905>
32. Chniguir A y col. *Syzygium aromaticum* aqueous extract inhibits human neutrophils myeloperoxidase and protects mice from LPS-induced lung inflammation. *Pharm Biol*. 2019 Dec;57(1):56-64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30707845>
33. Mastro G y col. Essential oil diversity of *Origanum vulgare* L. populations from Southern Italy. *Food Chem*. 2017 Nov 15; 235:1-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28554612>
34. Bejaoui A y col. Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages. *J Med Food*. 2013 Dec;16(12):1115-20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24320986>
35. Mali G y col. Comparative Evaluation of Arimedadi Oil with 0.2% Chlorhexidine Gluconate in Prevention of Plaque and Gingivitis: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Diagn Res*. 2016 Jul;10(7): ZC31-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27630949>
36. Azaña Espinoza 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. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. Available from: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/ISAACLITOAZANAESPINOZA.pdf>

37. Lara L. Efecto inhibitor del extracto oleoso del Orégano vulgare sobre el crecimiento in vitro de cepas de Streptococcus mutans. [Tesis de titulación]. Quito (Ecuador): Universidad Central del Ecuador. 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9136/1/T-UCE-0015-522.pdf>
38. Mandava K y col. Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against S.mutans glucosyltransferase. BMC Complement Altern Med. 2019 Aug 2;19(1):197. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31375097>
39. Chaudhari L y col. Antimicrobial activity of commercially available essential oils against Streptococcus mutans. J Contemp Dent Pract. 2012 Jan 1;13(1):71-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22430697>

ANEXOS



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

Trujillo, 25 de octubre del 2019

RESOLUCION Nº 2197-2019-FMEHU-UPAO

VISTO, el expediente organizado por Don (ña) WILLIAM ALONSO ALBINES NIZAMA alumno (a) de la Escuela Profesional de Estomatología, solicitando **INSCRIPCIÓN** de proyecto de tesis Titulado "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL SYZYGIUM AROMATICUM "CLAVO DE OLOR" Y ORIGANUM VULGARE "OREGANO" FRENTE A STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175", para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista, y;

CONSIDERANDO:

Que, el (la) alumno (a) WILLIAM ALONSO ALBINES NIZAMA, ha culminado el total de asignaturas de los 10 ciclos académicos, y de conformidad con el referido proyecto revisado y evaluado por el Comité Técnico Permanente de Investigación y su posterior aprobación por el Director de la Escuela Profesional de Estomatología, de conformidad con el Oficio Nº 0805-2019-ESTO-FMEHU-UPAO;

Que, de la Evaluación efectuada se desprende que el Proyecto referido reúne las condiciones y características técnicas de un trabajo de investigación de la especialidad;

Que, habiéndose cumplido con los procedimientos académicos y administrativos reglamentariamente establecidos, por lo que el Proyecto debe ser inscrito para ingresar a la fase de desarrollo;

Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este despacho;

SE RESUELVE:

- Primero.- **AUTORIZAR** la inscripción del Proyecto de Tesis intitulado "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL SYZYGIUM AROMATICUM "CLAVO DE OLOR" Y ORIGANUM VULGARE "OREGANO" FRENTE A STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175", presentado por el (la) alumno (a) WILLIAM ALONSO ALBINES NIZAMA, en el registro de Proyectos con el Nº695-ESTO por reunir las características y requisitos reglamentarios declarándolo expedito para la realización del trabajo correspondiente.
- Segundo.- **REGISTRAR** el presente Proyecto de Tesis con fecha 21.11.19 manteniendo la vigencia de registro hasta el 21.11.21.
- Tercero.- **NOMBRAR** como Asesor de la Tesis al (la) profesor (a) CD. PRISCILA SCHREIBER CUEVA
- Cuarto.- **DERIVAR** al Señor Director de la Escuela Profesional de Estomatología para que se sirva disponer lo que corresponda, de conformidad con la normas Institucionales establecidas, a fin que el alumno cumpla las acciones que le competen.
- Quinto.- **PONER** en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de lo dispuesto en la presente resolución.



REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.

Juan Alberto Diaz Plasencia
Df. JUAN ALBERTO DIAZ PLASENCIA
Decano (e)



Elena Antonia Caceres Andonaire
Dra. ELENA ANTONIA CACERES ANDONAIRE
Secretaria Académica

c.c.
ESCUELA DE ESTOMATOLOGIA
ASESOR
EXPEDIENTE
Archivo

Anexo 2

CONSTANCIA DE SUPERVISIÓN DE PROYECTO

Yo, Elva Manuela Mejía Delgado, Bióloga, identificada con el N° C.B.P 00548, hago **CONSTAR** la supervisión de la ejecución y prueba de calibración de la tesis, realizada en los ambientes del laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, titulada:

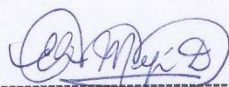
**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL *SYZYGIUM AROMATICUM*
“CLAVO DE OLOR” Y *ORIGANUM VULGARE* “ORÉGANO” FRENTE A
*STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175”***

Alumno: Bach. William Alonso Albines Nizama

ID: 000137716

Se expide la presente para fines convenientes.

Trujillo, Setiembre del 2019



Dra. Elva Manuela Mejía Delgado

N° C.B.P. 00548

Anexo 3

Variable	n	Calibración	% de concordancia	Kappa	*p
Syzygium aromaticum "clavo de olor"	4	Interevaluador	100	1.00	<0.01
Origanum vulgare "orégano"	4	Interevaluador	100	1.00	<0.01
Gluconato de Clorhexidina	4	Interevaluador	100	1.00	<0.01

*Kappa de Cohen

Puntuación casi perfecta

Anexo 4

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
MUESTRA	Halos de Inhibición (mm)		
	<i>Syzygium aromaticum</i> (100%)	<i>Origanum vulgare</i> (100%)	Gluconato de Clorhexidina (0.12%)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			

Anexo 5



CERTIFICADO DE ANALISIS

Producto:	Aceite esencial de Clavo de Olor
Nombre botánico:	<i>Syzygium aromaticum</i> L.
Sinónimos:	<i>Eugenia aromaticum</i> , <i>Caryophyllus aromaticus</i> L., <i>Eugenia caryophyllata</i> .
Lote N°:	8000-34-8.
Fecha de Destilación:	Abril 2019
Fecha de Vencimiento:	Julio 2022
Color:	Amarillo pálido a amarillo claro.
Aroma:	Olor característico al clavo de olor.
Método de extracción:	Destilación al vapor de los brotes.
País de Origen:	Indonesia.
Aceites 100% puros y naturales	

PROPIEDADES FISICO QUIMICAS	RANGO	RESULTADOS
Gravedad específica @ 20 °C	1.038 – 1.060	1.053
Rotación óptica @ 25 °C	(-) 2° a (+) 0.0°	0°
Índice de refracción @ 25 °C	1.528 – 1.537	1.531
Solubilidad	Soluble en alcohol y aceites. Insoluble en agua	

OTRAS PROPIEDADES

Ninguna

Abril 2019

ES AROMATERAPIA EIRL – Calle Venecia 147, Dpto. 201, San Borja
Teléfono: 337-2290 Celular: 977 779 444
www.ekala.spe



CERTIFICADO DE ANALISIS

Producto:	Aceite esencial de Orégano - Orgánico
Nombre botánico:	Origanum Vulgare Linne (Fam: Labiatae)
Lote N°:	5122 – SNN - 2019.
Fecha de Destilación:	Marzo 2019
Fecha de Vencimiento:	Julio 2021
Color:	Transparente a amarillo claro.
Aroma:	Olor penetrante y picante.
País de Origen:	India.

Aceites 100% puros y naturales

PROPIEDADES FISICO QUIMICAS	RANGO	RESULTADOS
Gravedad específica @ 25 °C	0.950 – 0.990	0.963
Rotación óptica @ 25 °C	(-) 5° a (+) 5°	0°
Índice de refracción @ 25 °C	1.480 – 1.525	1.514
Solubilidad	Soluble en alcohol y aceites. Insoluble en agua	

OTRAS PROPIEDADES

Ninguna

Marzo 2019

ES AROMATERAPIA EIRL – Calle Venecia 147, Dpto. 201, San Borja
Teléfono: 337-2290 Celular: 977 779 444
www.ekala.pe