



# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE  
ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*), COMPARADO CON  
LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DEL *Streptococcus  
mutans*, PUNO - 2020**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. YAMILET NAVARRO MACEDO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2021**



## **DEDICATORIA**

Principalmente a Dios por darnos vida, salud, sabiduría y fortaleza para emprendernos en la vida.

A mi familia, principales motores que siempre han estado a mi lado por brindarme su apoyo incondicional en cada etapa de mi educación académica, y sus sabios consejos.

*Yamilet Navarro Macedo*



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a nuestra alma mater la Universidad Nacional del Altiplano y a la Escuela Profesional de Odontología por abrirnos las puertas, acogerme en sus aulas, brindarme el conocimiento, la formación y por vivir gratas experiencias a lo largo de toda mi vida universitaria la cual nunca olvidare. Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional para lidiar el día a día de esta maravillosa etapa y a todos los amigos quienes de distintas maneras nos han brindado su apoyo en las diversas etapas de nuestra formación académica.

Gracias al D.Sc. Fernando A. Chávez Fernández Lic. Lorgio Palacios Frisancho y al Ing. CIP Edson Rodríguez Torres, personas maravillosas quienes me han ayudado mucho en esta etapa, sino que también me han brindado su apoyo incondicional.

*Yamilet Navarro Macedo*



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**INDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 10**

**ABSTRACT..... 11**

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 13**

**1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESEGACION..... 14**

**1.3 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN ..... 15**

**1.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO ..... 15**

**1.5. OBJETIVOS DE LA IVESTIGACIÓN..... 16**

1.5.1. Objetivo general..... 16

1.5.2. Objetivo específico ..... 16

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1. MARCO TEÓRICO ..... 17**

2.1.1. Antecedentes de la investigación..... 17

2.1.2. Fitoterapia ..... 20

2.1.3. Caries dental ..... 22

2.1.4. Muña (Minthostachys mollis)..... 22



2.1.5. Clorhexidina .....	29
2.1.6. Ecología de la boca .....	34
2.1.7. Streptococcus mutans .....	34
2.1.8. Placa bacteriana .....	36
<b>2.2. MARCO CONCEPTUAL .....</b>	<b>37</b>
2.2.1. Aceites esenciales. ....	37
2.2.2. Minthostachys mollis. ....	37
2.2.3. Clorhexidina. ....	37
2.2.4. Streptococcus mutans .....	37
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>3.1. UBICACIÓN .....</b>	<b>38</b>
3.1.1. Ámbito general .....	38
3.1.2. Ámbito específico .....	38
<b>3.2. PERIODO DE DURACIÓN DEL ESTUDIO .....</b>	<b>39</b>
<b>3.3. MATERIAL UTILIZADO .....</b>	<b>39</b>
<b>3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>42</b>
3.4.1. Población .....	42
3.4.2. Muestra .....	42
<b>3.5. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA .....</b>	<b>42</b>
3.5.1. Criterios de inclusión .....	42
3.5.2. Criterios de exclusión .....	43
<b>3.6. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>43</b>
3.6.1. Diseño experimental .....	43
3.6.2. Tipo de la investigación .....	44



3.6.3. Nivel de la investigación .....	45
<b>3.7. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....</b>	<b>45</b>
<b>3.8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....</b>	<b>52</b>
<b>3.9. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>53</b>
3.9.1. Técnica e instrumento de recolección de datos .....	53
3.9.2. Procedimiento y análisis de datos .....	54
<b>3.10. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....</b>	<b>56</b>
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADO Y DISCUSIÓN</b>	
<b>4.1. RESULTADO.....</b>	<b>57</b>
<b>4.2. DISCUSIÓN.....</b>	<b>65</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>76</b>

**ÁREA:** Ciencias de la salud.

**LÍNEA:** Diagnóstico, tratamiento y rehabilitación del sistema estomatognatico.

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 02 de septiembre del 2021.



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 25% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria... 58
- Figura 2:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) al 50% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria..... 60
- Figura 3:** Prueba estadística de contraste de Tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) AL 75% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria..... 62
- Figura 4:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) al 100% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria..... 64



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Prueba de T para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 25% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de <i>Streptococcus mutans</i> , PUNO 2020. ....	57
<b>Tabla 2:</b> Prueba de T para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 50% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de <i>Streptococcus mutans</i> , Puno 2020. ....	59
<b>Tabla 3:</b> Prueba de t para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña al 75% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de <i>Streptococcus mutans</i> , Puno 2020. ....	61
<b>Tabla 4:</b> Prueba de t para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 100% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de <i>Streptococcus mutans</i> , Puno 2020. ....	63



## INDICE DE ACRÓNIMOS

**DE:** desviación estándar

**DMS:** diferencia mínima significativa

**g:** gramo

**GC+:** Grupo control positivo

**GC-:** Grupo control negativo

**GE:** grupo experimental

**GE1:** grupo experimental

**GE2:** grupo experimental

**GE3:** grupo experimental

**GE4:** grupo experimental

**CMI:** concentración mínima inhibitoria

**UFC:** unidades formadoras de colonias

**kg:** kilogramo

**LI:** límite inferior

**LS:** límite superior

**m<sup>3</sup>:** metro cúbico

**ml:** mililitro

**O.M.S.:** Organización Mundial de la Salud.

**T:** prueba de T

**v/p:** volumen peso

**UFC:** unidades formadoras de colonias

**µg:** microgramo

**µl:** microlitro

**et al:** y colaboradores.



## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas del *Streptococcus mutans*. El cual se ejecutó en el laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano Puno. **Materiales y métodos:** Se obtuvo el aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) mediante la técnica de arrastre de vapor de agua, la cantidad 10ml de aceite a partir de 10kilos de la planta; la misma que se realizó en las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente con etanol al 96%. Se utilizó como control positivo la clorhexidina al 0,12% y como control negativo el agua destilada. Para determinar el efecto inhibitorio del *Streptococcus mutans*, se utilizó el método de Kirby Bauer con 16 tratamientos y 10 repeticiones simultáneamente. Para los análisis estadísticos se utilizó la prueba de “t” para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANOVA para observar la significancia y la prueba de Tukey para hacer las pruebas estadísticas de comparaciones y análisis de variabilidad, para lo cual se utilizó el paquete estadístico SPSS V25 en español y Excel. **Resultados:** Como resultado se tuvo que concentración mínima inhibitoria fue a la concentración del 25% con un promedio de 11.06 mm de diámetro y para la concentración máxima inhibitoria fue al 100% con un promedio de 15.34mm de diámetro **Conclusiones:** el tratamiento tiene efecto inhibitorio in vitro sobre el *Streptococcus mutans*, a partir de la concentración del 50% utilizando el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), siendo menor al control positivo de la clorhexidina al 0.12%. Estos resultados nos permiten poner en evidencia científica para considerar en la odontología sobre los efectos antibacterianos de la planta medicinal del aceite esencial de la muña.

**Palabras claves (Keywords):** Efecto antibacteriano, inhibitorio, *Minthostachys mollis*, *Streptococcus mutans*.



## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the in vitro antibacterial effect of muña essential oil (*Minthostachys mollis*), compared with 0.12% chlorhexidine in strains of *Streptococcus mutans*. Which was carried out in the laboratory of Parasitology and Microbiology of the Professional School of Human Medicine of the National University of the Altiplano Puno.

**Materials and methods:** The essential oil of the muña (*Minthostachys mollis*) was obtained by means of the water vapor entrainment technique, the quantity of 10 ml of oil from 10 kilos of the plant; the same that was carried out in the different concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% respectively with 96% ethanol. Chlorhexidine 0.12% was used as a positive control and distilled water as a negative control. To determine the inhibitory effect of *Streptococcus mutans*, the Kirby Bauer method was used with 16 treatments and 10 repetitions simultaneously. For the statistical analyzes, the “T” test was used for data dispersión, the ANOVA analysis of variance test to observe the significance and the Tukey test to perform the statistical tests of comparisons and analysis of variability, for which the used the statistical package SPSS V25 in Spanish and Excel. **Results:** As a result, the minimum inhibitory concentration had to be 25% with an average of 11.06 mm in diameter and for the máximo inhibitory concentration it was 100% with an average of 15.34 mm in diameter. **Conclusions:** the treatment has an inhibitory effect in vitro on *Streptococcus mutans*, from a concentration of 50% using the essential oil of muña (*Minthostachys mollis*), being lower than the positive control of 0.12% chlorhexidine. These results allow us to put in scientific evidence to consider in dentistry the antibacterial effects of the medicinal plant of the essential oil of the muña.

**Keywords:** Antibacterial, inhibitory effect, *Minthostachys mollis*, *Streptococcus mutans*.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En la salud pública la caries es una de las enfermedades más frecuentes en la cavidad bucal, está considerada como un problema a nivel mundial. Esta enfermedad dental aparece debido a la alteración de la microbiota de la placa dental, producida por condiciones ambientales locales o factores como la dieta, bacterias, composición de la saliva y otros factores más. Clínicamente se caracteriza por un cambio de color, como una mancha blanca, como resultado de la desmineralización del esmalte que precede a la cavitación real, pérdida de translucidez y descalcificación de los tejidos afectados. A medida que avanza el proceso, se destruyen los tejidos y se forman cavidades.<sup>1</sup>

La comprensión sobre la diversidad microbiana es de importancia porque ayuda a comprender la organización de estas comunidades microbianas sobre la cavidad oral, cómo interactúan y mantienen su homeóstasis en el ser humano, teniendo en cuenta que la cavidad oral es la puerta de entrada de posibles infecciones tanto en el sistema gastrointestinal y respiratorio. Comprender la ecología oral es una tarea compleja, debido a que presenta una gran variedad de hábitats dentro de la cavidad oral. Estas variedades de hábitats de la mucosa dependen de las concentraciones de oxígeno, la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas.<sup>2</sup>

La distribución de la especie del género *Streptococcus* se encuentran con mayor número en tejidos blandos, saliva y en la lengua. Las especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supra e infragingival y en fisuras de la lengua. Otras bacterias como *Veillonellaparvula* y *Neisseria mucosa* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales.<sup>3</sup>

En este momento las plantas tienen una gran importancia debido a su uso en la medicina tradicional el conocimiento científico de algunas especies es aún desconocido, pero necesario para aprender a investigar los recursos naturales que tenemos, para poder cumplir con los métodos y requerimientos técnicos que la ciencia actual exige. Las plantas han estado íntimamente ligadas al hombre desde sus inicios, formando parte de su alimentación y cura de sus diferentes dolencias de varias civilizaciones, tanto occidentales como orientales, han venido usándolas constantemente y de manera empírica en el campo de la salud por lo cual su importancia y utilidad es irrefutable. Con la llegada de la tecnología e investigación sobre ellas, se ha podido identificar sus componentes y principios activos concediendo a la fitoterapia un espacio importante lugar dentro de la medicina. De esta manera, se han venido utilizando a niveles generales como antibacterianos, antiinflamatorios, anticarcinógenos, cicatrizantes y analgésicos.<sup>4</sup>

En este trabajo de investigación se determinó comparar el efecto antibacteriano de la planta medicinal del aceite esencial de muña (*Minthostachys Mollis*), frente a la clorhexidina al 0.12 % en cepas de *Streptococcus Mutans*. Este estudio demostró que, para disminuir el potencial patógeno de estas especies también se pueden utilizar de manera alternativa en la prevención de las enfermedades cariogénicas y periodontales, también para establecer una base científica en un futuro la elaboración de un producto aplicable en la práctica odontológica.

## **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Afirma la Organización Mundial de la Salud (OMS), que las enfermedades bucodentales, como la caries dental, la enfermedad periodontal y la maloclusión constituyen problemas de salud pública que afectan a los países industrializados y cada vez



con mayor frecuencia a los países en desarrollo, en especial a las comunidades más pobres.

Se caracterizan el *Streptococcus mutans* por ser cocos Gram positivos, anaerobio facultativo forman parte de la flora residente en la cavidad bucal y vías respiratorias altas; autores tales como Berkowitz, Kohler, col. y Van Houte han sugerido al *Streptococcus mutans* como el principal agente de la formación de caries dental.<sup>5</sup>

La Salud Bucal en el Perú constituye un grave problema de Salud Pública, por lo que es necesario un abordaje integral del problema, aplicando medidas eficaces de promoción y prevención de la salud bucal. La población pobre al igual que la no pobre, presenta necesidades de tratamiento de enfermedades bucales, solo que la población pobre, tiene que verse en la necesidad de priorizar, entre gasto por alimentación y gasto por salud.<sup>6</sup> Actualmente se emplean plantas medicinales para combatir ciertas enfermedades, como es el uso de la “muña” *Minthostachys mollis*, planta oriunda de la sierra del Perú, su uso ampliamente difundido en diversas regiones del país, se debe por poseer propiedades curativas, las cuales atribuyen a sus componentes, entre los cuales destaca el aceite esencial, el cual actúa dependiendo del tipo de microorganismo y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos, además que interferirían en la fase de metabolismo intermedio de los microorganismos inactivan enzimas de reacción.<sup>7</sup>

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, Puno-2020?



### 1.3 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

El efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), no es más eficaz que la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*.

### 1.4 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Según datos estadísticos del MINSA la incidencia de gingivitis y caries dental en todos los grupos etarios están aumentando en nuestro país, tanto en cifras absolutas como en cifras relativas, esta investigación nos mostrara y enseñara la importancia del aceite esencial muña (*Minthostachys mollis*) en el tratamiento de patología relacionadas con las bacteria del *Streptococcus mutans* que pudieran afectar la salud bucal como es el caso de un gingivitis por consiguiente solucionar un problema de salud pública.<sup>8</sup>

De interés científico nos permitirá incrementar los conocimientos sobre las propiedades antibacterianas en el área odontológica por proponer alternativas naturales que se pudieran hallar en una de las plantas más cultivada y originarias de la región Puno y difundir estos conocimientos en la población que tenga acceso limitados de servicio de salud.<sup>9</sup>

La investigación de la hoja muña en el área de la Odontoestomatología no logran explicar, de manera clara dicha eficacia. De ahí la importancia de estudio, la actividad antibacteriana del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*).

Mediante el presente estudio se buscó determinar la efectividad antibacteriana del aceite con un grupo experimental de aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), en diferentes porcentajes de concentración (25%, 50%, 75, y 100%) en comparación con un grupo control positivo clorhexidina al 0.12 %. Y con el resultado poder aportar un mayor conocimiento en el área de la Odontoestomatología y aclarar las incógnitas sobre el



beneficio de dicha planta, para el tratamiento preventivo e interceptivo de enfermedades bucodentales.

## 1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.5.1. Objetivo general

Determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, Puno-2020.

### 1.5.2. Objetivo específico

- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 25% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 50% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 75% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 100% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. MARCO TEÓRICO

##### 2.1.1. Antecedentes de la investigación

###### 2.1.1.1. Antecedentes internacionales

**Aigaje A, (2017) Quito - Ecuador.** El objetivo de su estudio fue Determinar la actividad antibacteriana de la *Minthostachys mollis* (TIPO) un arbusto perenne de la Serranía Ecuatoriana, frente a la *Porphyromonas gingivalis* que es uno del principal periodonto patógenos”. La efectividad antibacteriana en la concentración al 25% 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 obtuvo efectividad. Conclusiones: Tanto la clorhexidina al 0,12 y la ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis*.<sup>10</sup>

**Torrenegra M. (2016). Colombia.** En su investigación titulada composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys mollis*. Su objetivo fue evaluar la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys mollis* cultivado en el departamento de Norte de Santander, Colombia. El aceite esencial fue obtenido por hidrodestilación convencional, a partir de las hojas. La actividad antibacteriana se evaluó sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,



*Staphylococcus epidermis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Para determinar la sensibilidad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria, los aceites se diluyeron hasta la concentración deseada (1000–50 µg/mL) empleando el método de micro dilución en caldo, y se empleó el lector de micro placas para la cuantificación del crecimiento bacteriano. Los resultados de la prueba de sensibilidad mostraron que las bacterias fueron sensibles al aceite esencial de *Minthostachys mollis*; además, este aceite presentó un elevado contenido de mono terpenos oxigenados con reconocida actividad antibacteriana, como son el carvacrol y el timol. En función de los resultados obtenidos, concluimos que la especie vegetal evaluada es promisoriosa para el control del componente bacteriano.<sup>11</sup>

#### 2.1.1.2. Antecedentes nacionales

**Bonifacio U. (2019) Trujillo – Perú.** Realizo un estudio de tipo experimental tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro de cuatro concentraciones de aceite esencial de la hoja de *Minthostachys mollis* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.” Los valores promedios de los halos de inhibición fueron de 9.6 mm al 5%, de 10.3mm al 10%, de 17.9mm al 25% y de 22.9 mm al 50%. Conclusión: Se concluyó que el aceite esencial de hoja de *Minthostachys mollis* al 50% presentó mayor efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que las otras tres concentraciones.<sup>12</sup>

**Quichca J. (2016) Lima – Perú.** Realizo su estudio con el objetivo de conocer el Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de

*porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro. Los datos se procesaron con la prueba estadística de análisis de varianza, obteniendo como resultado que las concentraciones al 50% y 100% del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presentaron un halo de inhibición de  $6.72 \pm 0.37\text{mm}$  y  $10.81 \pm 0.79\text{mm}$  respectivamente a las 24 horas, mientras que  $5.83 \pm 0.51\text{mm}$  y  $8.24 \pm 0.75\text{mm}$  a las 48 horas respectivamente, mientras que la Clorhexidina mostró un halo de inhibición de  $15.8 \pm 0.73\text{mm}$  a las 24 horas y  $15.98 \pm 0.80\text{mm}$  a las 48 horas frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %, 100% son menos eficaces que la Clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas Gingivalis* a las 24 y 48 horas.<sup>13</sup>

**Huari G, (2014) Lima – Perú.** Su investigación tuvo por objeto evaluar y comparar la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*” En la muestra de aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% obtuvo promedio de 10.79 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50 % promedio de 7.6 mm, aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25 % promedio de 5 mm (tamaño de discos) igual que el control negativo (DMSO), el control positivo (amoxicilina) promedio de 49.3 mm. Se procesó los datos en el paquete estadístico SPSS versión 19 y se realizó el análisis de ANOVA de los datos numéricos de los halos de inhibición, se obtuvo  $p(0.000) < 0.005$  (estadísticamente significativo). Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % comparado con el control positivo (amoxicilina) presentó menor efecto antibacteriano.<sup>14</sup>

### 2.1.1.3. Antecedentes locales.



**Callo S, (2015) PUNO.** La finalidad de su estudio fue determinar la Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys Mollis* (muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus Mutan* y *Porphyromonas Gingivali*. Los resultados fueron que la concentración mínima inhibitoria para *Streptococcus mutans* es 0.448g/ml de aceite esencial, ya que la concentración inhibe el 50% del crecimiento bacteriano y para *Porphyromonas gingivalis* es mayor a 0.448g/ml de aceite esencial, ya que es la mayor concentración en la que se trabajó y solo se inhibió el 23.05 % de crecimiento bacteriano. Se concluye que el aceite esencial de muña inhibe a *Streptococcus mutans* y a *Porphyromonas gingivalis*.<sup>15</sup>

### **2.1.2. Fitoterapia**

A partir de un punto de vista etimológico fitoterapia proviene de dos vocablos griegos: phytón (planta) y therapéía (tratamiento) por lo tanto, el término se refiere a la "terapéutica con las plantas", es decir, a la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico.<sup>16</sup>

Desde tiempos prehistóricos el hombre utiliza las plantas con fines medicinales. La incidencia que los productos de origen vegetal han tenido en la terapéutica ha variado a lo largo del tiempo, en buena parte en relación con los avances del conocimiento científico es aquí cuando inclusive la medicina toma un giro inesperado (cabe recordar que la mayoría de los medicamentos fueron formulados por la acción que producen ciertas plantas medicinales y hierbas naturalmente, para atacar afecciones y problemáticas de salud). Cuando se descubre el ingrediente activo (es aquel que posee toda actividad farmacológica) es usado



medicamento y esto sigue vigente hasta hoy. Por ende, la integración de la fitoterapia en la terapéutica tiene no sólo una base histórica, sino que ambas comparten también una base química. El retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica ha venido propiciado, en parte, por el retorno hacia lo natural que ha habido de forma general en la sociedad. También han jugado un importante papel los siguientes factores: – El descubrimiento de efectos adversos en fármacos de síntesis. – El mejor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados. – El desarrollo de métodos analíticos que facilitan el control de calidad. La actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina la sumidad. La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden del metabolismo secundario. La acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no sólo de uno aislado, existiendo sinergismo y acciones coadyuvantes entre ellos.<sup>16</sup>

La actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina la sumidad. La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden del metabolismo secundario. La acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no sólo de uno aislado, existiendo sinergismo y acciones coadyuvantes entre ellos.<sup>17</sup>



### 2.1.3. Caries dental

La caries dental es una patología de etiología multifactorial, transmisible de origen infeccioso que afecta a las piezas dentarias, produciendo la destrucción de forma progresiva de los tejidos duros.<sup>18</sup>

Se considera un proceso dinámico crónico, infeccioso, transmisible y multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente, Según (OMS-WORLD Health Report 2003), 5 mil millones de personas padecen caries dental, lo que equivale aproximadamente a un 80 % de la población mundial;3 otros estudios plantean que la caries dental la padece aproximadamente el 99 % de la población de América Latina y un 96 % del mundo. <sup>19</sup>

### 2.1.4. Muña (*Minthostachys mollis*)

La muña se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymara tiene dos nombres: “Coa” y “Huaycha”. Debido a sus características semejantes al póleo y orégano, los españoles la denominaban póleo silvestre. Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: "muña. La muña es un recurso natural que tiene un plano altitudinal de crecimiento entre los 2500 – 3500 m.s.n.m. Habita entre los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, comportándose como tal; existe en gran abundancia.<sup>14</sup>

#### 2.1.4.1. Clasificación sistemática

Reino: Vegetal

Sub reino: *Embryophyta* División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida* Subclase: *Methachlamydeae*

Orden: *Tubiflorae*

Familia: *lamiaceae* (labiatae) Género: *Minthostachys*



Especie: *Minthostachys mollis* (Spach) Griseb

Nombre vulgar: “Muña”

#### 2.1.4.2. Características botánicas del género en estudio

Las características botánicas del *Minthostachys mollis* “Muña” es una planta arbustiva, leñosa, frondosa en la parte superior, de aspecto general glauco, erecto y pubescente, su tallo es ramificado desde la base. La hoja es el elemento vegetativo simple ligeramente separado, carece de estípulas, cortamente pediculares de filo taxia opuesta. Su peciolo mide entre 4 y 6 mm de largo, pubescente acanalada en la parte superior y convexo en la parte inferior, es aquí donde se deposita la mayor cantidad de aceite, que al estrujarlos dejan sentir su aroma característico. Las flores son hermafroditas.<sup>14</sup>

#### 2.1.4.3. TIPOS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*).

Los tipos de muña se indica un total de 12 especies, cuya distribución abarca desde Argentina hasta Venezuelay 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.



#### 2.1.4.4. Características físico-químicas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”<sup>20</sup>

Aspecto	líquida, clara, transparente
Color	Incoloro
Olor	característico en menta
Sabor	picante
Densidad relativa	0.92
Índice de refracción	1.4699
Solubilidad en alcohol al 70 °	5
Índice de mentona	33.88 %
Índice de menta	22 %
Índice de acidez	1.683
Índice de ésteres	5.819
Rotación específica	-2 <sup>a</sup> 45'
Índice de éter	16.80 %
Contenido de mentol total	4.042 %
Solubilidad en etanol	95

#### 2.1.4.5. Composición química

Con relación a la composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) existen pocos trabajos de investigación por lo que se tiene poca información; el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), al igual que otros aceites esenciales, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica (mentol y mentona), ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje.

#### 2.1.4.6. Usos y aplicaciones de la especie *Minthostachys mollis*

La muña es conocida por la gente del pueblo por sus propiedades digestivas contra cólicos, flatulencias (carminativo), vómitos, diarreas, antitusígenas, antiasmático, expectorante, antiespasmódico, antiséptico,



analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se emplea en fracturas. Es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas y soroche.<sup>21</sup>

#### **2.1.4.7. Principios activos de las plantas medicinales y aromáticas.**

Los principios activos son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. La investigación científica ha permitido descubrir una variada gama de principios activos, de los cuales los más importantes desde el punto de vista de la salud, son los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos o heterósidos, los mucílagos y gomas, y los taninos. Existen en las plantas otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales, como las vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y fibras, azúcares diversos, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos.

Los principios activos se clasifican, según su estructura química, en grupos:

- Productos resultantes del metabolismo primario.
- Productos derivados del metabolismo secundario.
  - (No son esenciales para el metabolismo, sino que son sintetizadas como defensa, adaptación, etc.): son los más importantes como principios activos.
- Heterósidos: Antraquinónicos, Cardiotónicos, Cianogénicos, Cumarínicos, Fenólicos, Iavónicos, Ranunculósidos, Saponósidos, Sulfurados.



- Polifenoles: Ácidos fenólicos; Cumarinas; Flavonoides; Lignanos; Taninos; Quinonas.
- Terpenoides: Aceites esenciales; Iridoides; Lactonas; Diterpenos; Saponinas.
- Alcaloides.

#### **2.1.4.8. Principales moléculas con acción bactericida presentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)**

##### **1. *Pulegona***

Uno de los componentes más importantes del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y también de muchos aceites, pero es mejor conocido por pulegium poleo (*Mentha*). Es altamente tóxico en grandes cantidades, daña el hígado y puede provocar el aborto. Su toxicidad probablemente explica algunos de los efectos del aceite de *Minthostachys mollis* contra las plagas y parásitos. La sustancia también se usa en perfumería y saborizantes.<sup>22</sup>

##### **2. *Carvacrol***

Se han encontrado para ser componentes dominantes en una menor proporción de los estudios de los aceites de *Minthostachys mollis*. Carvacrol también se encuentra en varias hierbas conocidos como el orégano (*Origanum vulgare*), la ajedrea de verano (*Satureja hortensis*) o tomillo (*Thymus serpyllum*), y es sobre todo un valor para sazonar.<sup>23</sup>



### 3. *Linalol*

Empleado como condimento y como insecticida, linalol es más conocido de cilantro (*Coriandrum sativum*) de la familia Apiaceae. A menudo es uno de los componentes menores del aceite de *Minthostachys mollis*.<sup>22</sup>

### 4. *Timol*

Como su nombre lo sugiere, esta sustancia es bien conocida de los aceites de distintas especies de tomillo. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. A veces se encuentra como un componente menor en el aceite de *Minthostachys mollis*.<sup>22</sup>

### 5. *Taninos*.

Son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única. Son sustancias 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 principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta. Estos compuestos tienen propiedades **antibacterianas**, astringentes y antisépticas. Se encuentran especialmente en las familias de las Ericáceas, Leguminosas, Rosáceas y Salicáceas. Históricamente, son las sustancias empleadas para curtir pieles, ya que forman puentes de hidrógeno con las fibras de colágeno de la piel. Sus propiedades farmacológicas externas son astringentes, vasoconstrictoras (para hemorragias) y cicatrizantes (quemaduras). Internamente, antidiarreicas, y, al precipitar alcaloides, antídoto ante intoxicaciones.<sup>24</sup>



#### **2.1.4.9. Propiedades y usos de *Minthostachys mollis* (muña)**

La medicina popular no podía dejar de beneficiarse con tantas virtudes curativas y alimenticias. Se sabe que es una especie de múltiples aplicaciones, muchas de las cuales permanecen aún en el misterio. Los médicos de una sociedad ágrafa como la Inca, los galenos amautas, se las llevaron por lo visto consigo; su empleo como infusión o mate (hojas y flores) es imprescindible para aliviar malestares estomacales, flatulencias, afecciones diarreicas, vómitos y afecciones reumáticas, además posee propiedades sedantes y hemostáticas. En casos de soroche o mal de altura ayuda a liberar los bronquios y disipar el mareo, estimula la prevención de la mayoría de problemas respiratorios y ayuda a descongestionar las vías respiratorias, es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas.<sup>25</sup>

#### **2.1.4.10. Mecanismo de acción del aceite de *Minthostachys mollis* (muña)**

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 actuarían en los siguientes puntos: Degradación de la pared celular, daño a la membrana citoplasmática, daño a las proteínas de membrana, filtración del contenido celular, coagulación. Los taninos precipitan las proteínas, fenómeno que, al ocurrir en la membrana citoplasmática bacteriana, altera la permeabilidad de la misma provocando, el intercambio de sustancias nutritivas y de desecho llevando finalmente a la muerte celular.<sup>15</sup>

Estudios realizados del aceite de *Minthostachys mollis* (muña) en otros microorganismos



Gracias a la información de nuestros ancestros sabemos de las bondades que nos ofrece la muña y las aplicaciones que le podemos dar mediante infusiones, extractos entre otros, es por esto que a lo largo del tiempo se ha venido estudiando científicamente el efecto antibacteriano, antifúngico, etc que puede tener el aceite de muña en diferentes microorganismos por esta razón es que gracias a nuevas investigaciones hoy en día se sabe que el aceite de *Minthostachys mollis* (muña) tiene un efecto antibacteriano en bacterias orales tales como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp.*, *Actinomyces sp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* en bacterias prevalentes en patologías periapicales como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogénica*, *Enterococcus faecalis*, y en enterobacterias que son *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, También se llegó a determinar que el aceite de *Minthostachys mollis* (muña) además de ser antibacteriano tiene propiedades antimicóticas ya que se probó esto en cepas de *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans* y *Candida albicans*.<sup>26</sup>

#### 2.1.5. Clorhexidina

La clorhexidina es un potente antiséptico del grupo de las bisguanidas que actúa eficaz y rápidamente como bactericidas sobre microorganismos Gram. (+) y (-), pero poco eficaz sobre bacterias ácido resistentes hongos o virus.

Pertenece al grupo de las bisguanidas y es sin duda el antiséptico de elección. En la década de los 40 científicos de la Imperial Chemical Industries de Inglaterra descubrieron la clorhexidina cuando llevaban a cabo un estudio contra la malaria. Al demostrar poseer un amplio espectro antibacteriano salió al mercado en 1954 como



antiséptico para heridas de la piel y más tarde se usó en medicina y cirugía. Løe y Schiott en 1970 fueron los responsables de incorporar la clorhexidina como tratamiento oral, al demostrar que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0,2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis. Se presenta como una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, que le permiten interactuar con los aniones. Estas cargas positivas son responsables de su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos.<sup>27</sup>

#### **2.1.5.1.Composición**

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos.

#### **2.1.5.2.Mecanismo de acción**

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua (Fardal y Tumbull, 1986).



Se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático), en concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita.

La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa (Rolla, 1975). Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo (Yankelll, 1982 y Case, 1977) Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. El desarrollo de resistencias es muy escaso (AMA Drug Evaluation Annual, 1993). También reduce los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54-97 % en un periodo de seis meses (PDR, 1993) En un periodo de 2 años no se desarrollan resistencias ni presencia de oportunistas o efectos adversos en la cavidad oral (Löe, 1976).

Los estudios parecen indicar que la acción inhibitoria es únicamente debida a la clorhexidina unida a la superficie de los dientes. Es posible que la molécula se adhiera a la superficie por un catión, dejando los otros libres para interactuar con las bacterias que intentan colonizar la superficie del diente. Esto explicaría por qué las pastas con una base de sustancias aniónicas como el lauril sulfato sódico reducen la inhibición de la placa por la clorhexidina si se usan poco después de los colutorios.28



### **2.1.5.3. Farmacocinética**

Los estudios farmacocinéticos de clorhexidina, indican que aproximadamente el 30% del principio activo, se retiene en la cavidad oral después del enjuague. La clorhexidina retenida se libera lentamente en los fluidos orales. Estudios realizados en animales y en humanos demuestran la escasa absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal. Los niveles plasmáticos de clorhexidina alcanzan un pico de 0,206 pg/g en humanos 30 minutos después de la ingestión de 300 mg de dicho fármaco. No se observaron niveles detectables en plasma de clorhexidina después de 12 horas de la ingesta (PDR, 1993; Martindale, 1993). La excreción de clorhexidina se realiza fundamentalmente por las heces (90%); menos del 1% se excreta por la orina (PDR, 1993; Martindale, 1993).<sup>29</sup>

### **2.1.5.4. Concentraciones**

Concentraciones: la clorhexidina suele presentarse en: dos concentraciones, al 0,12% y al 0,2%, se recomienda realizar un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0,2% y de 15 ml al 0,12%, esto es debido a la dosis total de clorhexidina ya que 10 ml al 0,2 % libera 20 mg y 15 ml al 0,12% libera 18 mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos. Las formulaciones de distintos colutorios antisépticos se desarrollaron inicialmente en soluciones alcohólicas.

### **2.1.5.5. Espectro antibacteriano**

El espectro antibacteriano in vitro tiene efectividad frente a Gram- y Gram+ incluyendo aerobios y anaerobios e incluso hongos y levaduras, los



compuestos que incorporan CPC a la clorhexidina obtienen mejores resultados. La función de la pared celular es una capa externa rígida que protege la membrana celular. La adsorción de clorhexidina va a causar una alteración en la movilidad electroforética de todo el microorganismo. Cuando clorhexidina se pone en contacto con la membrana celular su integridad se altera y se facilita la liberación de los componentes intracelulares. A bajas concentraciones se liberan las sustancias de bajo peso molecular como iones potasio y fósforo. A altas concentraciones se presenta una precipitación del contenido citoplasmático. Así, clorhexidina puede ejercer una acción bacteriostática que llega a ser letal cuando la concentración se eleva al causar precipitación citoplasmática o coagulación.<sup>30</sup>

#### **2.1.5.6. Toxicidad y efectos secundarios**

No se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión, ni hay evidencias de teratogenia en el modelo animal. No se ha observado resistencia bacteriana, ni en los casos de uso prolongado en boca, ni hubo evidencias de sobreinfección por hongos, levaduras o virus. El uso prolongado en boca produce un leve desplazamiento de la flora hacia microorganismos menos sensibles, pero se revirtió rápidamente a la situación inicial al término del estudio de dos años (Schiott y cols. 1976).

Se han descrito en muy raras ocasiones ciertas sensibilizaciones al fármaco lo mismo que los efectos colaterales sistémicos por la ingestión del compuesto (Case,1977).<sup>28</sup>



### 2.1.6. Ecología de la boca

La boca alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable que aún no ha sido estudiado en su totalidad y está lejos de ser comprendido en toda su magnitud. Hasta hace muy poco, la boca se consideraba como un hábitat simple para los microorganismos, pero en la actualidad se reconoce que los dientes, surco gingival, la lengua otras superficies mucosas y la saliva, todos forman hábitats o sitios diferentes donde los microorganismos se multiplican. Cada zona o hábitat contiene su propia población característica, a menudo con muchas especies microbianas distintas, las cuales pueden complementarse o competir con otras en la misma población, por tanto, la flora bucal es una entidad dinámica afectada por numerosos cambios durante la vida del huésped.<sup>31</sup>

### 2.1.7. *Streptococcus mutans*

*Streptococcus Mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativa, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas, favoreciendo la desmineralización del esmalte dentario. El S. Mutans se encuentra de forma permanente en la cavidad oral después de la erupción dental, debido a que requiere la presencia de tejido duro no descamativo para colonizar.<sup>32</sup> Se distribuyen ampliamente en la naturaleza. Algunos son miembros de la flora humana normal; otros se asocian con enfermedades humanas importantes atribuibles en parte a infección por estreptococos y en parte a sensibilización a ellos. Elaboran varias sustancias extracelulares y enzimas.

El *Streptococcus Mutans* ha ocupado el interés de muchos investigadores desde épocas remotas; en 1890, W. Miller, microbiólogo británico, propuso la teoría



quimioparasitaria para explicar el fenómeno de la caries dental, relacionando microorganismos, carbohidratos de la dieta y enfermedad dental; en 1924, Kilian Clarke, otro microbiólogo británico, aisló la bacteria *Streptococcus Mutans* de lesiones cariosas. Más tarde, en la mitad del siglo xx, los esfuerzos investigativos del National Institute of Health (nih) de Estados Unidos y de los países escandinavos confirmaron las propiedades cariogénicas de este microorganismo, demostrando su transmisibilidad y distribución mundial.

#### **2.1.7.1.Taxonomía**<sup>33</sup>

Reino: Bacteria

Clase: *Bacilli*

Familia: *Streptococcaceae*

Género: *Streptococcus*

Especie: *Streptococcus Mutans*

#### **2.1.7.2.Factores de virulencia:**

Los factores de virulencia ayudan y protegen al *S. mutans* de las defensas del hospedero, le permiten mantener su nicho ecológico en la cavidad oral y contribuyen con su capacidad de causar daño<sup>34</sup>. Entre los principales factores de virulencia se encuentran:



Acidogenicidad	El <i>Streptococo Mutans</i> fermenta los azúcares de la dieta para producir ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
Aciduricidad	Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo
Acidofilicidad	El <i>Streptococo Mutans</i> puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H +) fuera de la célula.
Síntesis de glucanos y fructanos	Síntesis de glucanos y fructanos.
Síntesis de polisacárido	Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar.
Producción de dextranasa	Movilizar reservas de energía, regula la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano.

Factores de virulencia. Fuente: Duque De Estrada, J. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar: Factores de virulencia.

#### 2.1.8. Placa bacteriana

La placa dental se define como una comunidad microbiana que se encuentra sobre la superficie dental, formando una biopelícula embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival.<sup>35</sup> La placa se forma de manera ordenada y tiene una composición microbiana diversa que, en la salud, permanece relativamente estable a lo largo del tiempo (homeostasis microbiana). Como ha señalado la OMS recientemente las enfermedades bucodentales y, en particular, la caries y las enfermedades periodontales constituyen un problema de salud de alcance mundial que afecta a los países industrializados y cada vez con más frecuencia a los países en desarrollo, en especial, entre las comunidades más pobre.<sup>35 34</sup>



## 2.2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.2.1. Aceites esenciales.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de muchos metabolitos secundarios tipo monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides, cada uno de los cuales contribuye al efecto benéfico de la salud del paciente. Es por esto que se debe profundizar la elucidación estructural o composición química de los componentes de los aceites esenciales para permitir un mejor entendimiento de su mecanismo de acción.<sup>36</sup>

### 2.2.2. *Minthostachys mollis*.

La muña es un recurso natural que tiene un plano altitudinal de crecimiento entre los 2500 – 3500 m.s.n.m. Habita entre los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, comportándose como tal; existe en gran abundancia.<sup>14</sup>

### 2.2.3. Clorhexidina.

La clorhexidina es un potente antiséptico del grupo de las bisguanidas que actúa eficaz y rápidamente como bactericidas sobre microorganismos Gram. (+) y (-), pero poco eficaz sobre bacterias ácido resistentes hongos o virus.<sup>27</sup>

### 2.2.4. *Streptococcus mutans*

Es el microorganismo más importante en la formación de caries dental. Es un coco Gram positivo, anaeróbica facultativa, es decir, que puede utilizar el oxígeno para su crecimiento; pero si este no está presente también puede sobrevivir. Se encuentra en forma permanente en la cavidad oral después de la erupción dentaria, debido a que requiere la presencia del tejido duro para colonizar.<sup>32</sup>





### 3.2. PERIODO DE DURACIÓN DEL ESTUDIO

Esta investigación de título Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas del *Streptococcus mutans*, Puno – 2020.

ACTIVIDAD A REALIZARSE EN EL PERIODO ACADÉMICO 2020 - 2021	MESES					
	PERIODO 2020			PERIODO 2021		
	AGOSTO	SEPTIEMBRE	NOVIEMBRE	MAYO	JUNIO	JULIO
Elaboración del proyecto	X					
Presentación del proyecto de tesis observaciones		X				
Aprobación de tesis		X				
Implementación de proyecto			X			
Ejecución de proyecto				X		
Recolección de datos					X	
Análisis e interpretación de los resultados					X	
Elaboración del informe de investigación						X

### 3.3. MATERIAL UTILIZADO

#### 3.3.1. Materiales de uso odontológico

- Equipo básico: Pinzas, porta algodón, espejo y explorador bucal.
- Algodón y gasa.



### **3.3.2. Equipos de laboratorio**

- Autoclave (horno a presión de calor húmedo).
- Estufa esterilizada de 5°C a 220°C. (Tecnal).
- Microscopio Óptico Compuesto (Nikon Eclipse E200).
- Incubadora bacteriana (Binder).
- Jarra anaeróbica.
- Contador de colonias.
- Vernier digital.
- Cocina eléctrica.
- Mechero Bunsen.
- Hidrodestilador

### **3.3.3. Reactivos**

- Agar Mueller Hinton.
- Solución para medio de transporte.
- Agua destilada y suero fisiológico.
- Solución peptonada.
- Agar base nutriente para sangre.
- Caldo peptonado.
- Clorhexidina al 0.12%.

### **3.3.4. Materiales de vidrio de laboratorio**

- Placas Petri 15mm Ø
- Matraz Erlenmeyer de 250ml, 300ml y 500ml
- Tubos de ensayo

### **3.3.5. Materiales de laboratorio**

- Regla metálica milimetrada para medir espacios.



- Papel filtro.
- Hisopos estériles.
- Algodón.
- Jeringas desechables de 5ml
- Pipetas automáticas de 10  $\mu$ l
- Papel kraf.
- Papel aluminio.
- Papel filtro Whatman N°04

### **3.3.6. Elementos de bioseguridad**

#### **Barreras primarias:**

- Guantes quirúrgicos estériles
- Anteojos transparentes
- Mandil color blanco
- Gorra descartable
- Mascarilla desechable
- Mandilón descartable
- Botas descartables

#### **Materiales para manejo de residuos:**

- Detergente.
- Desinfectantes (hipoclorito al 7%)
- Jabón carbólico.
- Alcohol en gel de 70°
- Alcohol líquido de 70°
- Escobilla para lavado de manos.



### **3.3.7. Infraestructura**

Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

### **3.3.8. Elementos auxiliares de registro**

- Cámara fotográfica digital 12 mega píxeles
- Computadora
- Papel
- Lápiz
- Lapiceros
- Impresora.

## **3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.4.1. Población**

Cepas de *Streptococcus Mutans* obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano.

### **3.4.2. Muestra**

De tipo probabilístico, porque todas las muestras tienen la probabilidad de ser incluidas en la investigación.

Se realizó el estudio en 40 placas Petri con sembrado de *Streptococcus mutans* y un control positivo o negativo por cada placa.

## **3.5. CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA**

### **3.5.1. Criterios de inclusión**

- Placas con siembra adecuada de cepas *Streptococcus mutans*.

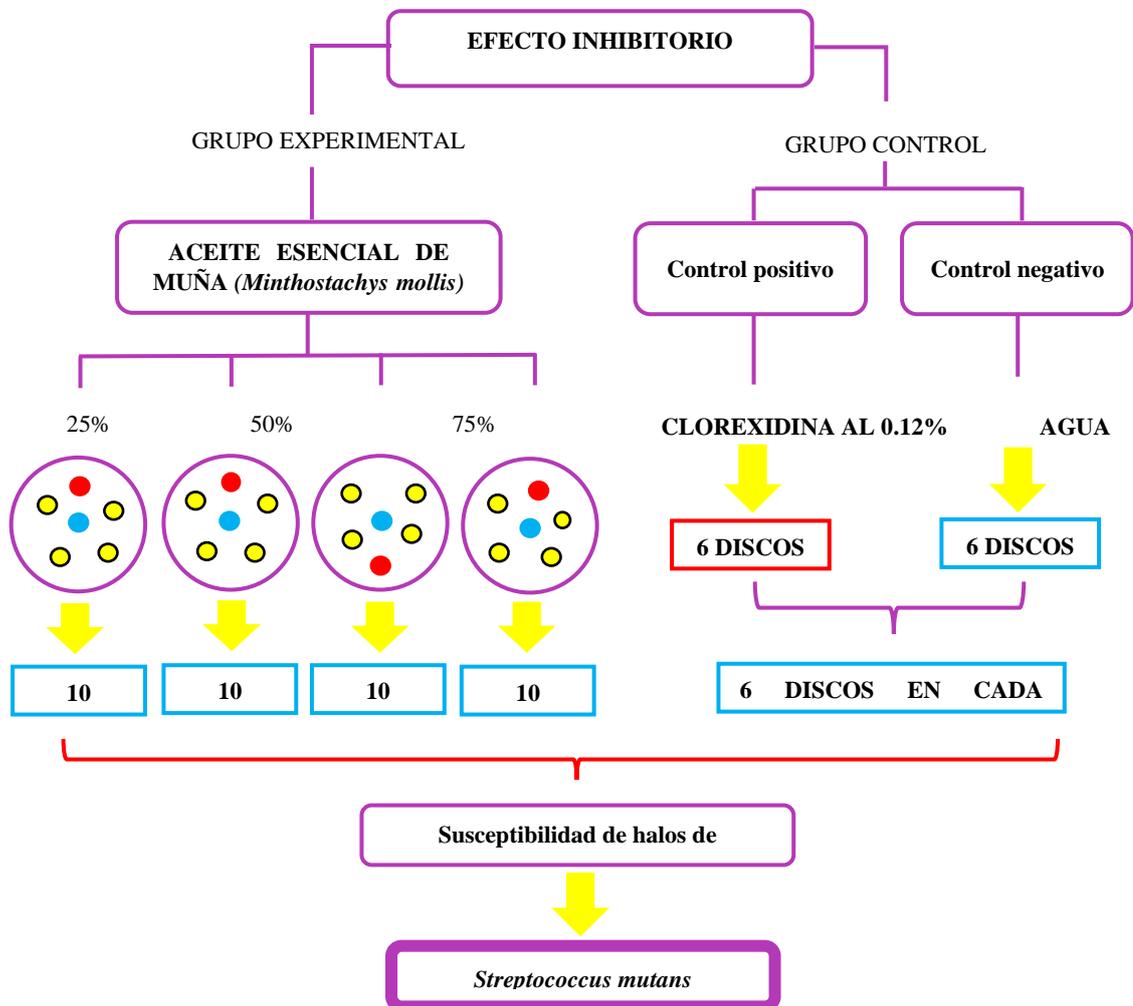
- Placas que después del proceso de incubación presentaron halos de inhibición en óptimas condiciones.

### 3.5.2. Criterios de exclusión

- Placas que después del proceso de incubación no mostraron halos de inhibición por defectos de técnica de laboratorio.

## 3.6. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.6.1. Diseño experimental





El presente estudio tiene un diseño experimental de tipo “experimento puro”, con un tratamiento “**Aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*)**” en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, y 10 repeticiones para las concentraciones teniendo así 40 unidades experimentadas más un grupo control positivo (clorhexidina al 0.12%) y negativo (agua destilada) todos estos trabajados frente a la cepa del *Streptococcus mutans*.

### 3.6.2. Tipo de la investigación

- **Según la intervención del investigador:** Experimental por que posee todos los elementos de un experimento, excepto que los sujetos no se asignan aleatoriamente a los grupos. En ausencia de aleatorización, el investigador se enfrenta con la tarea de identificar y separar los efectos de los tratamientos del resto de factores que afectan a la variable dependiente <sup>38</sup>
- **Según la planificación de la toma de datos:** Prospectivo cuando una vez establecido el inicio del estudio se realiza un seguimiento de la población en el tiempo. <sup>39</sup>
- **Según el periodo y secuencia del estudio:** Longitudinal cuando la respuesta es observada en t ocasiones de tiempo, los datos de medidas repetidas reciben el nombre de datos longitudinales. <sup>38</sup>
- **Según el número de variables:** Analítico porque pretende “descubrir” una hipotética relación entre algún factor de riesgo y un determinado efecto, es decir, pretenden establecer una relación causal entre dos fenómenos naturales. <sup>39</sup>



### 3.6.3. Nivel de la investigación

El estudio pertenece al nivel de investigación explicativo, porque los estudios explicativos van más allá de la descripción de conceptos o fenómenos o del establecimiento de relaciones entre conceptos; están dirigidos a responder a las causas de los eventos físicos o sociales. Como su nombre lo indica, su interés se centra en explicar por qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se da éste, o por qué dos o más variables están relacionadas.<sup>32</sup>

## 3.7. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 3.7.1. Obtención de la planta

- Se recolecto los tallos con flores de muña (*Minthostachys mollis*), de la localidad de Salcedo – Jallihuaya ubicada en el departamento de Puno, los cuales serán conservados a temperatura ambiente.
- Se obtuvo en bolsas estériles desde el lugar de recolección hasta el lugar de almacenamiento.
- Se almaceno en un ambiente fresco y libre de contaminación para una mayor conservación del producto vegetal.

### 3.7.2. Obtención del aceite de muña (*Minthostachys mollis*)

Para ello se colocó 20 gr de “muña” en cada canastilla de una autoclave, asegurando que no esté en contacto directo con el agua; luego, se calentó hasta el desprendimiento de vapor de agua conteniendo el aceite esencial a través de los refrigerantes de vidrio, siendo recolectados en una pera de decantación; se dejó en reposo hasta observar la separación del agua y del aceite, procediéndose luego a su decantación. El aceite obtenido fue sometido a desecación con sulfato de sodio anhidro; luego fue filtrado con ayuda de una bomba de vacío, finalmente el aceite se



depositó en frasco oscuro cerrado herméticamente que fue almacenado en refrigeración hasta su uso.<sup>40</sup>

### 3.7.3. Obtención de las muestras y productos de experimentación

#### A. Grupos experimentales

- Grupo experimental 1 (GE<sub>1</sub>): Aceite de muña (*Minthostachys mollis*), al 25%
- Grupo experimental 2 (GE<sub>2</sub>): Aceite de muña (*Minthostachys mollis*), al 50%
- Grupo experimental 3 (GE<sub>3</sub>): Aceite de muña (*Minthostachys mollis*), al 75%
- Grupo experimental 4 (GE<sub>4</sub>): Aceite de muña (*Minthostachys mollis*), al 100%

#### B. Grupos controles

- Grupo control positivo (GC+): Clorhexidina al 0.12%.
- Grupo control negativo (GC-): Agua destilada.

### 3.7.4. Obtención de la bacteria indicadora

#### A. Preparación del medio de transporte

- Se pesaron las siguientes sustancias:
  - a. Peptona 4g.
  - b. Agua destilada 100 ml.
- Se mezcló en el matraz de Erlenmeyer de 500 ml.
- Se repartió 10 ml de la solución en 10 tubos de ensayo con tapa rosca.

#### B. Recolección de la muestra de experimentación para la cepa del *Streptococcus mutans*.<sup>41</sup>

La muestra se obtuvo de un paciente de sexo femenino con una edad de 32 años, con diagnóstico de caries múltiple que acude al consultorio odontológico “FRESIDENT” ubicada en Jr. Arequipa N° 345 segundo piso oficina 201, se tomó la



muestra con hisopos estériles de la cara ocluso-vestibular de los molares (caries de dentina), estos fueron trasladados en tubos de ensayo con contenido de la solución peptonada que sirve como medio de transporte. Luego llevados a la incubadora por 24 horas a 37°C.

### **C. Preparación del agar sangre**<sup>42</sup>

1. Se pesaron las siguientes sustancias:
  - Agar Base Sangre 4 gr.
  - Agua destilada 200 ml.
2. En un matraz de Erlenmeyer 500 ml se mezcló, 200 ml de agua destilada con 4 gr. Agar Mueller Hinton hasta obtener una disolución homogénea.
3. Se ajustó el pH, porque las bacterias exigen una reacción neutra o ligeramente alcalina pH 6,8 - 7,2; ya que un pH alto o bajo retarda o inhibe el crecimiento de las bacterias. Para determinar el pH, se determinó el pH con el papel indicador universal de pH.
4. Se esterilizó 200 ml de agar nutritivo a 15 libras de presión/pulgada a 121 °C durante 20 minutos, luego se dejó enfriar hasta 45°C.
5. Posteriormente se adiciono asépticamente sangre en proporción del 5% del total de la solución, se agitó suavemente la mezcla antes de que endurezca.
6. A continuación, se distribuyó en 5 placas Petri, gelificó, hasta que el color se tornó rojo - cereza.
7. Se almacenó hasta el momento de su uso.

### **D. Aislamiento de las cepas de *Streptococcus mutans*.**<sup>43</sup>

1. Se esterilizó el Asa de Kolle por flameo y se dejó enfriar.



2. Se tomó el tubo de ensayo, dándole una leve inclinación se destapo cuidadosamente para evitar la contaminación con microorganismos del medio ambiente.
3. Sin tocar las paredes, se introdujo el Asa de Kolle en el tubo de ensayo y se cargó con la suspensión, luego se retiró el asa.
4. Inmediatamente se tomó la placa con el medio de cultivo sólido estéril, se destapó con cuidado y se aplicó el método de siembra por estría por agotamiento.
5. Se repitió el procedimiento con las 5 placas Petri.
6. Se rotularon las placas.
7. Se llevó a la jarra anaeróbica por 48 horas dentro de la incubadora a 37°C.
8. Transcurrido el tiempo se observó el desarrollo del microorganismo.
9. De las cuales se escogió dos placas Petri con mayor desarrollo y crecimiento bacteriano de *Streptococcus Mutans*.

### 3.7.5. Reconocimiento microscópico y pruebas bioquímicas de *Streptococcus mutans*

#### A. Coloración gram <sup>43</sup>

- Frotis en la lámina portaobjeto, se fijó al calor y se dejó enfriar la lámina antes de colorear.
- Se colocó el portaobjeto con la muestra en la bandeja de coloración y se bañó la superficie con gotas de cristal violeta durante 1 min.
- Se lavó con agua de destilada y se bañó con lugol durante un minuto, luego se enjuagó con agua destilada.



- Se echó alcohol cetona pasada para decolorar, luego se lavó con agua destilada, por último, se bañó con colorante de contraste safranina por un minuto, posteriormente se lavó con agua destilada.
- Se examinó la lámina coloreada al microscopio con objetivo 100x de inmersión (aceite) y se observó los aspectos culturales de la colonia y estructura bacteriana.

### **B. Pruebas bioquímicas**

- Prueba de catalasa: Se colocó una gota de peróxido de hidrogeno al 3% en un portaobjetos de microscopio y posteriormente con el asa bacteriológica se tomó un poco de bacteria a partir de una colonia aislada.
- se agito la colonia en el peróxido de hidrogeno
- Se visualizó si aparecen o no burbujas
- Se catalogó al microorganismo como catalasa negativa

### **C. Prueba inmunológicas**

Se registra halos de hemolisis parcial catalogada como  $\alpha$  hemolítico.<sup>44</sup>

#### **3.7.6. Prueba de susceptibilidad microbiana por el método de difusión en agar según kirby bauer.**

Una vez seleccionadas las dos placas Petri con mayor desarrollo y crecimiento de *Streptococcus mutans*. Se aisló la bacteria en dos tubos de ensayo con solución peptonada, para ser sembrados nuevamente en diez placas Petri con medio de cultivo Agar Sangre. Pasadas las 24 horas se seleccionó la placa Petri con mayor desarrollo y crecimiento bacteriano la que posteriormente fue utilizada para la prueba de susceptibilidad microbiana.



### **3.7.6.1.Preparación del agar muller hinton <sup>45</sup>**

Se preparó el medio de cultivo en un matraz de Erlenmeyer 500ml mezclando 400 ml de agua destilada con 15.2 gr. Agar Mueller Hinton hasta obtener una disolución homogénea y posteriormente se colocó en la autoclave y se dejó enfriar. Finalmente se repartió el medio en 40 placas Petri.

### **3.7.6.2.Preparación del estándar 0.5 MC Farland para el inocuo<sup>46</sup>**

El inóculo del *Streptococcus Mutans*, fue preparado en tubos de prueba, suspendiendo las colonias puras aisladas en 9 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de Mac Farland, que corresponde a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  alfa unidades formadoras de colonias de *Streptococcus Mutans* por 1ml (UFC/ml).

### **3.7.6.3.Inoculación de las placas por el método de agotamiento en estria.**

Se inoculó con el contenido de *Streptococcus Mutans* del tubo de ensayo, distribuyéndolos en a las placas Petri con el agar Muller Hilton, realizando líneas en forma de estrías en tres direcciones para asegurar la distribución uniforme, repitiendo el procedimiento en las 40 placas Petri.

### **3.7.6.4.Aplicación de los discos por el metodo de kirby bauer**

Se realizó cinco pocillos separados uniformemente, se colocó los discos de papel filtro dentro de los pocillos con la ayuda de una pinza estéril. Seguidamente con una pipeta automática se suministró 10 $\mu$ l del Aceite de muña (*Minthostachys mollis*), al 25%, 50%, 75% y 100% dentro de los pocillos con papel filtro en 10 placas Petri cada tratamiento.



### **3.7.6.5. Incubación**

Para llevar a la incubadora se tuvo en reposo por un espacio de 30 minutos de todas las placas con los tratamientos. Pasado el tiempo se colocó las placas Petri dentro de la cámara de anaerobiosis en posición invertida. y luego se llevó a la incubadora a una temperatura de 37°C. Después de las 24 horas de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco sobre la bacteria *Streptococcus Mutans*.

### **3.7.6.6. Lectura de las placas de interpretación de los resultados**

Para la lectura e interpretación de resultados utilizamos un vernier metálico para medir los diámetros del área de inhibición completa incluyendo el diámetro del disco. El efecto inhibitorio se consideró en función al diámetro de los halos de inhibición del crecimiento del microorganismo según la escala de Durafford: nula (-) si es inferior o igual a 8 mm; sensibilidad limite (sensible = +) de 9 a 14 mm; media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm y sumamente sensible (S.S. = +++) si es igual o superior a 20 mm.

### 3.8. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES		DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIÓN	INDICADORES	VALOR	ESCALA
VARIABLE INDEPENDIENTE	ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA ( <i>Minthostachys mollis</i> ).	La muña es un recurso natural que tiene un plano altitudinal de crecimiento entre los 2500 – 3500 m.s.n.m. Habita entre los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía. <sup>14</sup>	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	Aceite esencial	25%	De intervalo (µl)
			Concentración mínima bactericida (CMB)		50%	
VARIABLE INTERVINIENTE (CONTROL)	CLOREXIDINA	La clorhexidina es un potente antiséptico del grupo de las bisguanidas que actúa eficaz y rápidamente como bactericidas sobre microorganismos Gram. (+) y (-) 31 ,pero poco eficaz sobre bacterias ácido resistentes hongos o virus. <sup>27</sup>	Bactericida	Concentración 0.12%	0.12%	
VARIABLE DEPENDIENTE	EFEECTO ANTIBACTERIANO SOBRE EL <i>Streptococcus mutans</i>	Microorganismo asociado a la caries dental, anaerobio facultativo, Gram positivo no móvil. <sup>32</sup>	Crecimiento bacteriano	Halo de inhibición	Medida de halo de inhibición en milímetros	De razón (mm)



### 3.9. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

#### 3.9.1. Técnica e instrumento de recolección de datos

##### 3.9.1.1. Técnica

- Observación directa.

##### 3.9.1.2. Instrumento

- **Documental:** Fichas de recolección.
- **Mecánico:** Vernier digital.

En la ficha de recolección de datos Se registró, ordenó y clasificó los datos obtenidos del efecto inhibitorio sobre Streptococcus Mutans según el tiempo determinado de cada placa Petri Para lo cual se tomó los siguientes criterios para el procesamiento de datos:

- **Ordenamiento**

Los datos obtenidos en la ficha de recolección de datos, fueron clasificados de acuerdo a la matriz de sistematización, que es un consolidado general de datos.

- **Tabulación**

Los datos ordenados en la matriz de sistematización de datos, fueron transferidos a los cuadros de entrada doble, las cuales sirvieron de base para su distribución numérica y porcentual.

- **Análisis e interpretación de datos**

Cada uno de los cuadros está debidamente ordenado según los análisis estadísticos para ser interpretados. En los pruebas estadísticas de t, la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA)<sup>46</sup> y la prueba de comparación de Tukey<sup>47</sup>, se considera los resultados de dispersión del

análisis de datos, los niveles de significancia y la prueba de contraste para ver la diferencia entre efecto mínimo y máximo inhibitorio con relación a la clorhexidina del 0.12%.

### 3.9.2. Procedimiento y análisis de datos

Se utilizó la prueba de t para calcular la diferencia entre la media de los promedios de halo de inhibición de las diferentes concentraciones de pruebas y la media hipotética en relación con la variabilidad de los halos de inhibición. Por lo que, mayor sea la diferencia y menor sea la variabilidad de la muestra, mayor será la probabilidad de que la media de la población difiera significativamente de la media hipotética. Se empleó la prueba de contraste TUKEY<sup>48</sup> entre los grupos de estudio, para establecer si hay diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de pruebas. Se utilizó el Análisis de varianza ANOVA<sup>46</sup> para evaluar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de halo inhibición y los efectos conjuntos de dos o más variables, un valor de  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

**Análisis de t**<sup>46</sup>: es la prueba estadística para evaluar la hipótesis nula de la media del halo de inhibición (diámetro del halo en mm de *Streptococcus Mutans*) es igual a un valor específico, con la siguiente formula:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}}$$

- t = prueba t para muestra única
- x = media muestral
- S = desviación estándar
- n = tamaño de repeticiones (mm)



**Análisis de varianza**<sup>48</sup>: es la prueba estadística de significancia que analiza la hipótesis que las medidas de dos o más repeticiones son iguales, evalúa la importancia de uno o más factores al comparar las medidas de la variable de distintos tratamientos siendo la formula lineal la siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_j + E_{ij}$$

- $Y_{ij}$ : variable objeto de estudio (mm)
- $\mu$ : Constante que indica la respuesta media de cada nivel
- $t_j$ : Efecto diferencial de nivel "j" recoge información de cada tratamiento. Que es el objetivo del análisis.
- $E_{ij}$ : Terminó error considerado, como variable aleatoria.

**Contraste de Tukey**<sup>48</sup>: utilizado para probar todas las diferencias entre medias de tratamiento, la única exigencia es que el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos.

$$W = q(t, glee, \alpha) \times \sqrt{CMee/r}$$

- $q$  = amplitud total estudentizada. Valor encontrado en tabla
- $\alpha$  = nivel de significancia.
- $t$  = número de tratamientos.
- $Glee$ : grado de libertad del error experimental.
- $CMee$ : Cuadro medio del error experimental.
- $r$ : número de repeticiones de las medidas de los tratamientos.

**El SPSS**<sup>49</sup>: es una potente aplicación de análisis estadísticos de datos, dotada de una intuitiva interfaz gráfica que resulta muy fácil de manejar. Respecto a su capacidad de procesamiento de datos, baste decir que es capaz de manejar ficheros



de datos con más de 30000 variables y cualquier tamaño de casos, únicamente limitada por la capacidad de almacenamiento de los discos de nuestro ordenador.

- Este paquete se utilizó para obtener los resultados de nuestra investigación.

### **3.10. Consideraciones éticas**

- Solicitud dirigida al Laboratorio de Microbiología.
- Constancia de haber ejecutado el proyecto en el Laboratorio de Parasitología y Microbiología de la Escuela Profesional de Medicina Humana.
- Consentimiento informado del paciente.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADO Y DISCUSIÓN

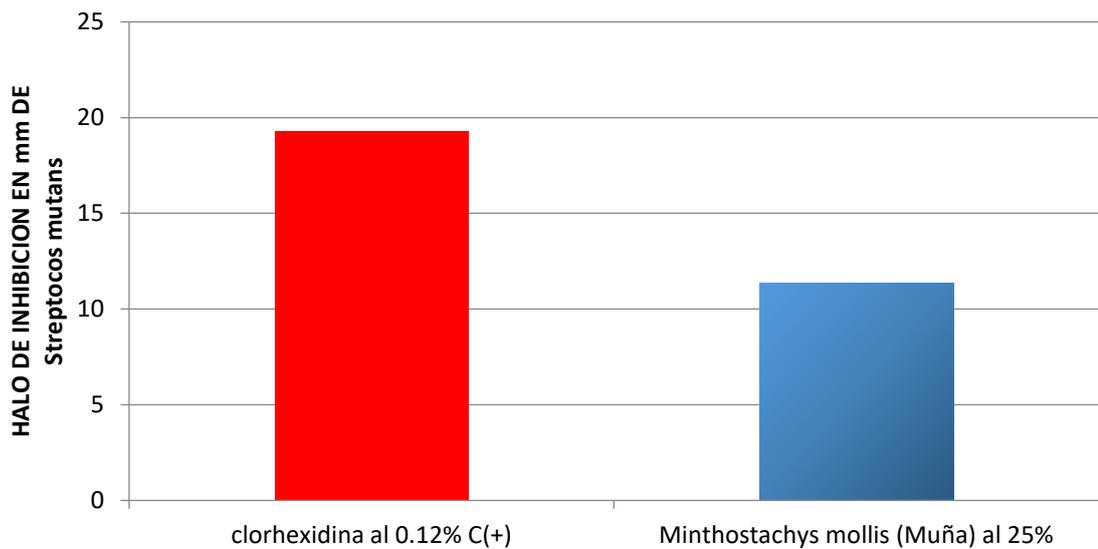
#### 4.1. RESULTADO

**Tabla 1:** Prueba de T para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) AL 25% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, PUNO 2020.

ESTADISTICO PRUEBA DE T	EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 25% COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> , CONTROL POSITIVO clorhexidina al 0.12% y CONTROL NEGATIVO agua destilada.		
	25%	Control positivo	Control negativo
PROMEDIO	11.377	19.276	0
DESVIACION ESTANDAR	0.227	0.056	0
LIMITE INFERIOR	11.06	19.19	0
LIMETE SUPERIOR	11.79	19.37	0
T CALCULADO	102.711		0
PROBABILIDAD ( IC=95% P<0.05)	0.000	0.000	0

#### INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 1 se puede apreciar que la determinación de la asociación de dos variables en el crecimiento bacteriano, el halo de inhibición a razón de 25.00 % es significativo estadísticamente. Se tiene una mediana de 11.377, desviación estándar 0.227, T\_Student de 102.711, como límite inferior 11.06 y el límite superior 11.79; mientras que la clorhexidina al 0.12% tiene una mediana de 19.276, desviación estándar 0.056, con 9 Grados de Libertad, y un valor de P=0.000 al 95% IC de intervalo de confianza, siendo su límite inferior de 19.19 y el límite superior es de 19.37.



**Figura 1:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 25% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria.

#### **INTERPRETACION:**

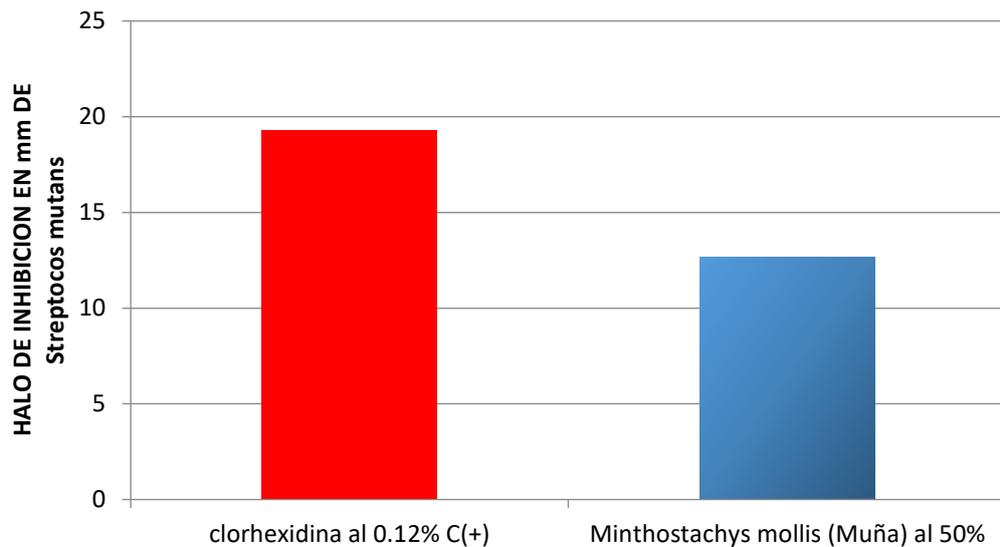
En la figura N° 1 se observa el diagrama de barras de la prueba estadística de Tukey alfa = 0.05 HSD = 0.30 Error Experimental 0.06 y gl. 36 Con una Varianza (factor F) 0.105, no existe una diferencia significativa en relación a la aplicación de clorhexidina al 0.12% como grupo positivo frente a la aplicación de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con respecto al halo de inhibición, donde se aprecia que la primera barra corresponde a la aplicación de clorhexidina al 0.12% teniendo un mayor efecto antibacteriano en relación a *Minthostachys mollis* (muña) 25% frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, que se aprecia en la segunda barra.

**Tabla 2:** Prueba de T para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) AL 50% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, Puno 2020.

ESTADISTICO PRUEBA DE T	EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 50% COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> , CONTROL POSITIVO clorhexidina al 0.12% y CONTROL NEGATIVO agua destilada.		
	50%	Control positivo	Control negativo
PROMEDIO	12.67	19.276	0
DESVIACION ESTANDAR	0.126	0.056	0
LIMITRE INFERIOR	12.442	19.19	0
LIMETE SUPERIOR	12.855	19.37	0
T CALCULADO	162.284		0
PROBABILIDAD ( IC=95% P<0.05)	0.000	0.000	0

### INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 02 se puede apreciar que la determinación de la asociación de dos variables el crecimiento bacteriano el halo de inhibición a razón de 50% es significativo estadísticamente. Se tiene una mediana de 12.67, desviación estándar 0.126, T\_Student de 162.284, como límite inferior 12.442 y el límite superior 12.855; mientras que la clorhexidina al 0.12% con una mediana de 19.276, desviación estándar 0.056, con 9 Grados de Libertad, valor de P=0.000 al 95% IC de intervalo de confianza, siendo su límite inferior de 19.19 y el límite superior es de 19.37.



**Figura 2:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) al 50% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria.

### INTERPRETACION:

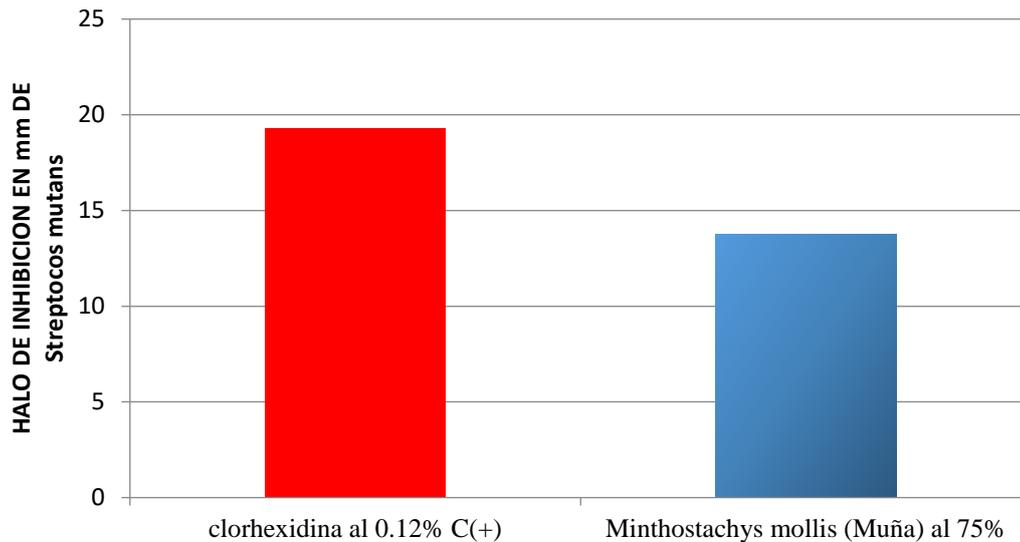
En la figura N° 02 se observa el diagrama de barras de la prueba estadística de Tukey  $\alpha = 0.05$  HSD = 0.28 Error Experimental 0.05 y gl. 36 Con una Varianza (factor F) 8.08, existiendo una diferencia significativa en relación a la aplicación de clorhexidina al 0.12% como grupo positivo frente a la aplicación de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con respecto al halo de inhibición, donde se aprecia que la primera barra correspondiente a la aplicación de clorhexidina al 0.12% teniendo un mejor efecto antibacteriano en relación a *Minthostachys mollis* (muña) 50% frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, que se aprecia a la segunda barra.

**Tabla 3:** . Prueba de t para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña al 75% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, Puno 2020.

ESTADISTICO PRUEBA DE T	EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA AL 75% COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> , CONTROL POSITIVO CLORHEXIDINA AL 0.12% Y CONTROL NEGATIVO AGUA DESTILADA.		
	75%	Control positivo	Control negativo
PROMEDIO	13.76	19.276	0
DESVIACION ESTANDAR	0.182	0.056	0
LIMITRE INFERIOR	13.442	19.19	0
LIMETE SUPERIOR	13.982	19.37	0
T CALCULADO	104.379		0
PROBABILIDAD ( IC=95% P<0.05)	0.000	0.000	0

### INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 03 Se determina la asociación de dos variables el crecimiento bacteriano el halo de inhibición a razón de 75% es significativo estadísticamente. Con una mediana de 13.76, desviación estándar 0.182, T\_Student de 104.379, límite inferior 13.442 y el límite superior 13.982 y la clorhexidina al 0.12% con una mediana de 19.276, desviación estándar 0.056, con 9 Grados de Libertad, valor de P=0.000 al 95% IC de intervalo de confianza, límite inferior de 19.19 y el límite superior es de 19.37.



**Figura 3:** Prueba estadística de contraste de Tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) AL 75% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria.

### INTERPRETACIÓN ESTADÍSTICA

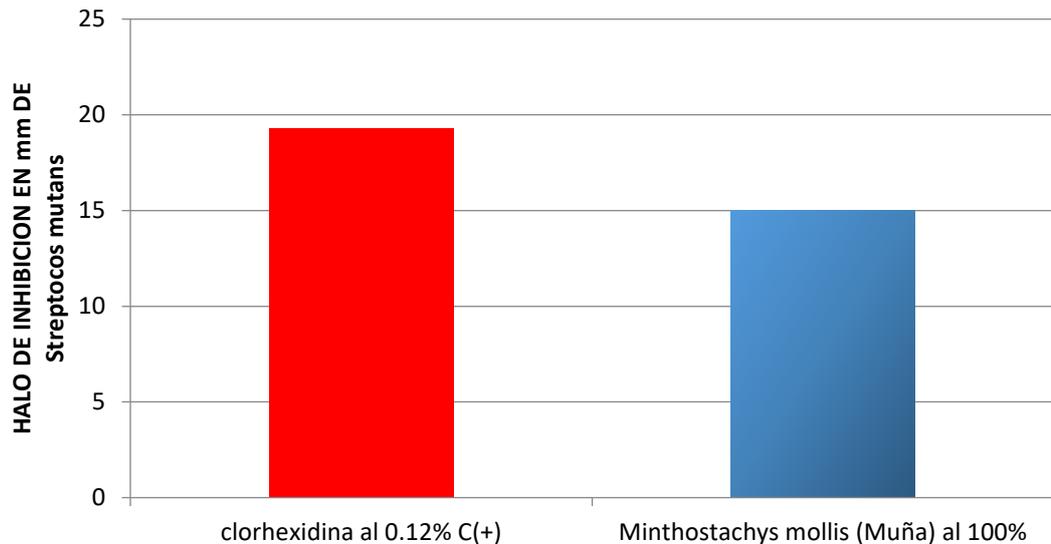
En la figura N° 03 a través del análisis de datos el diagrama de barras de la prueba estadística de Tukey  $\alpha = 0.05$  HSD = 0.25 Error Experimental 0.04 y gl. 36 Con una Varianza (factor F) 41.86, existiendo una diferencia significativa en relación a la aplicación de clorhexidina al 0.12% como grupo positivo con la aplicación de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con respecto al halo de inhibición, donde se aprecia que la primera barra correspondiente a la aplicación de clorhexidina al 0.12% teniendo un mejor efecto antibacteriano en relación a *Minthostachys mollis* (muña) 75% frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, que se aprecia a la segunda barra.

**Tabla 4:** Prueba de t para el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) AL 100% comparado con la clorhexidina al 0.12% en cepas de *Streptococcus mutans*, Puno 2020.

ESTADISTICO PRUEBA DE T	EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA ( <i>Minthostachys mollis</i> ) AL 100% COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i> , CONTROL POSITIVO CLORHEXIDINA AL 0.12% Y CONTROL NEGATIVO AGUA DESTILADA.		
	100%	Control positivo	Control negativo
PROMEDIO	14.99	19.276	0
DESVIACION ESTANDAR	0.237	0.056	0
LIMITRE INFERIOR	14.535	19.19	0
LIMETE SUPERIOR	15.337	19.37	0
T CALCULADO	66.429		0
PROBABILIDAD ( IC=95% P<0.05)	0.000	0.000	0

### INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 04 se determina la asociación de dos variables el crecimiento bacteriano el halo de inhibición a razón de 100% es significativo estadísticamente. Con una mediana de 14.99, desviación estándar 0.237, T\_Student de 66.429, límite inferior 14.535 y el límite superior 15.337 y la clorhexidina al 0.12% con una mediana de 19.276, desviación estándar 0.056, con 9 Grados de Libertad, valor de P=0.000 al 95% IC de intervalo de confianza, límite inferior de 19.19 y el límite superior es de 19.37.



**Figura 4:** Prueba estadística de contraste de tukey a una probabilidad de 0.05 del efecto antibacteriano del aceite esencial de la muña (*Minthostachys mollis*) al 100% con el control positivo clorhexidina al 0.12% frente a la bacteria

#### **INTERPRETACION:**

En la figura N° 04 a través del análisis de datos el diagrama de barras de la prueba estadística de Tukey  $\alpha = 0.05$  HSD = 0.32 Error Experimental 0.06 y gl. 36 Con una varianza (factor f) 10.68, existiendo una diferencia significativa en relación a la aplicación de clorhexidina al 0.12% como grupo positivo con la aplicación de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con respecto al halo de inhibición, donde se aprecia que la primera barra correspondiente a la aplicación de clorhexidina al 0.12% teniendo un mejor efecto antibacteriano en relación a *Minthostachys mollis* (muña) 100% frente a la bacteria *Streptococcus mutans*, que se aprecia a la segunda barra.

## 4.2. DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con la clorhexidina al 0.12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, determinándose que la concentración mínima inhibitoria al 25% *in vitro* tiene una mediana de 11.377 mm, la es cual es similar al estudio realizado por Aigaje A, (2017) Quito - Ecuador (9), quien obtiene a la misma concentración al 25 % un halo promedio de 11.2 mm, mientras que Bonifacio U. (2019) Trujillo – Perú (11) , obtiene a la misma concentración al 25 % un halo promedio de 17,9 mm el cual difiere con nuestro resultados probablemente debido a las condiciones de cultivo y enriquecimiento de sus suelos con respecto a nuestra región, lo cual repercute en el crecimiento y producción de metabolitos por parte de la planta, por otro lado Huari G, (2014) Lima – Perú (13), en su concentración de 25 % obtiene un promedio de 5mm la cual resulta inferior a nuestros resultados, con ello podemos considerar que nuestra aceite esencial es mejor.

Con respecto a la concentración del 50 % hemos obtenido un promedio de 12.67 halo de inhibición mientras que Aigaje A, (2017) Quito - Ecuador (9), alcanzó una media de 9.6 mm la cual es inferior a nuestros resultados obtenidos; frente al estudio realizado por Quichca J. (2016) Lima – Perú (12) y Huari G, (2014) Lima – Perú (13), obtienen como resultado al 50% promedio de 6.72mm y 7,6 mm respectivamente, los cuales son inferiores a nuestros resultados que podrían deberse a las condiciones debido a las condiciones de cultivo y enriquecimiento de sus suelos con respecto a nuestra región, lo cual repercute en el crecimiento y producción de metabolitos por parte de la planta.

En la concentración al 75% se ha obtenido un promedio 13.76 de halo de



inhibición no han considerado dentro de los estudios en la concentración del 75%.

Por ultimo en nuestra concentración del 100% se obtiene un promedio de 14.99 de diámetro de halo de inhibición que en comparación a Aigaje A, (2017) Quito - Ecuador (9), obtiene un resultado similar obteniendo un promedio de 13, 6 mm de diámetro; y Quichca J. (2016) Lima – Perú (12) obtiene un menor hablo de inhibición frente a nuestro estudio ya que su promedio es de 10.81 mm.

Según nuestros resultados y comparados con otras investigaciones podemos considerar que nuestro aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) tiene mejor efecto inhibitoria que otra otras investigaciones desarrolladas a excepción de los trabajos Aigaje A, (2017) Quito - Ecuador (9), con quien tenemos similitud en los halos de inhibición desarrollados, lo cual según los demás estudios realizados podría deberse a las condiciones de cultivo y enriquecimiento de sus suelos con respecto a nuestra región, lo cual repercute en el crecimiento y producción de metabolitos por parte de la planta.



## V. CONCLUSIONES

- En la concentración del 25% de aceite esencial *Minthostachys mollis* frente a *Streptococcus mutans* se ha obtenido un promedio 11.377mm. de halo de inhibición, mientras que con la clorhexidina al 0.12% se obtuvo un promedio de 19.276mm. de halo de inhibición; considerándose que la prueba se encuentra dentro del rango de eficacia según la T\_Student. Sin embargo, no existe una diferencia significativa con relación a la aplicación de clorhexidina al 0.12% para Tukey. Mientras que estadísticamente es significativo pues existe una relación del crecimiento bacteriano con respecto al halo de inhibición en razón del 25% comparado con la clorhexidina al 0.12% en la cepa de *Streptococcus mutans*, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, en la cual consideramos que *Minthostachys mollis* al 25% se encuentra dentro del rango de eficacia que la clorhexidina al 0.12%.
- En la concentración del 50 % de aceite esencial *Minthostachys mollis* frente al *Streptococcus mutans* se ha obtenido un promedio 12.67mm de halo de inhibición, mientras que la clorhexidina al 0.12% tuvo un promedio de 19.276mm de halo de inhibición; considerándose que la prueba de encuentra dentro del rango de eficacia según la T\_Student.
- En la concentración del 75% de aceite esencial *Minthostachys mollis* frente al *Streptococcus mutans* se ha obtenido un promedio 13.76mm de halo de inhibición, mientras que la clorhexidina al 0.12% tuvo un promedio de 19.276mm de halo de inhibición; considerándose que la prueba de encuentra dentro del rango de eficacia según la T\_Student.
- En la concentración del 100% de aceite esencial *Minthostachys mollis* frente al *Streptococcus mutans* se ha obtenido un promedio 14.99mm, de halo de



inhibición, mientras que la clorhexidina al 0.12% tuvo un promedio de 19.276mm de halo de inhibición; considerándose que la prueba demuestra un mejor efecto antibacteriano se encuentra dentro del rango de eficacia según la T\_Student.

- Estadísticamente no es significativo ya que no existe una relación entre el crecimiento bacteriano y el halo de inhibición en razón al 50.00 %, 75.00 % y 100% comparado con el 0.12% de clorhexidina en cepas de *Streptococcus mutans*, por lo que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.



## VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el estudio del efecto antibacteriano del aceite esencial *Minthostachys mollis* para determinar la eficacia y efectividad del aceite esencial en organismos vivos.
2. continuar el estudio sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial *Minthostachys mollis* frente a otras cepas patógenas de la boca.
3. Realizar estudios con infusión y extracto del *Minthostachys mollis* comparando con el aceite esencial en diferentes concentraciones para analizar la eficacia antimicrobiana, tolerancia y seguridad.
4. Considerar el sexo la planta, debido a las diferencias que existen en sus tamaños de sus hojas grandes (hembra) y pequeñas (macho).
5. Tomar en cuenta la procedencia de la planta, ya que depende del enriquecimiento de los suelos que son cultivadas.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ESPINOZA SOLANO, Miguel y LEON-MANCO, Roberto Antonio. Prevalence and experience of dental caries in different faculty students at peruvian private university. Rev. Estomatol. Herediana [online]. 2015, vol.25, n.3, pp.187-193. ISSN 1019-4355.
2. Serrano-Coll HA, Sánchez-Jiménez M, Cardona-Castro N. Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. CES odontol. 2015;28(2):112-8.
3. Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. Dent Res J (Isfahan). 2014;11(3):291-301.
4. Calixto Cotos MR. lil-619717 @ pesquisa.bvsalud.org. 2006. p. 85.
5. Figueroa Gordon M, Alonso G, Acevedo A. Microorganismos Presentes En Las Diferentes Etapas De La Progresión De La Lesión De Caries Dental. Acta Odontológica Venez. 2011;47(1).
6. Organización Mundial de la Salud. OMS | La OMS publica un nuevo informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales [Internet]. WHO. World Health Organization; 2013 [cited 2021 May 15]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/re.opac-detail@catalogo.ucateci.edu.do>.
7. Vicente O. INVESTIGACION. Univ Nac Federico Villarreal. 2018;1(COMPARACION DEL SELLADO APICAL IN VITRO DE UN CEMENTO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS Y ÓXIDO DE ZINC CON CEMENTO TIPO GROSSMAN):52.
8. Organización Mundial de la Salud. OMS | La OMS publica un nuevo informe sobre



- el problema mundial de las enfermedades bucodentales [Internet]. WHO. World Health Organization; 2013 [cited 2020 May 16]. Available from: [@ Wwww.Minsa.Gob.Pe.](http://www.who.int/mediacentre/news/re.Preencion_2)
9. Cabrera E. Scielo @ Scielo.Sld.Cu. Vol. 25, Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 2006. p. 1.
  10. Aigaje-sierra AI, Zurita-sol MK. Ciencias Médicas (ODONTOLOGÍA) Artículo Científico. 2017;3:3-20.
  11. Torrenegra-Alarcón M, Granados-Conde C, Durán-Lengua M, León-Méndez G, Yáñez-Rueda X, Martínez C, et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from. Orinoquia. 2016;20(1):69-74.
  12. Uriol RMB. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *rosmarinus officinalis* (romero) sobre el *streptococcus mutans atcc 25175*. Univ Nac Trujillo. 2019;1-14.
  13. Mendoza Quichca JC. Grado de eficacia del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro. lima 2016". 2017;1-75.
  14. Huari Guerrero GM. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. 2014;
  15. 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 mutan* y *Porphyromonas gingivalis*.PUNO



- 2013):1-76.
16. Fitoterapia L. Cañihual S. La fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia. 2014; 2 (2): 101-121.
  17. Pachuco F. Uso de plantas medicinales como analgésico antiinflamatorio en la parroquia Quisapincha comunidad Pucara Chico. (Tesis). Universidad técnica de Ambato. Ecuador. 2018.
  18. Morales Miranda L, Gómez Gonzáles W. Caries dental y sus consecuencias clínicas relacionadas al impacto en la calidad de vida de preescolares de una escuela estatal. Rev Estomatológica Hered. 2019;29(1):17.
  19. Sánchez AG, Naranjo TM, Betancourt NA, Palanco JAR, Martínez AM. Dental caries and risk factors present in young adults. Rev Cubana Estomatol. 2009;46(3):30-7.
  20. VAN GINKEL A. Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB. Univ Politécnica Madrid. 1998;(Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales.):66-75.
  21. De Odontología F, De Odontología EAP, Guerrero H, Medalith G. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* (MUÑA) EN *Streptococcus mutans* TESIS Para optar el Título Profesional de CIRUJANO DENTISTA AUTOR. 2014.
  22. Badui Dergal S. Salvador Badui Dergal. Química de los alimentos. 2006. 738 p.
  23. Azapa Espinoza IL. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en ... 2010;
  24. Barba Carrión BE. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (MUÑA), sobre *Salmonella* comparado con Cotrimoxazol.



- 2019;
25. la-muna-menta-de-los-andes @ www.promueveperu.com.
  26. Alzamora L, Morales L, Fernández G. Medicina tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. An la Fac Med Univ Nac Mayor San Marcos. 2001;62:156-61.
  27. Leon iInacio P. TRABAJO FIN DE GRADO EFICACIA , SEGURIDAD Y EFECTOS ADVERSOS DE LOS AGENTES QUÍMICOS Autor : Ignacio Pacho León Directora : Raquel Cámara Rico. :20.
  28. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales: Revisión de la literatura y perspectiva actual. Av en Periodoncia e Implantol Oral. 2006;18(1):31-59.
  29. Campo MA del. Scielo @ Scielo.Isciii.Es. 2016. p. 1-10.
  30. Bascones Martínez A, Mudarra Morantes S, Perea Pérez E. Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Av en Periodoncia e Implantol Oral. 2002;14(3).
  31. Paredes N. Efectividad antibacteriana in vitro de una infusión a base de *Camelia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta. 2009;71.
  32. Gamboa Jaimes FO. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of *Streptococcus mutans*: Research Experiences. Univ Odontol. 2015;33(71):76.
  33. Calisaya Chambi S, Coaquira Mamani N. Efecto inhibitorio del extracto de ajo (*Allium Sativum*)vs te verde (*Camelia Sinensis*)sobre *Strptpcoccus mutans* a las 24 y 48 horas ,puno - 2018. 2000;2006-11.
  34. Vásquez Ibarra S, Lobos Gilabert O, Padilla Espinoza C. Presencia de genes de virulencia *gtfB* y *spaP* en *Streptococcus mutans* aislados desde saliva y su relación



- con el índice COPD y ceod. Rev clínica periodoncia, Implantol y Rehabil oral. 2014;7(2):65-71.
35. Pérez Luyo AG. La Biopelícula : una nueva visión de la placa dental. Rev Estomatológica Hered. 2014;15(1).
  36. Cano C. Aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*), y sus propiedades Nutricionales. Artic . 2014;11-5.
  37. Puno GR. Caracterización del departamento de Puno. 2005;2:1-7.
  38. R. B. Diseños cuasi-experimentales y longitudinales.
  39. Veiga de Cabo J, De la Fuente E. Modelos de estudios en investigación aplicada: conceptos y criterios para el diseño. Med Segur Trab (Madr). 2010;54(210):81-8.
  40. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* «muña». CARLOS ALFREDO CANO PEREZ. 2007;50.
  41. Forbes BA, Bailey WR (William R, Scott EG, Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino EA. Bailey & Scott diagnóstico microbiológico. Panamericana; 2009.
  42. Valtek SA. h V 285-340 2. Agar Sangre En Base Infusión. 1943;1(562):2.
  43. Fortún J, Carratalá J, Gavaldá J, Lizasoain M, Salavert M, De La Cámara R, et al. Guidelines for the treatment of invasive fungal disease by *Aspergillus* spp. and other fungi issued by the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). 2011 Update. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(6):435-54.
  44. Gray C. Géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*. TEMAS Bacteriol Y Virología MÉDICA. 1995;153(8):1143-5.
  45. Massón M. Comparación de la efectividad antibacteriana de la *Stevia Rebaudiana* sobre *Streptococcus Mutans* y *Streptococcus Sanguinis*. Kiru.



- 2016;3(*Streptococcus mutans*):127.
46. Bakieva M, Gonzales J, Jornet J. SPSS: ANOVA de un factor. Gestión y análisis datos con SPSS. 2015;1-7.
  47. Fallas J. Análisis de varianza. Rev Chil Anest. 2014;43(4):306-10.
  48. Al I, La ADE. Capítulo 9 introducción al análisis de la varianza 9.1. :110-24.
  49. Abuin JM. Primeros Pasos en SPSS. Lab Estad. 2014;1-6.



## ANEXOS

### ANEXO N° 1

#### BASE DE DATOS

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña)				CLORHEXIDINA 0.12 %	AGUA DESTILADA
	25%	50%	75%	100%	Control Positivo	Control negativo
<b>D1</b>	11.16	12.53	13.83	14.94	19.32	0
<b>D2</b>	11.79	12.44	13.98	14.96	19.25	0
<b>D3</b>	11.71	12.66	13.77	15.15	19.31	0
<b>D4</b>	11.24	12.62	13.89	15.12	19.23	0
<b>D5</b>	11.32	12.75	13.97	15.24	19.37	0
<b>D6</b>	11.06	12.64	13.87	15.34	19.29	0
<b>D7</b>	11.43	12.67	13.44	14.54	19.19	0
<b>D8</b>	11.36	12.72	13.67	14.72	19.21	0
<b>D9</b>	11.28	12.86	13.53	14.94	19.31	0
<b>D10</b>	11.43	12.83	13.66	14.99	19.28	0

\* Validado y elaborado por: Yamilet Navarro Macedo



## ANEXO N° 2

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### ANÁLISIS DATOS DE ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

	0.25	0.5	0.75	1	Control Positivo
Media	11.377 Media	12.67 Media	13.7615 Media	14.992 Media	19.27675
Error típico	0.07195658 Error típico	0.04013519 Error típico	0.0576474 Error típico	0.0752614 Error típico	0.01770926
Mediana	11.3425 Mediana	12.6615 Mediana	13.80125 Mediana	14.9725 Mediana	19.285
Moda	#N/A Moda	#N/A Moda	#N/A Moda	#N/A Moda	#N/A
Desviación estándar	0.2275467 Desviación e	0.12691861 Desviación estándar	0.18229707 Desviación estándar	0.23799743 Desviación estándar	0.05600161
Varianza de la muestra	0.0517775 Varianza de l	0.01610833 Varianza de la muestra	0.03323222 Varianza de la muestra	0.05664278 Varianza de la muestra	0.00313618
Curtosis	0.05940984 Curtosis	-0.11087477 Curtosis	-0.78533024 Curtosis	0.27582323 Curtosis	-0.56792836
Coefficiente de asimetría	0.71043399 Coeficiente r	-0.24421154 Coeficiente de asimetría	-0.54104377 Coeficiente de asimetría	-0.55642044 Coeficiente de asimetría	0.00896766
Rango	0.73 Rango	0.413 Rango	0.54 Rango	0.8025 Rango	0.1825
Mínimo	11.06 Mínimo	12.4425 Mínimo	13.4425 Mínimo	14.535 Mínimo	19.19
Máximo	11.79 Máximo	12.8555 Máximo	13.9825 Máximo	15.3375 Máximo	19.3725
Suma	113.77 Suma	126.7 Suma	137.615 Suma	149.92 Suma	192.7675
Cuenta	10 Cuenta	10 Cuenta	10 Cuenta	10 Cuenta	10
Nivel de confianza(95.0%)	0.1627771 Nivel de con	0.0907921 Nivel de confianza(95.0%)	0.13040747 Nivel de confianza(95.0%)	0.17025311 Nivel de confianza(95.0%)	0.04006114

### PRUEBA DE T PARA MEDIAS

#### Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Dev. Desviación	Dev. Error promedio
Par 1	P_012	19.2760	10	0.05562	0.01759
	P_25	11.3780	10	0.22764	0.07198
Par 2	P_012	19.2760	10	0.05562	0.01759
	P_50	12.6720	10	0.12761	0.04035
Par 3	P_012	19.2760	10	0.05562	0.01759
	P_75	13.7610	10	0.18254	0.05772
Par 4	P_012	19.2760	10	0.05562	0.01759
	P_100	14.9940	10	0.23773	0.07518

#### Correlaciones de muestras emparejadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	P_012 & P_25	10	-0.167	0.646
	P_012 & P_50	10	0.199	0.582
Par 3	P_012 & P_75	10	0.419	0.229
	P_012 & P_100	10	0.683	0.030

#### Prueba de muestras emparejadas

		Media	Diferencias emparejadas			t	gl	Sig. (bilateral)
			Dev. Desviación	Dev. Error promedio	95% de intervalo de Inferior			
Par 1	P_012 - P_25	7.89800	0.24316	0.07690	7.72405	8.07195	102.711	9 0.000
Par 2	P_012 - P_50	6.60400	0.12869	0.04069	6.51194	6.69606	162.284	9 0.000
Par 3	P_012 - P_75	5.51500	0.16708	0.05284	5.39548	5.63452	104.379	9 0.000
Par 4	P_012 - P_100	4.28200	0.20384	0.06446	4.13618	4.42782	66.429	9 0.000



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CONTRASTE ANOVA Y DIFERENCIA DE VARIANZAS DE TUKEY,

### FACTOR AL 25%

Análisis de varianza de un factor

#### TUKEY

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	10	113.44	11.344	0.05209333
Columna 2	10	113.83	11.383	0.05864556
Columna 3	10	114.03	11.403	0.06024556
Columna 4	10	113.78	11.378	0.05664

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.01802	3	0.00600667	0.10555398	0.95630049	2.86626555
Dentro de los grupos	2.04862	36	0.05690611			
Total	2.06664	39				

Diferencia honestamente	<b>HSD</b>	0.30	Valor prueba	Valor de P
valor de Qalfa	<b>multiplicado</b>	4.04	0.105	0.956300
Cuadrado del error medio	<b>Mse</b>	0.06		
Tamaño de cada uno de los	<b>n</b>	10		

<b>Diferencia estadísticamente significativa</b>	<b>SI/NO</b>
	<b>NO</b>
Hipotesis nula	<b>acepta</b>
Hipotesis alterna	<b>rechazo</b>



## FACTOR AL 50%

Análisis de varianza de un factor

### TUKEY

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	10	127.28	12.728	0.04400444
Columna 2	10	129.25	12.925	0.05900556
Columna 3	10	125.39	12.539	0.07629889
Columna 4	10	124.88	12.488	0.01644

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.18674	3	0.39558	8.08341753	0.00030313	2.86626555
Dentro de los grupos	1.76174	36	0.04893722			
Total	2.94848	39				

Diferencia honestamente valor de Qalfa	<b>HSD</b> <b>multiplicador</b>	0.28 4.04	Valor prueba:	Valor de P
Cuadrado del error medio	<b>Mse</b>	0.05	8.08	0.0003
Tamaño de cada uno de los:	<b>n</b>	10		

Diferencia estadísticamente significativa

SI/NO

SI

Hipotesis nula

RECHAZA

Hipotesis alterna

ACEPTO



## FACTOR AL 75%

Análisis de varianza de un factor

### TUKEY

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	10	141.58	14.158	0.058973333
Columna 2	10	135.15	13.515	0.034938889
Columna 3	10	133.38	13.338	0.024751111
Columna 4	10	140.35	14.035	0.031716667

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4.72129	3	1.57376333	41.86097442	7.9398E-12	2.86626555
Dentro de lo	1.35342	36	0.037595			
Total	6.07471	39				
Diferencia h	<b>HSD</b>	0.25		Valor prueba F	Valor de P	
valor de Q	<b>multiplicador</b>	4.04		41.86	0.0003	
Cuadrado de	<b>Mse</b>	0.04				
Tamaño de c	<b>n</b>	10				

Diferencia estadísticamente significativa

SI/NO

SI

Hipotesis nula

RECHAZA

Hipotesis alterna

ACEPTO



## FACTOR AL 100%

Análisis de varianza de un factor

### TUKEY

#### RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	10	151.45	15.145	0.06222778
Columna 2	10	150.86	15.086	0.07471556
Columna 3	10	146.04	14.604	0.05651556
Columna 4	10	151.33	15.133	0.05935667

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2.0267	3	0.67556667	10.6886883	3.6186E-05	2.86626555
Dentro de los grupos	2.27534	36	0.06320389			
<b>Total</b>	<b>4.30204</b>	<b>39</b>				
Diferencia hosnestamer valor de Qalfa	<b>HSD multiplicador</b>	0.32 4.04		Valor prueba: 10.68	Valor de P 0.0000	
Cuadrado del error med	<b>Mse</b>	0.06				
Tamaño de cada uno de	<b>n</b>	10				

Diferencia estadísticamente significativa

SI/NO

SI

Hipotesis nula

RECHAZA

Hipotesis alterna

ACEPTO



### ANEXO 3

### SOLICITUD

### SOLICITUD PARA EJECUTAR EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

#### “AÑO DEL BICENTENARIO DEL PERÚ: 200 AÑOS DE INDEPENDENCIA”

**SOLICITO:** “PERMISO PARA EJECUCIÓN DE  
TESIS”

**M.SC. JUAN CARLOS CRUZ DE LA CRUZ**  
**DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE LA FACULTAD DE MEDICINA**  
**HUMANA**

Yo, YAMILET NAVARRO MACEDO, con  
domicilio de Jr. LAMBAYEQUE N°460, con N° DNI  
45086325, siendo estudiante de la Escuela Profesional De  
Odontología de la UNA -PUNO, con código 051483, ante  
usted me presento y con el debido respeto expongo lo  
siguiente:

Es grato dirigirme a Ud. para saludarla cordialmente y solicitarle, a su persona el permiso  
de poder realizar la ejecución en su laboratorio de la Facultad de Medicina Humana con  
el título: **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL  
DE MUÑA (MINTHOSHACHYS MOLLIS), COMPARADO CON LA  
CLORHEXIDINA AL 0.12 EN CEPAS DEL STREPTOCOCCUS MUTANS,  
PUNO - 2020.”**

Por lo expuesto ruego a usted acceder a mi solicitud, por ser justa y legal.

**Adjunto:**

- Copia de acta de aprobación de proyecto de tesis.

**Información del estudiante:**

- Correo electrónico: myleydy\_fy@hotmail.com
- Numero de celular: 978406526

Puno, 27 de Abril de 2021.

  
\_\_\_\_\_  
**YAMILET NAVARRO MACEDO**  
**DNI 45086325**

  
Recibido 27-04-2021  
hora: 10 am,



## ANEXO 4

### CONSTANCIA DEL LABORATORIO



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



#### **CONSTANCIA**

EL QUE SUSCRIBE RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA Y  
MICROBIOLOGÍA DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA.

HACE CONSTAR:

Que, el bachiller YAMILET NAVARRO MACEDO, egresado de la escuela profesional de odontología, de la universidad nacional del altiplano – puno, ha ejecutado su proyecto de investigación titulado “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*), COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020”, en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la escuela profesional de medicina humana, en los meses noviembre 2020 a julio del 2021.

Se emite la presenta constancia a solicitud del interesado para fines que el interesado considere conveniente.

Lunes 05 de Julio de 2021

Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO  
CBP: 2125



## CONSTANCIA DE EXTRACION DEL ACEITE ESENCIAL



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA  
LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



### CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA DE  
LA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.

HACE CONSTAR:

Que, el bachiller **YAMILET NAVARRO MACEDO**, egresado de la escuela profesional de odontología, de la universidad nacional del altiplano – puno, ha realizado la extracción **ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*)** por la técnica de arrastre de vapor de agua de la cantidad de 10 ml, para la utilización de su investigación titulado, **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*), COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020"**, en el cual fue realizado en el laboratorio de taxonomía vegetal de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica en el mes de mayo del 2021.

Se emite la presenta constancia a solicitud del interesado para fines que el interesado considere conveniente.

Jueves 06 de mayo del 2021.



## ANEXO 5

### CERTIFICACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



### CERTIFICACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA

#### EL QUE SUSCRIBE:

Certifica que la pureza del *Streptococcus mutans*, se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es **AGAR BASE SANGRE**, para observar su actividad hemolítica se realiza la réplica en agar sangre para la identificación del *Streptococcus mutans*.
2. Para la identificación del *Streptococcus mutans*, se tomó en cuenta los criterios fenotípicos:
  - a. Morfología macroscópica (colonias): opacas, convexas e irregulares en su forma y superficie granular.
  - b. Morfología microscópica y características tintoriales: Cocos Gram positivo, se asocian en parejas y cadenas cortas y largas.
  - c. Requerimientos ambientales para el crecimiento: anaerobios facultativos, aumenta su crecimiento en presencia de CO<sub>2</sub> al 5 % y a la Temperatura de 37°C.
  - d. Resistencia o sensibilidad a los antimicrobianos: sensibles a penicilina, cefalosporinas, macrolidos, aminoglicosidos, vancomicina, rifampicina, cotrimoxazol, lincosamidas y cloranfenicol.
  - e. Propiedades bioquímicas: esculina, inulina, manitol, rafinosa y rosbitol positivo. No producen cetilasa y fermentan la glucosa con producción de ácidos láctico.

**NOTA:** para la obtención de esta cepa pura se siguió los métodos estándares propuestos por el Instituto Nacional de Salud.

Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO  
CBP: 2125



## ANEXO 6

### ANÁLISIS DE HEMATOLOGÍA



**Laboratorio de Investigación, Análisis y Diagnóstico Clínico**  
**LABORATORIO "ORION"**  
Análisis de Sangre, Orina, Heces, Microbiológicos, ADN  
Jr. Lima N° 208 II piso Of. 09 \*\*\* Cel. 977563430 \*\*\* hielarry@hotmail.com  
RUC 10013180861 \*\* RNP 5016165 \*\* Certificación D.S. 023-87/SA \*\* IM N° 001202

**CONVENIOS**  
Laboratorios ROE  
Biogenómica  
S.B. Puno

---

**DATOS PERSONALES**

CODIGO	LABORIPU	110521 255	EDAD	33	Años		Meses	SEXO	F
NOMBRES Y APELLIDOS	YAMILET NAVARRO MACEDO								
PROCEDENCIA	PERU	PUNO	PUNO						
	Pais	Region	Provincia	Dirección					
FECHA	11	05	2021	HORA	08	:	30	D.N.I./C.I. N°	45086325
ANALISIS				TELEFONO	978406526				

---

**INFORME DE RESULTADOS HEMATOLOGIA**

ANALISIS	RESULTADOS	VALOR REFERENCIAL	ANALISIS	RESULTADOS	VALOR REFERENCIAL
Leucocitos	8100	4001 - 10000 mm <sup>3</sup>	Plaquetas	415000	150 a 450 mil mm <sup>3</sup>
* Neutrófilo	65	55 - 70 %	Recuento de GR	5625000	4,5 a 5,5 millns. mm <sup>3</sup>
- Segmentados	62	56 - 65 %	Tiempo de Trombina	-	13-17 seg
- Abastionados	3	2.0 - 4.0 %	Tiempo de Protrombina	-	12-14 seg
* Eosinófilos	3	0,5 - 4.0 %	INR	-	0.8-1.4 %
* Basófilos	0	0,5 - 1.0 %	Tiempo de Sangría	-	1 - 4 Min
* Monocitos	5	4.0 - 8.0 %	Tiempo de Coagulación	-	5 - 11' Min
* Linfocitos	27	26 - 35 %	Grupo de Sanguíneo	*O* POSITIVO	
* Linfocitos atípicos	0	0 %			
Hematocrito	51.00	48 - 58 /100	Hemoglobina	16.25	14.1 - 17.1 gr/100 ml

---

**CONSTANTES CORPUSCULARES**

Análisis	Resultados	Rangos de referencia
Volumen Corpuscular Medio	91	VCM (80 a 94) mc
Hemoglobina Corpuscular Media	29	HCM (27 a 31) pg
Concentración de Hemoglobina Corpuscular media	32	CMHC (31 a 36) %

OBSERVACIONES:



**Gerente**  
CBP 4441

Fecha de entrega: 

11	MAYO	2021
----	------	------

*"Trabajando e investigando por la salud y el bienestar de la población"*

## ANEXO 7

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

#### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA  
(*Mintostachys mollis*), COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS  
DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020”

CEPAS DE ESTUDIO: *Streptococcus mutans*

MEDIO DE CULTIVO: AGAR MULLER HINTON

TRAMIENTO: ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Mintostachys mollis*).

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña) al 25%				CLORHEXIDINA 0.12 %	AGUA DESTILADA
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 4	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
D1	11.12	11.06	11.27	11.17	19.39	0
D2	11.87	11.76	11.74	11.79	19.37	0
D3	11.59	11.68	11.85	11.71	19.41	0
D4	11.26	11.37	11.18	11.14	19.35	0
D5	11.27	11.49	11.29	11.24	19.49	0
D6	11.12	10.99	11.05	11.08	19.44	0
D7	11.33	11.49	11.45	11.44	19.31	0
D8	11.32	11.27	11.45	11.41	19.27	0
D9	11.21	11.33	11.28	11.31	19.43	0
D10	11.35	11.39	11.47	11.49	19.40	0

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña) al 50%				Clorhexidiina 0.12 %	Agua destilada
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 4	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
D1	12.64	12.74	12.38	12.35	19.11	0
D2	12.49	12.71	12.33	12.24	19.02	0
D3	12.81	13.06	12.29	12.46	19.05	0
D4	12.84	12.69	12.45	12.49	19.02	0
D5	12.90	13.15	12.38	12.55	19.16	0
D6	12.63	13.04	12.44	12.44	19.11	0
D7	12.42	13.07	12.71	12.47	18.92	0
D8	12.55	13.12	12.61	12.59	19.01	0
D9	13.01	13.18	12.57	12.66	19.07	0
D10	12.98	12.49	13.23	12.63	19.09	0

Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA  
(*Mintostachys mollis*), COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS  
DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020”

CEPAS DE ESTUDIO: *Streptococcus mutans*

MEDIO DE CULTIVO: AGAR MULLER HINTON

TRAMIENTO: ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Mintostachys mollis*).

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña) al 75%				Clorhexidina 0.12 %	Agua destilada
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 4	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
D1	14.28	13.59	13.33	14.12	19.37	0
D2	14.43	13.74	13.51	14.25	19.30	0
D3	14.09	13.53	13.41	14.06	19.36	0
D4	14.32	13.65	13.51	14.09	19.22	0
D5	14.42	13.73	13.45	14.26	19.37	0
D6	14.32	13.63	13.38	14.16	19.34	0
D7	13.82	13.21	13.01	13.73	19.24	0
D8	14.07	13.38	13.32	13.91	19.26	0
D9	13.72	13.27	13.31	13.82	19.34	0
D10	14.11	13.42	13.15	13.95	19.31	0

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña) al 100%				Clorhexidina 0.12 %	Agua destilada
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA 3	PLACA 4	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
D1	15.12	15.04	14.55	15.05	19.42	0
D2	15.18	15.07	14.57	15.02	19.31	0
D3	15.28	15.23	14.76	15.32	19.41	0
D4	15.07	15.41	14.73	15.27	19.33	0
D5	15.48	15.23	14.85	15.39	19.47	0
D6	15.36	15.55	14.95	15.49	19.27	0
D7	14.66	14.64	14.15	14.69	19.29	0
D8	14.81	14.87	14.33	14.87	19.31	0
D9	15.18	14.93	14.55	15.09	19.41	0
D10	15.31	14.89	14.6	15.14	19.32	0

Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO



### BASE DE DATOS

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA  
(*Mintostachys mollis*), COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL 0.12% EN CEPAS  
DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020”**

CEPAS DE ESTUDIO: *Streptococcus mutans*

MEDIO DE CULTIVO: AGAR MULLER HINTON

TRAMIENTO: ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Mintostachys mollis*).

N°	<i>Mintostachys mollis</i> (muña)				Clorhexidiina 0.12 %	Agua destilada
	25%	50%	75%	100%	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
<b>D1</b>	11.16	12.53	13.83	14.94	19.32	0
<b>D2</b>	11.79	12.44	13.98	14.96	19.25	0
<b>D3</b>	11.71	12.66	13.77	15.15	19.31	0
<b>D4</b>	11.24	12.62	13.89	15.12	19.23	0
<b>D5</b>	11.32	12.75	13.97	15.24	19.37	0
<b>D6</b>	11.06	12.64	13.87	15.34	19.29	0
<b>D7</b>	11.43	12.67	13.44	14.54	19.19	0
<b>D8</b>	11.36	12.72	13.67	14.72	19.21	0
<b>D9</b>	11.28	12.86	13.53	14.94	19.31	0
<b>D10</b>	11.43	12.83	13.66	14.99	19.28	0

1



-----  
Lic. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO  
CBP: 2125



## ANEXO 8

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo Milagros Navarro Macedo.....identificado con  
DNI N°: 46366187.....he sido informado por el estudiante YAMILET  
NAVARRO MACEDO, que está realizando un estudio de investigación, acerca de  
"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE  
MUÑA (*Minthostachys mollis*). COMPARADO CON LA CLORHEXIDINA AL  
0.12% EN CEPAS DEL *Streptococcus mutans*, PUNO – 2020", luego de haber  
conocido y comprendido en su totalidad, la información sobre dicho proyecto y los  
beneficios directos e indirectos de su colaboración en el estudio, y en el sentido de que:

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para ambos en caso de no aceptar la invitación.
- No haremos ningún gasto, ni recibiremos remuneración alguna por la colaboración en el estudio.
- Se guardará estricta confidencialidad sobre los datos obtenidos producto de la colaboración.

Por lo tanto, en forma consiente y voluntario doy mi consentimiento para ser parte del presente estudio.

FIRMA DEL VOLUNTARIO  
DNI: 46366187

FIRMA DEL INVESTIGADOR  
DNI: 45086325

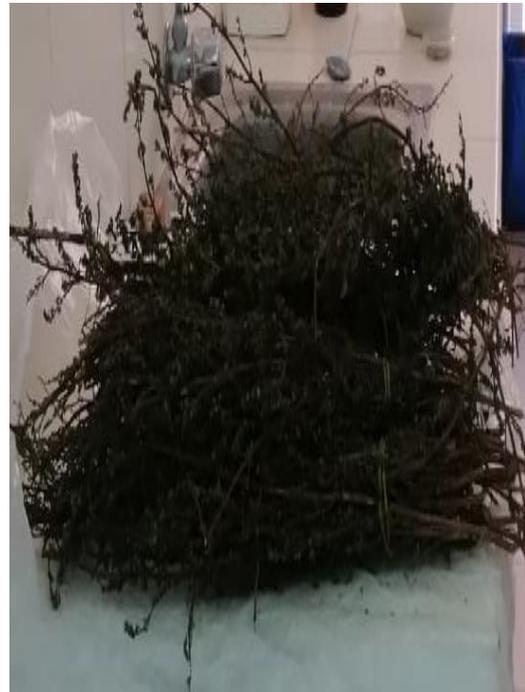
Fecha: Luzas 10 de mayo del 2021

## ANEXO 9

### GALERIAS DE FOTOGRAFIAS

#### OBTENCIÓN DE LA PLANTA

##### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 01. MUÑA (*Minthostachys mollis*)



##### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 02. TRITURACIÓN DE LA MUÑA (*Minthostachys mollis*)



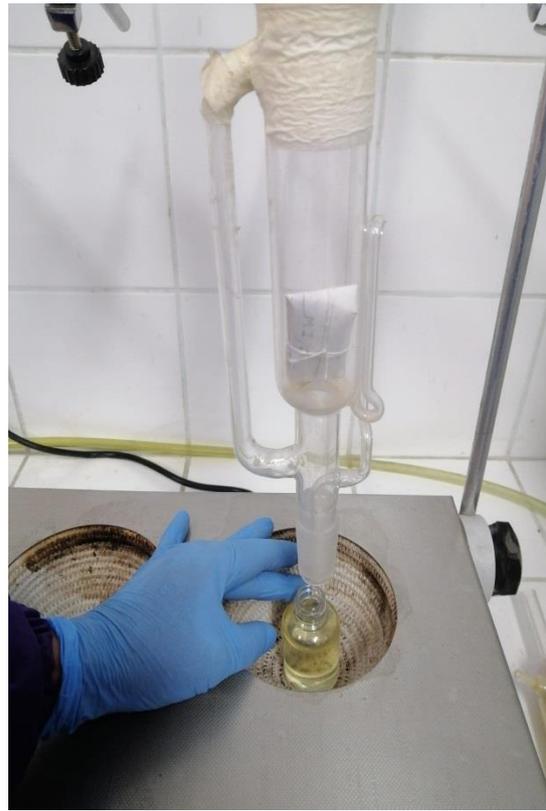
### FOTOGRAFÍA N° 03. SECADO DE LA PLANTA EN UNA ESTUFA A TEMPERATURA DE 35° C.



### FOTOGRAFÍA N° 04 PESADO DE LA PLANTA



### FOTOGRAFÍA N° 05 HIDRODESTILADOR

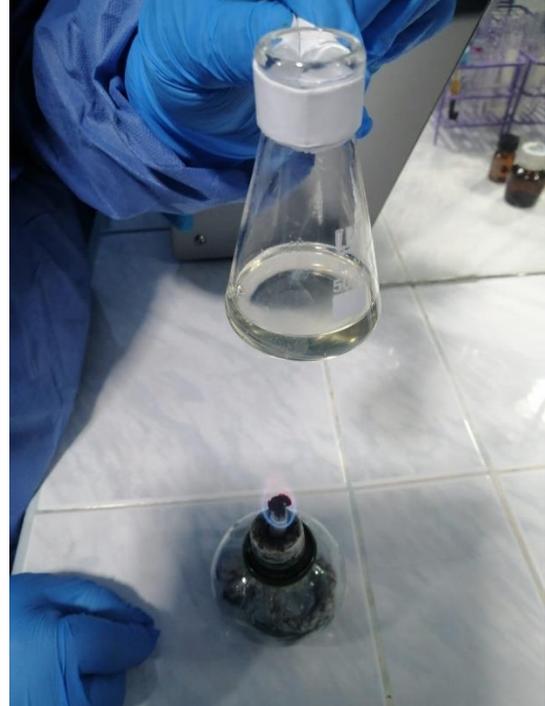


### FOTOGRAFÍA N° 06 ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA (*Minthostachys mollis*)



## TOMA DE MUESTRA

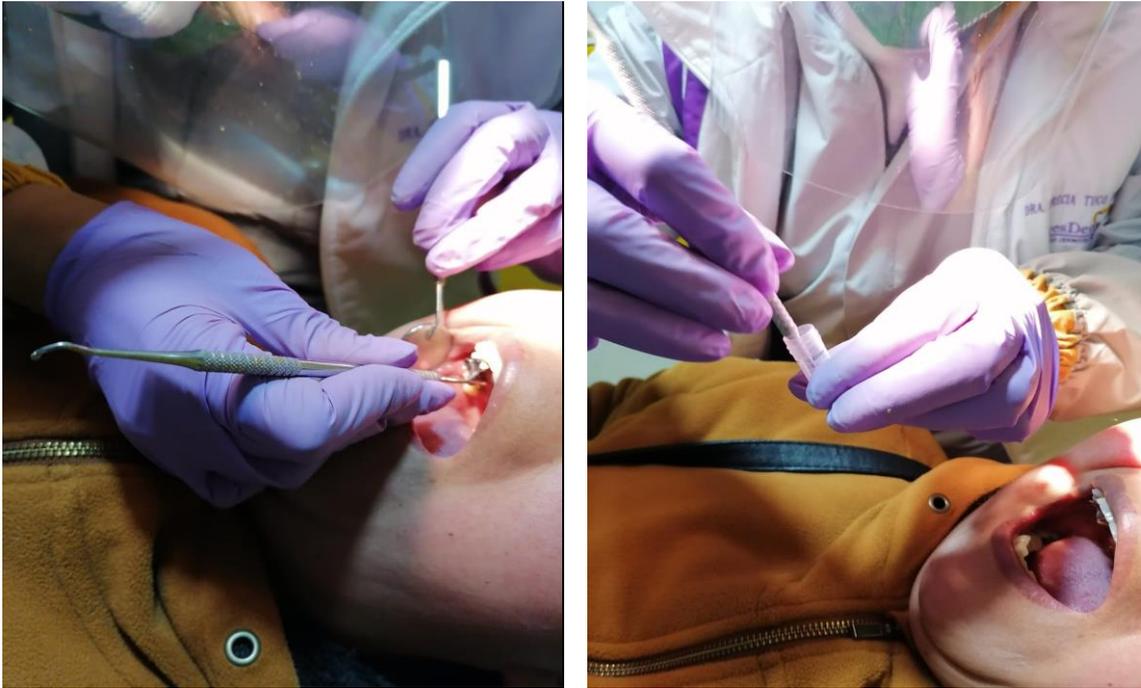
### FOTOGRAFÍA N° 07 PREPARACIÓN DE CALDO NUTRITIVO PEPTONADO PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRA



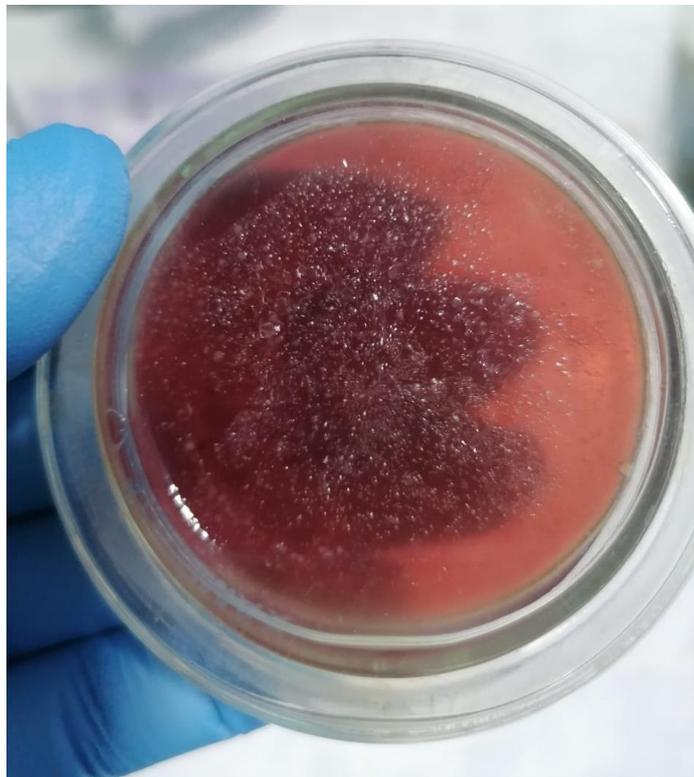
### FOTOGRAFÍA N° 08 DISTRIBUCIÓN DEL CALDO NUTRITIVO PEPTONADO EN TUBOS DE PRUEBA CON TAPA ROSCA



**FOTOGRAFÍA N° 09 TOMA DE MUESTRA AL PACIENTE DE LA CAVIDAD BUCAL DE LA BACTERIA *Streptococcus mutans* DE LA PLACA BACTERIANA**



**FOTOGRAFÍA N° 10 CEPA *Streptococcus mutans***



## FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 11 LAVADO, DESINFECCIÓN Y EMPAQUETADO DE LAS PLACAS PETRY



## PREPARACIÓN Y AUTOCLAVE DE LOS AGARES PARA EL MEDIO DE CULTIVO DE LA BACTERIA *Streptococcus mutans*

### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 10 DILUCIÓN DE LOS AGARES EN MATRACES ERLLENMEYER



### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 13 ESTERILIZACIÓN DE LOS AGARES EN AUTOCLAVE



### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 14 SEMBRADO DE LA BACTERIA *Streptococcus mutans* EN PLACAS PETRI

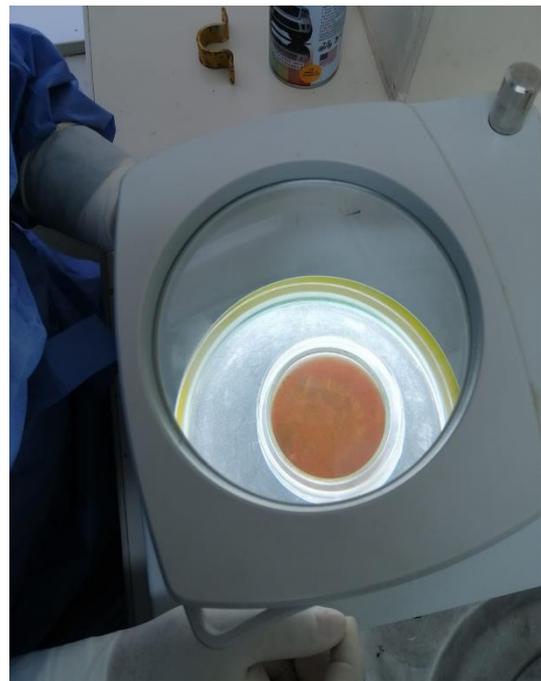
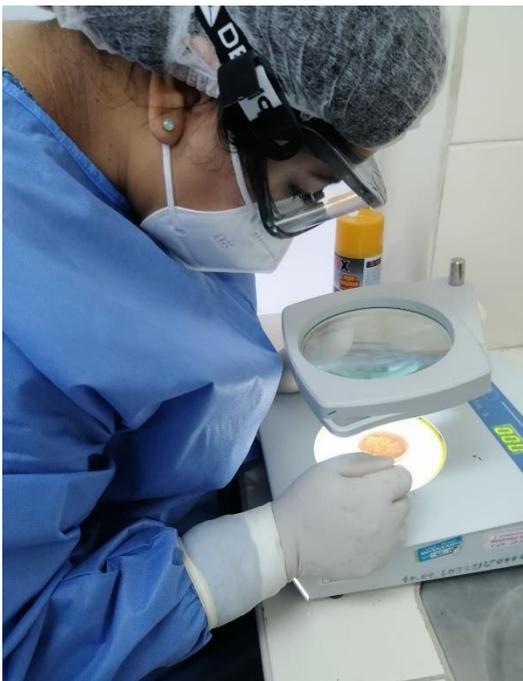


## IDENTIFICACIÓN DE LA ESTRUCTURA BACTERIANA EN MICROSCOPIO CON LA COLORACIÓN

### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 15 IDENTIFICACIÓN DE LOS ASPECTOS CULTURALES DE LA COLONIA DE LA BACTERIA DE *Streptococcus mutans*



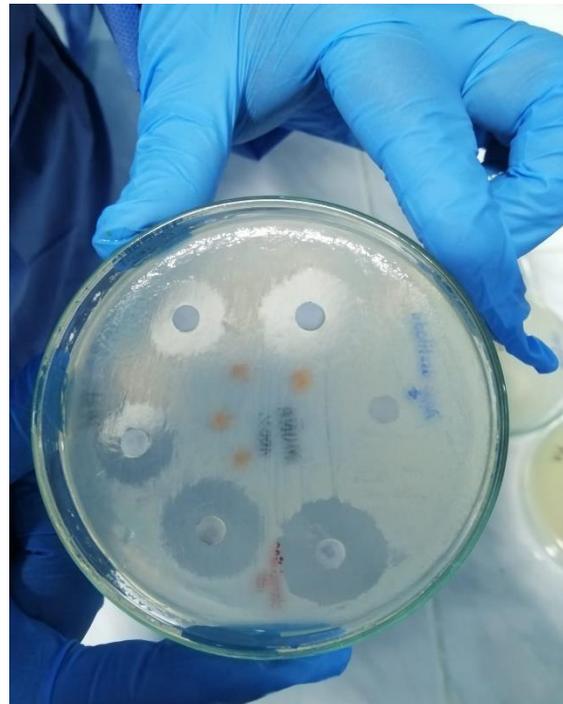
### FOTOGRAFÍA N<sup>o</sup> 16 RECONOCIMIENTO MICROSCÓPICO, TINCIÓN GRAM Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE *Streptococcus mutans*



### FOTOGRAFÍA N° 17 INOCULACIÓN Y CONSTRUCCIÓN DE POCILLOS, DISCOS E INOCULACIÓN DE LAS PLACAS CON EL TRATAMIENTO



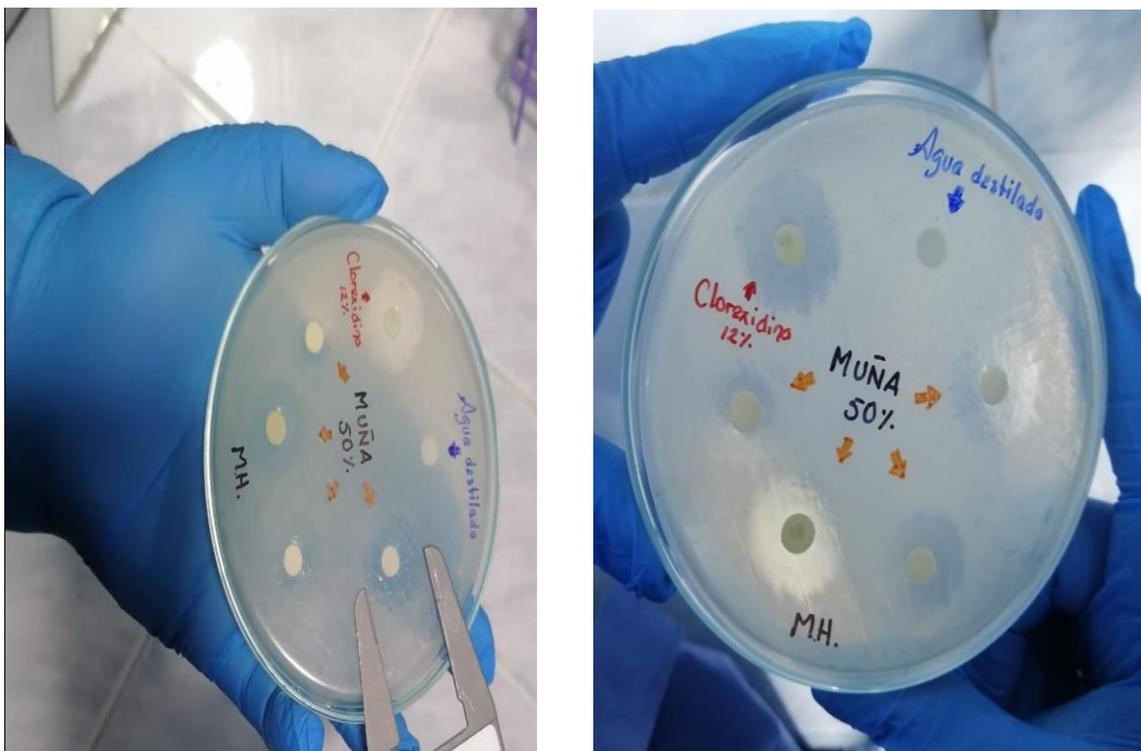
### FOTOGRAFÍA N° 18 INOCULACIÓN DE LA CEPA CON EL ACEITE ESENCIAL DE LA MUÑA (*Minthostachys mollis*)



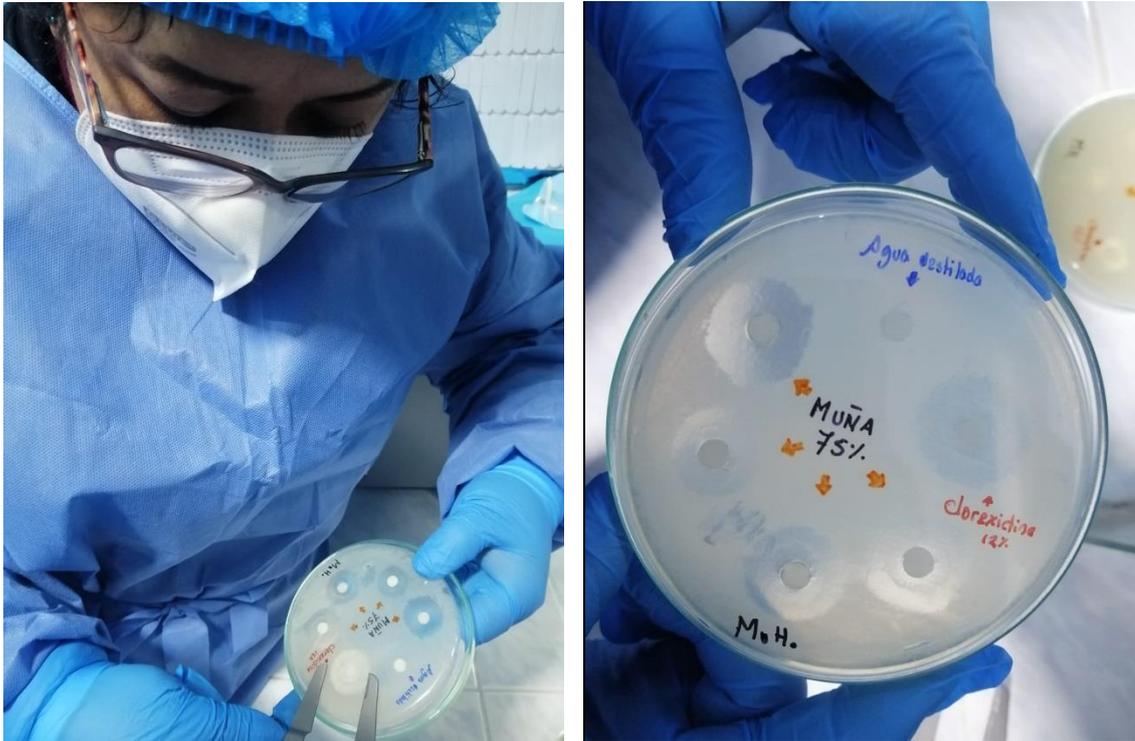
**FOTOGRAFÍA N° 20** Halo de concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachis mollis*) al 25% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.



**FOTOGRAFÍA N° 21** Halo de concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachis mollis*) al 50% *in vitro* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.



**FOTOGRAFÍA N° 22** Halo de concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 75% in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans*.



**FOTOGRAFÍA N° 23** Halo de concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 100% in vitro sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

