



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE
ROSMARINUS OFFICINALIS FRENTE AL
CRECIMIENTO DEL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC
25175, DISTRITO DE CHIMBOTE, PROVINCIA DEL
SANTA, DEPARTAMENTO DE ÁNCASH, AÑO 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

MANRIQUE ANTICONA, CRISTINA STEPHANY

ORCID: 0000-0002-8812-1944

ASESORA

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

CHIMBOTE – PERÚ

2022

1. Título de la tesis

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO
ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE
ROSMARINUS OFFICINALIS FRENTE AL
CRECIMIENTO DEL *STREPTOCOCCUS MUTANS*
ATCC 25175, DISTRITO DE CHIMBOTE, PROVINCIA
DEL SANTA, DEPARTAMENTO ÁNCASH, AÑO 2019**

2. Equipo de trabajo

AUTOR

Manrique Anticona, Cristina Stephany

ORCID: 0000-0002-8812-1944

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

JURADO

De La Cruz Bravo, Juver Jesús.

ORCID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio.

ORCID: 0000-0002-5873-132X

Angeles García, Karen Milena.

ORCID: 0000-0002-2441-6882

Hoja de firma del jurado y asesor

MGTR. DE LA CRUZ BRAVO, JUVER JESÚS

PRESIDENTE

MGTR. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO

MIEMBRO

MGTR. ANGELES GARCÍA, KAREN MILENA

MIEMBRO

MGTR. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA.

ASESOR

3. Agradecimiento y dedicatoria

Agradecimiento

En primer lugar a Dios por permitirme dar este gran paso en vida personal y profesional.

A mis padres, quienes me han brindado su apoyo incondicional en todo momento para culminar con éxito mi carrera profesional.

A mis hermanos, por su amor, cariño y aliento permanente, han logrado que pueda terminar mis estudios con éxito.

Dedicatoria

A mis padres, por su apoyo leal y absoluto para superarnos cada día, y por la inspiración de seguir luchando para construir un mundo mejor.

La autora.

4. Resumen y abstract

Resumen

El **objetivo** de la investigación fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019. **Tipo de estudio:** Fue de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental puro, de grupos en paralelo. **Población/muestra:** Se conformó por 40 muestras de *Rosmarinus officinalis* divididos en 5 grupos de concentraciones, al 50%, 75%, 100%, así como para Gluconato de clorhexidina al 2% y para Buffer fosfato salino (PBS), determinados por muestreo no probabilístico por conveniencia. **Material y método:** Se elaboró el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en tres concentraciones, luego se prepararon los discos de papel filtro Whatman y se colocaron en placas de Müller Hinton (AMHG) inoculadas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; se midieron los diámetros de los halos de inhibición y la información se registró en una ficha de recolección de datos. **Resultados:** El mayor rango de efectividad presenta la concentración *Rosmarinus officinalis* al 100% (27,38), seguido del control positivo Clorhexidina (26,25) luego *Rosmarinus officinalis* al 75% (21,38); seguido del *Rosmarinus officinalis* al 50% (9.25) y con menor efecto el control negativo PBS (buffer fosfato salino) con una media de 0. **Conclusión:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) presenta efecto antibacteriano en concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Palabras clave: Clorhexidina, Efecto antibacteriano, *Rosmarinus officinalis*, *Streptococcus mutans*.

Abstract

The **objective** of the research was to determine the antibacterial effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) against the growth of *Streptococcus mutans* ATCC 25175, District of Chimbote, Province of Santa, Department of Áncash, year 2019. **Type of study:** It was quantitative, experimental, prospective, cross-sectional and analytical, of an explanatory level and of pure experimental design, of groups in parallel. **Population/sample:** It was made up of 40 samples of *Rosmarinus officinalis* divided into 5 concentration groups, 50%, 75%, 100%, as well as 2% Chlorhexidine gluconate and Saline phosphate buffer (PBS), determined by sampling non-probabilistic for convenience. **Material and method:** *Rosmarinus officinalis* essential oil was made in three concentrations, then Whatman filter paper discs were prepared and placed in Müller Hinton plates (AMHG) inoculated with *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strains; The diameters of the inhibition halos were measured and the information was recorded on a data collection sheet. **Results:** The highest range of effectiveness presents the *Rosmarinus officinalis* concentration at 100% (27,38), followed by the Chlorhexidine positive control (26,25) then *Rosmarinus officinalis* at 75% (21,38); followed by *Rosmarinus officinalis* at 50% (9,25) and with less effect the negative control PBS (phosphate buffered saline) with a mean of 0. **Conclusion:** The essential oil of *Rosmarinus officinalis* (rosemary) presents antibacterial effect in concentrations of 50%, 75 % and 100% on the *Streptococcus mutans* ATCC 25175 strain.

Key words: Antibacterial effect, Chlorhexidine, *Rosmarinus officinalis*, *Streptococcus mutans*.

5. Contenido

1. Título de la tesis	ii
2. Equipo de trabajo	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor	iv
4. Agradecimiento y dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de tablas y gráficos	x
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura	4
III. Hipótesis	31
IV. Metodología	32
4.1 Diseño de la investigación.....	32
4.2 Población y muestra.....	34
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores	36
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	37
4.5 Plan de análisis	42
4.6 Matriz de consistencia	43
4.7 Principios éticos.....	44
V. Resultados	46
5.1. Resultados:.....	46
5.2. Análisis de resultados	53
VI. Conclusiones	58
Aspectos complementarios	59
Referencias bibliográficas:	60
Anexos	70

6. Índice de tablas y gráficos

Índice de tablas

Tabla 1.- Efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	46
Tabla 2.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 50% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	48
Tabla 3.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	49
Tabla 4.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	50
Tabla 5.- Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> con la Clorhexidina al 2% y el PBS (Buffer Fosfato Salino) frente al crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	51

Índice de gráficos

Gráfico 1.- Efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	46
Gráfico 2.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 50% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	48
Gráfico 3.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	49
Gráfico 4.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> , Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	50
Gráfico 5.- Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> con la Clorhexidina al 2% y el PBS (Buffer Fosfato Salino) frente al crecimiento del <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019	51

I. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la caries dental es una de las enfermedades multifactorial con mayor prevalencia a nivel mundial. El *Streptococcus mutans* es una de las primeras bacterias colonizadoras de boca, se considera como la especie más frecuentemente aislada en la placa dentobacteriana. Por consiguiente, el hecho de reconocer a *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de este.^{1,2}

Actualmente, el uso de plantas medicinales está innovando la medicina, esto debido a su potencial terapéutico proveniente de sus metabolitos, además son de bajo costo y eficaces sobre diversas enfermedades. La medicina tradicional, a partir de las plantas y sus propiedades antimicrobianas, van confirmando que permiten combatir a los agentes patógenos.^{3,4}

Según la OMS, el uso de la medicina tradicional es una práctica común alrededor del mundo, debido a que el 80% de la población de los países en desarrollo recurre a la medicina tradicional, el 48% en Australia, 75% en Francia, 70% en Canadá, 42% en EE UU, 38% en Bélgica y 40% en China.⁵

En estudios internacionales, para Garcés E. (Ecuador, 2019)⁶ existe efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) vs *Caléndula officinalis* sobre cepas de *Streptococcus mutans*: estudio *in vitro* (p=0,00). Naranjo A. (Ecuador, 2019)⁷ concluyó que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. (Tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, tiene efectividad frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

A nivel nacional, García J. (Trujillo, 2020)⁸ concluyó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 100% (36,66mm) tuvo mayor efecto antibacteriano que la amoxicilina (33,93mm) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Cáceres R, Ramírez D. (Lima, 2019)⁹ demostró que el *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) al 75% (10,80mm) y al 100% (13,70mm) tuvieron efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Ante lo sustentado se formuló el enunciado del problema ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019? El objetivo general fue, determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019. Y los objetivos específicos fueron, determinar la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 50%, 75% y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175; y comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* con la Clorhexidina al 2% y el PBS (buffer fosfato salino) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

La investigación posee justificación académica importante, ya que hoy en día, la medicina natural sigue siendo utilizada como tratamiento médico general. Asimismo, es conveniente, porque sirvió para determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*. Posee relevancia social, dado que benefició a todos los profesionales con actualización de información; a la vez, sirve

como antecedentes para futuras investigaciones. Posee implicancias prácticas y relevancia metodológica, ya que permitió generalizar los resultados a nociones más profundas y adaptó un instrumento validado que ayudó en la recolección de datos.

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Farmacotécnica de la ULADECH Católica de Chimbote, se estableció un tipo de investigación cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental puro de grupos en paralelo, se evaluaron 40 muestras de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 divididas en cinco grupos, a quienes se le aplicó el aceite de *Rosmarinus officinalis* en concentraciones del 50%, 75% y 100%, los datos se registraron en una ficha de recolección de datos; demostrando mayor efectividad la concentración *Rosmarinus officinalis* al 100% (27,37), seguido del control positivo Clorhexidina (23,24) luego *Rosmarinus officinalis* al 75% (21,37), al 50% (9,25) y el control negativo PBS (buffer fosfato salino) (0). Se concluyó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) presenta efecto antibacteriano en concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La investigación consta de tres partes, la primera inicia con la introducción (problemática, enunciado del problema, objetivos, justificación); seguido por la revisión de la literatura (antecedentes, bases teóricas); la tercera parte es la metodología, donde detalla el tipo, nivel y diseño de investigación, población y muestra, operacionalización de variables; técnica e instrumento de recolección de datos, plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos. Al final, los resultados, análisis de resultados, conclusiones y las recomendaciones.

II. Revisión de la literatura

2.1. Antecedentes

Internacional

Vásquez G, Guardia G.¹⁰ (Chile, 2021) en su estudio, Efecto antibacteriano del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175: un estudio *in vitro*. **Objetivo:** Determinar la efectividad antibacteriana del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175: un estudio *in vitro*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental de corte transversal *in vitro*. La muestra se conformó por 12 repeticiones para concentraciones de aceite de romero al 25 %, 50 % y 75 %, penicilina G procaína como control positivo. **Resultados:** El halo de inhibición para el aceite de romero al 25% fue 17,0%, para la concentración al 50% fue 21,8mm y para la concentración al 75% el halo promedio fue de 22,0mm; en el control positivo fue 14,25mm. **Conclusión:** Todas las concentraciones de aceite de *Rosmarinus officinalis* (romero) mostraron un efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Garcés E.⁶ (Ecuador, 2019) en su estudio, Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) vs *Caléndula officinalis* sobre cepas de *Streptococcus mutans*: estudio *in vitro*. **Objetivo:** Determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 50% vs *Caléndula officinalis* al 50% sobre cepas de *Streptococcus mutans*, en tiempos determinados entre las 24 y 48 horas. Estudio *in vitro*. **Metodología:**

Se realizó un estudio experimental *in vitro*. La muestra se conformó por 15 repeticiones del aceite esencial del 50%, de los dos aceites esenciales, el control positivo Clorhexidina 0,12% y control negativo suero fisiológico.

Resultados: El halo inhibitorio de *Caléndula officinalis* al 50% fue 10,40mm, la media de *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 50% fue 7,33mm y la media del suero fisiológico fue 6,00 constante. Al comparar los grupos, el mayor efecto tuvo *Caléndula officinalis* al 50%, seguido de *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 50% y sin algún efecto el suero fisiológico. La prueba Kruskal Wallis mostró una significancia $p=0,000$.

Conclusión: El aceite esencial de *Caléndula officinalis* presenta mayor efecto inhibitorio frente al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019) en su estudio, Efecto inhibitor del aceite esencial de *Thymus vulgaris L.* (Tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) en diferentes concentraciones frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

Objetivo: Determinar la efectividad inhibitoria del aceite esencial de *Thymus vulgaris L.* (Tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) en diferentes concentraciones frente a cepas de *Streptococcus mutans* en un tiempo de incubación de 24 y 48 horas de exposición.

Metodología: Se realizó un estudio experimental e *in vitro*. La muestra se conformó por 15 repeticiones para cada uno de los grupos experimentales al 2%, 50%, 75% y 100% además del control positivo (clorhexidina al 0.12%) y el control negativo (agua destilada). Se realizó pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y Wilcoxon, bajo un nivel de confianza del 95%.

Resultados: El halo de inhibición promedio del *Thymus vulgaris L.* al 100% fue 16,86mm. El halo de inhibición

promedio del *Rosmarinus officinalis* al 25% fue 7,00mm, la media del *Rosmarinus officinalis* al 50% fue 8,00mm, la media del *Rosmarinus officinalis* al 75% fue 10,06mm y la media del *Rosmarinus officinalis* al 100% fue 13,47mm. Para el control positivo Clorhexidina 0,12% la media fue 13,46mm; y en el control negativo suero fisiológico fue 6,00mm. Al comparar con el control positivo, el efecto inhibitorio aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) al 100% y el *Rosmarinus officinalis* al 100% son superior a la Clorhexidina al 0,12%. Prueba de Kruskal-Wallis muestra una significancia $p=0,000$ que aceptó la hipótesis de investigación. **Conclusión:** El aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. (Tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, tiene efectividad frente a cepas de *Streptococcus mutans* en un tiempo de incubación de 24 y 48 horas de exposición.

Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) en su estudio, Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans*. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental *in vitro*, comparativo. La muestra se conformó por 15 repeticiones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en concentraciones del 25%, 50% 75% y 100% con la clorhexidina al 0,12% y el suero fisiológico. **Resultados:** El halo inhibitorio de *Rosmarinus officinalis* al 50% fue 6,00mm, al 50% fue 6,73mm, al 75% fue 9,27mm y al 100% fue 12,40mm; en el control positivo clorhexidina al 0,12% la media fue 13,67mm y en el suero fisiológico

fue 6,00 constante. Al comparar los grupos, el mayor efecto tuvo *Caléndula officinalis* al 50%, seguido de *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 50% y sin algún efecto el suero fisiológico. La prueba Kruskal Wallis mostró una significancia $p=0,000$. Al comparar los grupos la clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto, seguido del aceite al 100%. **Conclusión:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* presenta efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans*, sin embargo, la clorhexidina al 0,12% obtuvo mayor efecto.

Nacionales

García J.⁸ (Trujillo, 2020) en su estudio, Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con amoxicilina *in vitro*. **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Streptococcus mutans* comparado con amoxicilina. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental *in vitro*. La muestra se conformó por 10 placas Petri para la concentración al 100%, 75%, 50%, y 25%, también para el control amoxicilina y DMSO. **Resultados:** El halo de inhibición promedio para la concentración *Rosmarinus officinalis* al 25% fue 19,38mm, al 50% fue 27,59%, al 75% fue 33,52mm, al 100% fue 36,66mm; para el control amoxicilina fue 33,93mm y para el control negativo DMSO fue 0,00mm. Al comparar los grupos, el mayor efecto lo produjo la concentración al 100%, luego son similares la amoxicilina y el aceite al 75%; luego el aceite al 50%, el aceite al 25% y el control negativo sin algún efecto. La prueba ANOVA ($p=0,00$) aceptó la hipótesis de investigación. **Conclusión:** El aceite esencial

de *Rosmarinus officinalis* tiene mayor efecto antibacteriano que la amoxicilina *in vitro*.

Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019) en su estudio, Efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del *Artemisia absinthium l.* (ajenjo) y *Rosmarinus officinalis l.* (romero) en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del *Artemisia absinthium l.* (ajenjo) y *Rosmarinus officinalis l.* (romero) en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental, de nivel exploratorio con enfoque cuantitativo. La muestra se conformó por 10 placas Petri para el extracto etanólico *Artemisia absinthium L.* (Ajeno) y para *Rosmarinus officinalis L.* (Romero) al 100%, 75%, 50% y 25%; de igual modo para el control positivo Ciprofloxacino y el control negativo agua destilada. **Resultados:** El halo de inhibición para *Artemisia absinthium L.* al 100% fue 15,30mm. La media inhibitoria para *Rosmarinus officinalis* al 25% fue 8,80mm, al 50% fue 12,30, al 75% fue 10,80mm, al 100% fue 13,70mm. La media del control positivo Ciprofloxacino fue 24,50mm y para el control negativo agua destilada fue 6,00mm. **Conclusión:** La concentración óptima del extracto etanólico del *Artemisia absinthium L.* (Ajeno) y *Rosmarinus officinalis L.* (Romero) que generó efecto antibacteriano, *in vitro*, en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es de 75 % y 100 % ya que se demostró que al 50 y 25 % los halos de inhibición son inferiores a 10mm por lo que no se considera efecto antibacteriano a esas concentraciones.

León A.¹² (Lima, 2019) en su estudio, Efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y el Digluconato de clorhexidina al 0,05% y 0,12% más Cloruro de cetilpiridinio 0,05% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio comparativo *in vitro*. **Objetivo:** Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y el Digluconato de clorhexidina al 0,05 y 0,12% más Cloruro de cetilpiridinio 0,05% sobre *Streptococcus mutans* estudio comparativo *in vitro*. **Metodología:** Se realizó un estudio de tipo experimental *in vitro*, prospectivo y transversal. La muestra se conformó por 21 discos por cada concentración de *Rosmarinus officinalis* (Romero) al 25%, 50% y 100% y los grupos controles Digluconato de clorhexidina 0,05 y 0,12% más Cloruro de Cetilpiridinio 0,05%. **Resultados:** El *Rosmarinus officinalis* al 100% presenta un diámetro promedio de 16,00mm, seguido del extracto al 50% con 15,67mm y el extracto al 25% con 15,19mm. Los controles positivos de Digluconato de CHX 0,05 y 0,12% más Cloruro de cetilpiridinio 0,05 tuvieron un promedio de 16,76mm y 16,95mm. Al comparar los grupos se observa que el control positivo Digluconato de CHX 0,12% mostró mayor efecto, seguido de Digluconato de CHX 0,05%, luego la concentración al 100%, 75% y 50%. Prueba de Kruskal-Wallis ($p=0,000$) que rechazó la hipótesis nula y aceptó la hipótesis de investigación. **Conclusión:** El extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) a la concentración 25, 50 y 100% presenta un efecto inhibitorio estadísticamente significativo sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Janampa E.¹³ (Lima, 2018) en su estudio, Efectividad *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* romero frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Determinar la efectividad inhibitoria *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo. La muestra se conformó 15 placas Petri por grupo de concentraciones al 25%, 50% y 75% del extracto de *R. officinalis* y se comparó con el control positivo clorhexidina al 0,12% y un control negativo que fue agua destilada. **Resultados:** El halo de inhibición promedio para la concentración de *Rosmarinus officinalis* al 25% fue 10,83mm, al 50% fue 11,21mm, al 75% fue 12,19mm; y en el control positivo clorhexidina al 0,12% fue 12,89mm. Al comparar los grupos del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 25% y 50% presentan los valores más bajos de halo inhibitorio, mientras la clorhexidina los más altos, no presentando diferencia significativa al compararla con el grupo RO al 75%. **Conclusión:** El extracto etanólico de *Rosmarinus. officinalis*, presentó actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATC25175.

Cubas L.¹⁴ (Trujillo, 2018) en su estudio, Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico y Acuoso de la Hoja de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre Cepas de *Streptococcus betahemolítico* del Grupo A comparado con Ampicilina. **Objetivo:** Evaluar si el extracto etanólico y acuoso de la hoja de *Rosmarinus officinalis* tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus betahemolítico* del grupo A comparado con ampicilina, estudio *in vitro*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental. La muestra se

conformó por 20 repeticiones para extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 25%, 50%, 75% y 100%, así como para el extracto acuoso.

Resultados: El extracto etanólico al 25% presentó un halo inhibitorio promedio de 22,7mm, al 50% la media fue 27,4mm, al 75% la media fue 30,9mm y al 100% 35,1mm; en las concentraciones del extracto acuoso al 25%, 50%, 75% y 100% la media fue 20mm para todos los casos. En el control positivo ampicilina la media fue 35,35mm. Al comparar los grupos, el extracto etanólico al 100% tuvo efecto similar a la ampicilina, luego los grupos al 75%, 50% y 25% se diferencian. La prueba ANOVA ($p=0,000$) rechazó la hipótesis nula y aceptó la hipótesis de investigación. **Conclusión:** Existe efecto inhibitorio entre los tratamientos del extracto acuoso de la hoja *Rosmarinus officinalis* y la ampicilina sobre las cepas de *Streptococcus betaheamolítico* del grupo A.

Cueva J.¹⁵ (Lima, 2018) en su estudio, Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Romero (*Rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*. **Metodología:** Se realizó un estudio de experimental, *in vitro*, prospectivo, longitudinal y analítico, de nivel explicativo. La muestra se conformó por 30 placas Petri para la concentración del aceite de romero al 100%, para el control positivo clorhexidina 0,12% y para el control negativo agua destilada. **Resultados:** El halo inhibitorio del aceite de romero al 100% fue 19,3mm; la media de la clorhexidina 0,12% fue 31,9mm; mientras que el

control negativo agua destilada no registró halo de inhibición. Al comparar los grupos el aceite en concentración al 100% tuvo mayor efecto que la clorhexidina 0,12%. **Conclusión:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% presenta actividad antimicrobiana *in vitro* en cultivos de Agar Muller Hinton frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Planta medicinal

Es aquel vegetal que elabora productos llamados principios activos, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo, su utilidad primordial a veces específica es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad.¹⁶

A. Principios activos de las Plantas Medicinales

- **Fenoles y heterósidos fenólicos:** Compuestos fenólicos simples. Son los compuestos fitoquímicos más simples y consisten en un anillo fenólico sustituido. Algunos ejemplos los constituyen el catecol, el pirogalol y los ácidos: cinámico y cafeico.¹⁷
- **Taninos:** Constituyen un grupo de sustancias fenólicas poliméricas y se pueden dividir en hidrolizables y condensables. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias.¹⁷
- **Cumarinas:** Son compuestos derivados de la benzo- α -pirona. Tiene propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras. Parece que su mecanismo de acción antimicrobiano es mediante interacción con el DNA eucariota.¹⁷
- **Flavonas y compuesto relacionados.** Las flavonas son estructuras fenólicas que contienen un grupo carbonilo. Constituyen la familia más amplia de fenoles naturales. Su actividad frente a los

microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana.¹⁷

2.2.2. *Rosmarinus officinalis* (Romero):

El romero está relacionado con su origen; en las áreas secas y rocosas cerca de la costa del Mediterráneo. *Rosmarinus officinalis* ha sido utilizado desde la antigüedad como planta medicinal y para la obtención de aceites esenciales.^{18,19}

El nombre genérico *Rosmarinus* proviene de la unión de dos vocablos griegos, *rhops*, arbusto y *myrinos*, aromático; que concuerdan perfectamente con las características de la planta; el nombre específico, *officinalis*, expresa su aplicación como planta medicinal.¹⁵

El romero es una planta medicinal cuyo valor estaba determinado por las creencias propias de cada cultura y época, así por ejemplo para los griegos el romero era un símbolo de la eternidad de la vida e inmortalidad, los romanos lo utilizaban como amuleto en las bodas, símbolo de fidelidad entre novios y para alejar el mal de ojo o romper la envidia, de la misma manera conocidas ya sus propiedades medicinales fue utilizado en la época medieval para purificar habitaciones de enfermos, o como sahúmo.²⁰

Se ha mencionado que hace miles de años atrás, los egipcios utilizaron romero como parte de sus ritos. Se encontraron rastros de la planta en sus tumbas.²¹

Además de las múltiples propiedades medicinales que se le atribuyeron al romero, también fue utilizado para elaboraciones de cosméticos, como colonias de uso exclusivo para la clase real.²¹

A. Clasificación Botánica

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Género: *Rosmarinus officinalis*
- Nombre Vulgar: Romero.¹⁵

B. Descripción Botánica

Es un arbusto aromático de hoja perenne, perteneciente a la familia de las labiadas, que presenta un tallo leñoso y muy ramificado de entre 1 y 2 m de altura. Sus hojas, muy abundantes, largas y estrechas, crecen directamente sobre el tallo sin pedúnculo, con unas dimensiones de entre 1.5 y 3 cm de longitud por 2 o 3 mm de anchura. Presentan un color verde oscuro por la cara y una tonalidad blanquecina por el envés. En las plantas más jóvenes se recubren de abundantes pelos que desaparecen al crecer. En la zona de unión de la hoja con el tallo nacen los ramilletes floríferos.²²

Las flores son de color azulado, violáceo o rosa y nacen en forma de ramilletes en la unión del tallo con la hoja, con un tamaño aproximado de 5mm. El fruto mide 1 mm y aparece dentro del cáliz en forma de cuatro pequeñas nueces de color pardo. Tienen la corola bilabiada de una sola pieza. El color es azul violeta pálido, rosa o blanco, con cáliz verde o algo rojizo, también bilabiado y acampanado. Son flores axilares, muy aromáticas y melíferas (contienen miel), se localizan en la cima de las ramas, tienen dos estambres encorvados soldados a la corola y con un pequeño diente.²²

La floración se produce en primavera y otoño. El fruto, encerrado en el fondo del cáliz, está formado por cuatro pequeñas nuececitas de color parduzco. Su reproducción se produce tanto manualmente mediante esquejes como de forma natural por semillas.²²

C. Distribución geográfica y Hábitat:

El género *Rosmarinus* es una planta originaria de la zona mediterránea, se encuentra sobre todo en el sur de Europa, norte de África y suroeste de Asia y variedades en el sur y este de la Península Ibérica; siendo España, ex Yugoslavia y Tunes los principales países productores, sin embargo, en la actualidad el romero está distribuido en otras partes del mundo, como en Latinoamérica, entre ellos, países como Ecuador (en la zona andina) y Perú.^{23,24}

Su hábitat son los espacios cubiertos de matorral mediterráneo, ubicándose en laderas soleadas y montañosas cerca del mar y protegido

del viento. Se extiende por terrenos con sustratos calcáreos, asentándose entre pedregales o arenosos con gran permeabilidad, ya que necesita muy poca humedad para crecer. Sobrevive hasta los 1,500 m de altitud y soporta temperaturas mínimas de 10° C bajo cero. Crece de forma natural acompañado de otras plantas aromáticas como tomillos.²²

D. Requerimientos de suelo y clima:

- **Suelo:** Prefiere suelos ligeros, bien drenados, medianamente secos y con limo. Los suelos húmedos inhiben su crecimiento. El pH debe ir en un rango de 6 a 7.5, con una tolerancia entre 4,5 y 8,7.²⁵
- **Clima:** Prefiere pleno sol, pero tolera la semi sombra. En los países mediterráneos donde se produce romero, suele crecer en seco sin riego, ya que luego de establecido las raíces profundizan mucho haciendo a la planta resistente a períodos de sequía. En los países de medio este, donde las temperaturas son altas y las lluvias mínimas al borde del mar mediterráneo, el romero deja de crecer durante los meses secos del verano. El crecimiento normalmente ocurre entre los 2 y 35 ° C, siendo su óptimo a los 18°C. En su ambiente nativo este arbusto perenne es capaz de tolerar bajas temperaturas en invierno hasta -15°C, pero se desarrolla de mejor manera en ambientes más protegidos.²⁵

Generalmente se cultiva como hierba anual en climas muy fríos como aquellos encontrados en Canadá y el norte de Estados Unidos.²⁵

E. Características organolépticas de sus productos

- **Hojas deshidratadas:** Deben ser de color verde a verde café, para uso culinario como especia, se prefieren aquellos productos de hojas más cortas y firmes, a fin de no perjudicar la apariencia del producto a nivel de anaquel de supermercado, por ejemplo.²⁵
- **Hoja fresca:** Como hoja fresca se utilizan productos de distinto origen y calidad, priorizando la apariencia y aspecto fresco de una hierba recién cortada. Otros usos industriales en el área de alimentos definen sus especificaciones de producto según el contenido de esencia u otros principios activos, en desmedro de aspectos visuales.²⁵
- **Esencia o aceite esencial:** La esencia de romero, representa entre un 1,5% y 4,0% de las hojas, es de color amarillo a amarillo - verdosa, con olor a alcanfor, incienso y miel, al aplastar las hojas. La composición de su aceite esencial varía según la procedencia geográfica. Así se han diferenciado tres quimiotipos diferentes: cineoliferum (alto porcentaje de 1,8-cineol), camforiferum (con más de un 20% en alcanfor) y verbenoniferum (con más de un 15% en verbenona).²⁶

Los componentes principales del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) en el Perú son: 20% de alcanfor, 2% de 1,8-cineol, 4% a-pineno y otros monoterpenos como borneol, b-pineno, limoneno y p-cimeno. También encontramos lactonas sesquiterpénicas (carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, 7-

metoxirosmanol, rosmadial); ácidos triterpénicos (ácido ursólico, ácido betulínico); alcoholes triterpénicos (a y b-amirina, betulina); ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, rosmarínico); 15 - 20% de flavonoides (luteolina, apigenina, genkwanina, diosmetina, hispidulina, 5-hidroxi-7, 4'-dimetoxi-flavona, cirsimaritina) y los correspondientes heterósidos.²⁷

F. Composición Química

En el caso de las hojas del romero prevalece un alto contenido de ácido rosmarínico y su derivado rosmaricina, también está presente el ácido carnósico que se caracteriza por ser inestable, su degradación se da por incremento de la temperatura y exposición a la luz; en presencia de oxígeno puede oxidarse para formar carnosol, rosmanol, epirosmanol y 7- metil-epirosmanol.²¹ Aceite Esencial (1- 2.5%) compuesta por Alcanfor, 1,8 cineol, a-pipeno, monoterpenos como borneol, b- pipeno, limoneno, cimeno, acetato de bornilo, cafeno, a-terpineol, cariofileno, eucalipto (flores, tallos y hojas) - Carnosol, rosmanol, epirosmanol, Hojas Lactonas isorosmanol, rosmaridifenol, sesquiterpénicas isorosmanol, 7-metoxirosmanol, U rosmadial - Ácidos fenólicos; compuesta por Ácido rosmarínico. cafeico, clorogénico, labiático (Hojas) - Flavonoides compuesta por Nepetina, nepitrina (hojas, flores y tallos) – Acidostriterpénicos compuesta por Ácido ursólico, ácido oleánico (Hojas) - Alcoholes triterpénicos compuesta por Alfa y beta amirina (Hojas) - Minerales compuesta por Potasio, magnesio, zinc, cobre (hojas, flores y tallos) – Taninos (flores, frutos y tallo) - Saponinas (Hojas).²²

G. Principios Activos

Se conoce como principios activos aquellas sustancias producidas por la planta que intervienen en la actividad medicinal de la misma. En el romero se han descrito que la mayor parte de los principios activos se obtienen de sus hojas, y gran parte está representada por el aceite esencial. Se han identificado también otros compuestos como terpenoides, flavonoides y ácidos fenólicos, que intervienen en las propiedades farmacológicas de la planta.²⁸

- a) **Taninos:** Corresponde a un compuesto amargo que produce la planta, con la finalidad de autoprotección del medio externo. Este compuesto le da la característica de astringencia al romero.²⁹ Se menciona que su acción terapéutica antimicrobiana, estimulación fagocítica y actividad antitumoral se relaciona con su capacidad de inactivar adhesinas, así como enzimas y proteínas de transporte de las bacterias.³⁰
- b) **Flavonoides:** Se trata de pigmentos vegetales no nitrogenados que intervienen en la respuesta adaptativa y protectora de la planta contra los rayos ultravioleta, además de atraer a los polinizadores.²⁹ Su actividad antimicrobiana probablemente se relaciona con la formación de complejos con proteínas solubles, extracelulares y con células de la pared bacteriana, que destruyen la misma, todo esto como respuesta a la infección microbiana.³⁰
- c) **Aceites esenciales:** Es uno de los principios activos del *Rosmarinus officinalis*, responsable de la mayor parte de acción medicinal de la

planta. Se obtiene de las hojas, flores y tallos. Forma parte del grupo de los terpenoides y se ha descrito que su acción terapéutica antiséptica y antimicrobiana radica en sus componentes, especialmente el alfa pipeno, alcanfor, 1,8 cineol o eucaliptol, limoneno, verbenona, canfeno y borneol. Se ha demostrado acción antimicrobiana del aceite de romero frente a bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Así como también hongos y virus y protozoos.²⁹

d) Triterpenos: Se trata de compuestos lipofílicos, siendo los principales: ácido ursólico y ácido oleánico; alcoholes triterpénicos como alfa y beta-amirina. Su acción antimicrobiana se relaciona con la capacidad de romper la membrana celular de las bacterias.²⁹

H. Propiedades Medicinales

Varias propiedades medicinales se le ha atribuido al romero, la mayoría de ellas comprobadas mediante estudios in vivo con animales o *in vitro*, mediante estos ensayos se conoce de manera general que el romero presenta acción hiperglucemiante (aumenta niveles de glucosa en sangre), antiséptica, fungistática, emenagoga (que estimula flujo sanguíneo en la pelvis y en el útero), colerética (activa la producción de la bilis), estimulante del sistema nervioso central, antiinflamatorio, cicatrizante, analgésico entre otros.²⁸

a) Efectos antiinflamatorios: Se relaciona la acción antiinflamatoria con el ácido rosmarínico, ya que en estudios experimentales mediante

la aplicación tópica de extractos metanólicos de romero en ratones ha demostrado reducir el edema e inhibir anafilaxis cutáneas.³¹

- b) Efectos antioxidantes:** Se ha determinado mediante ensayos *in vitro* que compuestos como el rosmanol, carnosol y ácido carnosólico presentan un efecto antioxidante frente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y bacterias Gram-negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.³²
- c) Efectos antiespasmódicos y anticonvulsivantes:** En vías biliares e intestino delgado se le atribuyen al aceite esencial de romero, efectos antiespasmódicos, que han sido comprobados mediante estudios experimentales realizados en animales como conejos y cobayos al administrar noradrenalina; así también al administrar extracto acuoso en ratones se comprobó el efecto anti convulsionante, además se considera inotropa positiva, es decir aumenta la fuerza de los latidos cardíacos.³¹
- d) Efecto antimicrobiano:** Se asocia la actividad anti fúngica y bactericida al aceite esencial de romero. Mediante ensayos *in vitro* se ha determinado susceptibilidad de bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* bacterias que, de interés alimentario, así también bacterias como *Clostridium perfringens* presentaron inhibición frente a extractos obtenidos del romero. También se ha mencionado la susceptibilidad de la bacteria *Salmonella typhi* frente a un extracto acuoso de romero.^{33,34}

e) **Actividad antiviral:** El ácido carnosólico inhibe la actividad enzimática del virus HIV-1. En estudios realizados *in vitro* ha demostrado el extracto seco de romero inhibir la formación del virus Herpes simple tipo uno.¹⁸

I. Efecto Antibacteriano *in vitro*

Es un proceso por el cual se puede determinar *in vitro* la potencia de un extracto antibacteriano en solución y la susceptibilidad de un microorganismo determinado a las concentraciones conocidas de un fármaco o un extracto de una planta medicinal.³⁵

Existen estudios sobre el efecto antibacteriano del romero, la mayoría realizados *in vitro*, y con especies bacterianas enfocados en biotecnología, pero existen pocos estudios probados con bacterias de interés odontológico.³⁶

Brasil ha sido uno de los países que mayor atención ha prestado en cuanto a la introducción de fitoterapia en Odontología, se evaluó mediante un estudio *in vitro* la acción antimicrobiana del *Rosmarinus officinalis* en extracto hidro-alcohólico, frente a bacterias orales planctónicas como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus casei* mostrando resultados favorables para las especies ensayadas a excepción del *Streptococcus mitis*.³⁶

El aceite esencial de romero en concentraciones elevadas presenta actividad anti-adherente y cambios morfológicos para hongos como

Cándida albicans.³⁷

En Perú se han realizado estudios un poco más específicos, para determinar la acción antibacteriana del romero en extractos alcohólicos en bacterias Gram negativas aisladas de pacientes con periodontitis crónica, mostrando resultados positivos en concentraciones máximas del romero.³⁸

2.2.3. Uso en Odontología

Nuestro país está considerado entre los doce países de mayor diversidad biológica de la tierra, sin embargo, solo le damos importancia a la medicina tradicional.³⁹

El conocimiento científico de ciertas especies es desconocido. En el área dental solamente se han investigado escasas plantas; en cuanto al romero solo se utiliza de manera tradicional. Pero en otros países se han realizado muchos trabajos con el romero tanto en medicina como en odontología. Brasil es uno de los países que más ha estudiado al romero siendo utilizadas en diversas formulaciones farmacéuticas, así tenemos: los enjuagues bucales, colutorios, soluciones tópicas, pasta dental, entre otros.³⁹

2.2.4. Contraindicaciones

Se considera que el principio activo del romero carece de toxicidad; sin embargo, las personas especialmente sensibles pueden experimentar reacciones alérgicas, especialmente dermatitis por contacto. Asimismo,

no es recomendable que las personas con cálculos biliares recurran a esta droga sin consultar previamente con un médico. Esto es debido a que cuando existe litiasis biliar, un aumento del drenaje de la vesícula biliar puede ir acompañado de una obstrucción de los conductos biliares. Finalmente, aunque la probabilidad de presentar una intoxicación por el consumo de infusiones de romero es muy baja, una sobredosis podría derivar en un cuadro caracterizado por espasmo abdominal, vómitos, gastroenteritis, hemorragia uterina e irritación renal.⁴⁰

En cuanto, al uso del aceite esencial, en concentraciones elevadas puede ser tóxico para el sistema nervioso central y provocar convulsiones. Por este motivo, no se recomienda su uso durante períodos de tiempo prolongados o a dosis mayores a las recomendadas y se debe tener especial cuidado cuando se usa en niños. Por vía tópica, la esencia de romero puede causar dermatitis y eritema en personas hipersensibles. El romero no debe usarse en el transcurso del embarazo, ya que existe la posibilidad de que induzca un aborto espontáneo por su posible efecto estrogénico. Tampoco debe emplearse durante la lactancia.⁴⁰

2.2.5. *Streptococcus mutans*

Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa bacteriana (biofilm o biopelícula) con todas sus funciones, interacciones y propiedades. El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental (estreptococos del grupo Mutans,

Lactobacillus spp y Actinomyces spp) de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a ella.⁴¹

El *Streptococcus mutans* produce ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico cuando metaboliza carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa. Estos ácidos circulan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, generando calcio y fosfato, los cuales, a su vez, difunden fuera del esmalte (desmineralización).⁴¹

Se conoce que los causantes principales de las caries son los *Streptococcus* del grupo Mutans, asociados con otras bacterias que pueden modificar el desarrollo de las lesiones. El *Streptococcus mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas humanas, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción, su nombre lo recibe de su tendencia a cambiar de forma, y se puede encontrar como coco o de forma más alargada, como bacilo.⁴¹

A. Taxonomía.

- Dominio: Bacteria.
- Phylu: Firmicutes.
- Clase: Bacilli.
- Orden: Lactobacillales.
- Familia: Streptococcaceae.

- Género: *Streptococcus*.
- Especie: *Streptococcus mutans*.⁴²

B. Morfología y características en cultivo.

El *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. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoníaco.⁴¹

Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. *Streptococcus mutans* se ha subclasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. El hábitat natural de *Streptococcus mutans* es la boca humana. En cavidad oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas.⁴¹

C. Factores de virulencia

Cuando se habla de virulencia de un microorganismo, se está haciendo referencia a su capacidad de producir daño, es decir, generar una enfermedad. Los factores de virulencia son aquellas condiciones o

características específicas de cada microbio que lo hacen patógeno. En el caso del *Streptococcus mutans*, los más involucrados en la producción de caries son:⁴³

- **Acidogenicidad:** El estreptococo puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.⁴³
- **Aciduricidad:** Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.⁴³
- **Acidofilicidad:** El *Streptococcus mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H⁺) fuera de la célula.⁴³
- **Síntesis de glucanos y fructanos:** Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la célula a adherirse al diente y ser usados como reserva de nutrientes.⁴³
- **Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno:** Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar.⁴³
- **Producción de dextranasa:** Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano.⁴³

D. Sustrato cariogénico

Dentro de los factores que favorecen el desarrollo de la caries dental, uno de los más estudiados es el consumo excesivo de azúcares simples. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre caries y carbohidratos refinados o azúcares, especialmente, la sacarosa. Los azúcares consumidos con la dieta constituyen el sustrato de la microflora bucal y dan inicio al proceso de cariogénesis.⁴⁴

La sacarosa, formada por dos monosacáridos simples: la fructosa y la glucosa; se considera el más cariogénico, no sólo porque su metabolismo produce ácidos, sino porque el *Streptococcus mutans* lo utiliza para producir glucano, polisacárido extracelular, que le permite a la bacteria adherirse firmemente al diente, inhibiendo las propiedades de difusión de la placa.⁴⁴

E. Medios de cultivo

No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS). En el agar MS, muchos *Streptococcus* orales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial. El cultivo en agar es considerado como

el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas, mediante métodos cuantitativos en medios no selectivos.²

Actualmente hay 5 medios de cultivo diferentes para el aislamiento de *Streptococcus mutans*. Estos son: Agar Mitis Salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius con bacitracina y kanamicina (MSKB) Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB) Agar Trypticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB). El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *Streptococcus mutans* y otras especies orales de Streptococcus. El agar MS ha sido modificado para ser más selectivo en el aislamiento de *Streptococcus mutans* adicionando tanta sulfonamida (Agar MC), bacitracina (Agar MSB), polimixina o aun sacarosa (MS40S).²

Los métodos de recuento de colonias permiten determinar el grado de colonización producida por *Streptococcus mutans* según las edades, siendo de gran utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación permitiría desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas y vulnerables.²

III. Hipótesis

Hipótesis de Investigación:

- ✓ **H_i:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

Hipótesis estadísticas:

Hipótesis Nula:

- ✓ **H₀:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) no tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

Hipótesis alterna:

- ✓ **H₁:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

Tipo de investigación

Según el enfoque es cuantitativo

- Según Hueso A, Cascant J.⁴⁵ (2012) El tipo de investigación cuantitativo se usa cuando el proyecto está basado en el uso de técnicas estadísticas para dar a conocer los aspectos de interés (resultados favorables) sobre la población que se está estudiando.

Según la intervención del investigador es experimental.

- Supo J.⁴⁶ (2014) Analiza el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientes.

Según la planificación de la toma de datos es prospectivo.

- Supo J.⁴⁶ (2014) Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.

Según el número de ocasiones en que mide la variable es transversal.

- Supo J.⁴⁶ (2014) Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.

Según el número de variables de interés es analítico.

- Supo J.⁴⁶ (2014) El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.

Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel explicativo.

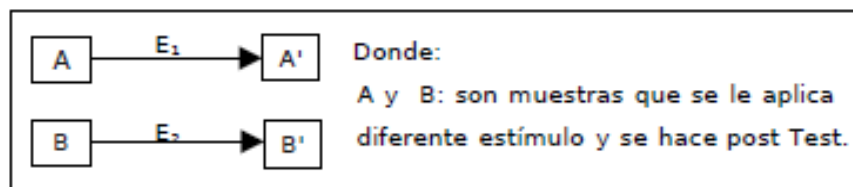
- Supo J.⁴⁶ (2014) Explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.

Diseño de investigación

La investigación es de diseño experimental puro o verdadero, de grupos en paralelo.

- Hernández R. Fernández C. Baptista M.⁴⁷ (2014) Se toman grupos de estudio, luego a cada grupo se le dan un estímulo diferente y se hace un post test.

➤ Esquema de investigación:



4.2 Población y muestra

Población

Estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, la cual fue sometida a diversos análisis con la intención de cumplir con los objetivos formulados en la investigación.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Streptococcus mutans* en buen estado de conservación.
- *Rosmarinus officinalis* (romero) frescas, verdes y de buenas características organolépticas.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans* mantenidas sin refrigeración previa a su activación.
- Medios de cultivos que no presentaron crecimiento bacteriano.
- *Rosmarinus officinalis* (romero) en mal estado con características organolépticas no aceptables.

Muestra

Estuvo conformada por un total de 40 muestras, las cuales fueron divididas en cinco grupos experimentales: 08 muestras para *Rosmarinus officinalis* al 50%, 08 muestras para *Rosmarinus officinalis* al 75%, 08 muestras para *Rosmarinus*

officinalis al 100%, 08 muestras para Gluconato de clorhexidina al 2% y 08 muestras para PBS (buffer fosfato salino); todas sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Al ser un estudio *in-vitro* la población se consideró infinita, por lo que el tamaño muestral se determinó mediante fórmula de comparación de medias:

- Formula:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 * (S_1^2 + S_2^2)}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ para un nivel de confianza del 95%.

$Z_{\beta} = 0.84$ para una potencia de prueba del 80%.

$S^2 = 1.14 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2$ valor asumido. XX

$d = 1.50$ valor mínimo de diferencia.

Luego reemplazando:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 * (1.14 + 1.14)}{(1.50)^2}$$

$$n = 7.94 = 8$$

Muestreo

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia: las unidades de estudio fueron seleccionados dada la conveniencia, accesibilidad y proximidad con la investigadora.⁴⁷

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN		VALORES
			TIPO	ESCALA	
Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)	Es un aceite líquido volátil que inhibe el crecimiento bacteriano pueden ser naturales o sintéticos. ²⁹	Concentración	Cuantitativa	Razón	50% 75% 100%
Efecto Antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>	Bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa que se encuentra en la cavidad bucal formando parte de la placa dental, asociada a la iniciación de la caries dental. Capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de las bacterias o su eliminación. ²	Medida de Halos de inhibición	Cuantitativa	Razón	Milímetros (mm)

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica

Observación: esta técnica permitió analizar los resultados de la difusión en discos aplicando método de Kirby Bauer, se registró en un esquema inequívoco, con el fin de presentarlos y facilitar el acceso a ellos. Se realizó con la ayuda de elementos como instrumentos de medición.

Instrumento

Ficha de recolección de datos: Este instrumento fue elaborado por Mayra D, Lalaleo J.⁴⁸ (Ecuador, 2016) en su investigación titulada Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de Mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) sobre el *Streptococcus mutans*; el cual sirvió para registrar la información de la investigación; su aplicación es de fácil uso. (Anexo 02)

Procedimiento

Para la investigación se contó con las siguientes facilidades:

- Apoyo de la unidad de Postgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad ULADECH.
- Apoyo del laboratorio de Farmacotécnica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad ULADECH.

▪ **De la recolección de datos:**

Se realizó el procedimiento de la elaboración del aceite esencial, iniciando con la recolección del material vegetal de *Rosmarinus officinalis*.

- **Obtención del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* “romero”.**

Procedimiento.

1. Se pesó 1 kilogramo de muestra, la cual fue triturada para aumentar la superficie de contacto y de esta manera favorecer la salida del aceite.
2. El material se colocó en la cesta perforada la cual fue introducida en el equipo de destilación, seguidamente se agregó agua, pero sólo hasta un nivel en que no tuviera contacto con las hojas (aproximadamente 10 cm por debajo de la parte inferior de la cesta).
3. El equipo de destilación fue cerrado herméticamente y la manguera que conduciría el vapor de agua y el aceite fue conectada al refrigerante.
4. La manguera que conduciría el agua por el refrigerante fue conectada y se hizo circular el agua.
5. Se colocó la pera de decantación en la salida del refrigerante para recibir el destilado.
6. Se conectó el equipo de destilación a una fuente de electricidad durante el tiempo programado (90 minutos).
7. Una vez concluido el tiempo, se desconectó el equipo de destilación.
8. Finalmente, la pera de decantación fue retirada y se la dejó reposar hasta el día siguiente.

- **Evaluación del efecto *in vitro* de tres concentraciones del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

- **Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en balón de 50ml con 25ml de Caldo Brain Heart Infusión (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia.⁴⁹

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB y se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA) y se conservará hasta su posterior empleo.

- **Preparación de las tres concentraciones del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* romero.**

A partir del aceite esencial obtenido se prepararon las concentraciones de 50%, 75% y 100% respectivamente.

- **Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer.**

La evaluación del efecto antibacteriano, se realizó mediante el método Kirby Bauer de difusión en agar.⁵⁰

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

– **Estandarización del inóculo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de microaerofilia a 37°C durante 24 horas. Luego de 24 horas se tomaron colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y se diluyó en Caldo BHI o solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/ml).

– **Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión, se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

– **Preparación de los discos con las concentraciones del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* “romero”.**

Se prepararon discos de papel filtro Whatman número 3, se esterilizaron y fueron embebidos con 30µl de cada una de las concentraciones de 50%, 75% y 100% del aceite esencial. Luego, con una pinza estéril, se colocaron los discos ya preparados con las diferentes concentraciones, sobre las

placas de Müller Hinton (AMHG) inoculadas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 2% y como control negativo Buffer fosfato salino (PBS).

– **Incubación.**

Se incubarán las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, a 37°C durante 48 horas en microaerofilia utilizando jarra Gaspak.

– **Lectura de los resultados.**

Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinó cada placa, se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco, para lo cual se utilizó un vernier digital, abarcando el diámetro del halo.

Se realizaron 8 repeticiones de cada ensayo.

4.5 Plan de análisis

La información registrada en la ficha de recolección de datos fue digitalizada a una base de datos en MS Excel 2016, el cual permitió ordenar, organizar y codificar las repeticiones. Luego se exportó al software IBM SPSS v.24 donde se realizó el tratamiento estadístico univariado y bivariado.

Análisis univariado: Se obtuvieron las medidas de tendencia central (media, moda y mediana) y las medidas de dispersión (desviación estándar y varianza); asimismo permitió elaborar las tablas y gráficos.

Se verificó que muestras provienen de una población con distribución no normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk al ser una muestra pequeña ($n < 50$); en base a ello se aplicó la prueba estadística no paramétrica.

Análisis bivariado: Se realizó el análisis entre las variables, que presentaron distribución no normal, se utilizó la prueba estadística H Kruskal-Wallis.

Para determinar la concentración es más efectiva contra el *Streptococcus mutans* se realizó la comparación de medias de halos de inhibición de cada grupo experimental, la decisión se tomó en base a la significancia mostrada por la prueba estadística H Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5% ($p < 0,05$). Y para comparar los grupos experimentales se utilizó la prueba Post Hoc Duncan.

El análisis de resultados se efectuó conforme los objetivos planteados, mediante la contrastación con los antecedentes; luego se elaboraron las conclusiones y recomendaciones.

4.6 Matriz de consistencia

TÍTULO: EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* FRENTE AL CRECIMIENTO DEL *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, DISTRITO DE CHIMBOTE, PROVINCIA DEL SANTA, DEPARTAMENTO DE ÁNCASH, AÑO 2019

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLE	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p style="text-align: center;">¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019?</p>	<p style="text-align: center;">Objetivo General:</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 50% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 75% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> con la Clorhexidina al 2% y el PBS (buffer fosfato salino) frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. 	<p style="text-align: center;">Efecto antibacteriano.</p> <p style="text-align: center;">Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i>.</p> <p style="text-align: center;"><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	<p>Hipótesis de Investigación:</p> <p>Hi: El aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.</p> <p>Hipótesis Nula:</p> <p>Ho: El aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) no tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.</p>	<p style="text-align: center;">Tipo y nivel de Investigación.</p> <p>El tipo de la investigación es cuantitativa, experimental, prospectivo, transversal y analítico. De nivel explicativo.</p> <p style="text-align: center;">Diseño de investigación</p> <p>Experimental puro (de grupos en paralelo).</p> <p style="text-align: center;">Población y muestra</p> <p>La población y la muestra estuvo conformada por 8 repeticiones para cada grupo experimental y control, haciendo un total 40 muestras.</p> <p>Muestreo no probabilístico por conveniencia</p>

4.7 Principios éticos.

La investigación desarrolló respetando los principios de ética y bioseguridad en el control de las cepas adquiridas, bajo la supervisión de un especialista en el campo de la microbiología, a fin de evitar problemas de contaminación en las instalaciones y el personal. Se aclara los criterios éticos basados en la autenticidad, originalidad y veracidad, debido a que para la elaboración de la presente investigación se tomaron en cuenta que los datos recopilados fueron reales.

Asimismo, la investigación tomó en cuenta todos los principios y valores éticos estipulados en el Código de Ética para la Investigación versión 004, aprobado por con Resolución N° 0037-2021-CU-ULADECH del Consejo Universitario de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

- **Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad:** Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y tomar medidas para evitar daños.⁵¹
- **Justicia.** El investigador ejerce un juicio razonable, ponderable y toma las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas.⁵¹
- **Integridad científica.** La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas

de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, se mantiene la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieron afectar el curso de la investigación.⁵¹

V. Resultados

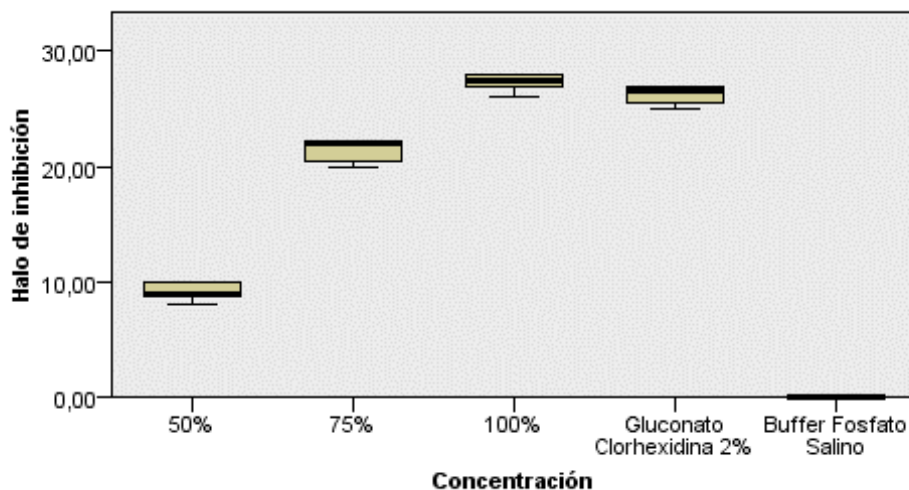
5.1. Resultados:

Tabla 1.- Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

	Concentración	N	Rango promedio	P
Halo de inhibición	50%	8	9,25	H = 37,057
	75%	8	21,38	
	100%	8	27,38	
	Gluconato Clorhexidina 2%	8	26,25	p = 0,000
	Buffer Fosfato Salino (PBS)	8	0,00	
	Total	40		

Fuente: Base de datos.

*H= Prueba Kruskal-Wallis (p=0,000).



Fuente: Datos de la tabla 01.

Gráfico 1.- Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Interpretación: Se observó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, del

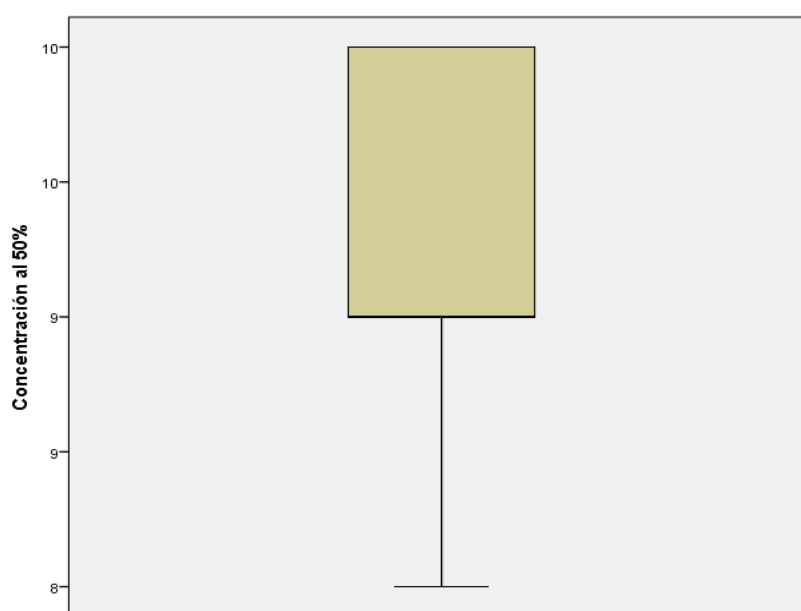
mismo modo, el efecto frente al el control positivo de Gluconato clorhexidina 2% y el control negativo de Buffer fosfato salino (PBS); demostrando que la concentración al 100% produjo el mayor rango de medias con 35,13mm; seguido del control positivo de Gluconato clorhexidina 2% con un rango de 29,88mm; luego la concentración al 75% con el rango promedio de 20,50mm; la concentración al 50% produce un rango promedio de 12,50mm; y el control negativo Buffer fosfato salino (PBS) produjo rango promedio 4,50mm.

La prueba estadística No Paramétrica Kruskal-Wallis mostró una significancia estadística $p=0,000 < 0,05$; por lo cual, como el valor p es menor que 0,05 entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación, con lo que se concluyó que, con un nivel de significancia del 5%: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

Tabla 2.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 50% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Concentración 50%	8	9,25	0,71	0,25	8,66	9,84	8	10

Fuente: Base de datos.



Fuente: Datos de la tabla 02.

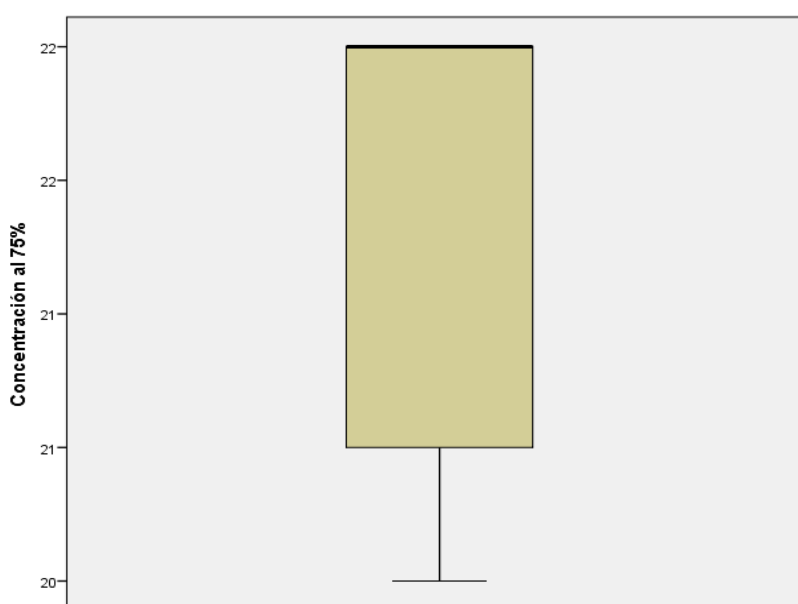
Gráfico 2.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 50% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Interpretación: Se observó la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 50% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó un halo de inhibición con una media 9,25mm; con un límite mínimo de 8mm y un máximo de 10mm.

Tabla 3.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 75% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Concentración 75%	8	21,38	0,92	0,32	20,61	22,14	20	22

Fuente: Base de datos.



Fuente: Datos de la tabla 03.

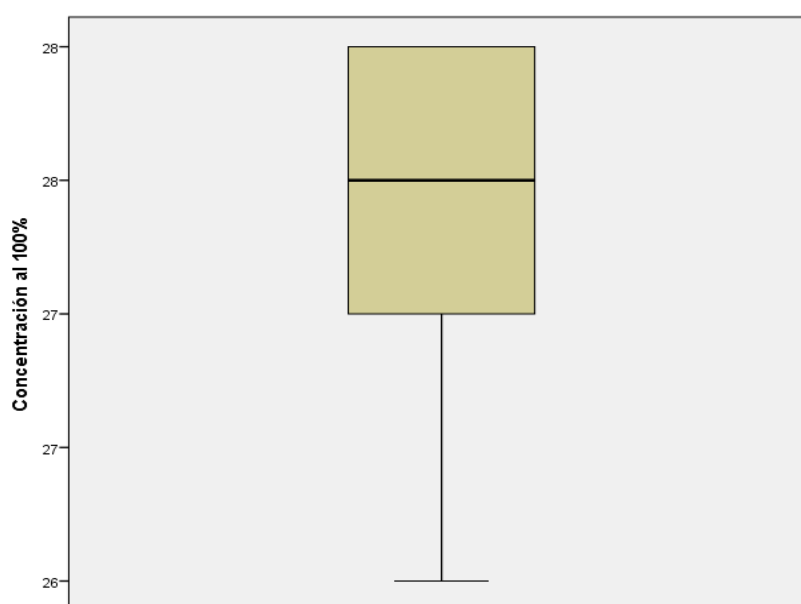
Gráfico 3.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 75% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Interpretación: Se observó la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 75% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó un halo de inhibición con una media 21,38mm; con un límite mínimo de 20mm y un máximo de 22mm.

Tabla 4.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Halo de inhibición	N	Media	DS	Error estándar	95% IC		Mín	Máx
					Lím inf	Lím sup		
Concentración 100%	8	27,38	0,74	0,26	26,75	28,00	26	28

Fuente: Base de datos.



Fuente: Datos de la tabla 04.

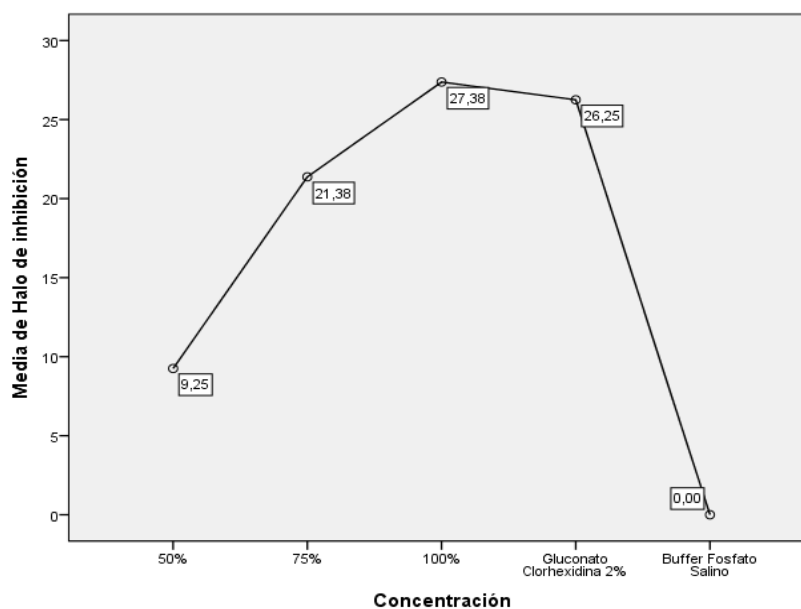
Gráfico 4.- Efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Interpretación: Se observó la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, presentó un halo de inhibición con una media 27,38mm; con un límite mínimo de 26mm y un máximo de 28mm.

Tabla 5.- Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* con la Clorhexidina al 2% y el PBS (Buffer fosfato salino) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
Buffer Fosfato Salino	8	0,00				
Concentración 50%	8		9,25			
Concentración 75%	8			21,38		
Gluconato Clorhexidina 2%	8				26,25	
Concentración 100%	8					27,38
Sig,		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Fuente: Prueba Post Hoc Duncan.



Fuente: Datos de la tabla 05.

Gráfico 5.- Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* con la Clorhexidina al 2% y el PBS (Buffer fosfato salino) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

Interpretación: La prueba estadística Post Hoc Duncan permitió comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* con la Clorhexidina al 2% y el PBS (buffer fosfato salino) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175; demostrando que la concentración al 100% presentó mayor efecto con una media 27,38mm; seguido del Gluconato clorhexidina 2% (26,25mm); la concentración al 75% (21,38mm); la concentración al 50% (9,25mm) y sin efecto alguno el control negativo Buffer fosfato salino (PBS) con una media 0,00mm; observándose diferencias entre los grupos.

5.2. Análisis de resultados

- Los resultados de la investigación lograron determinar que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en sus concentraciones 50%, 75% y 100% tienen efecto antibacteriano frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, corroborado mediante la prueba estadística Kruskal-Wallis ($p=0,000$). Datos semejantes se hallaron en el estudio de Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019) quien concluyó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% tuvieron efectividad frente a cepas de *Streptococcus mutans* ($p=0,000$). Del mismo modo, para Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* presenta efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans* ($p=0,000$). Asimismo, para Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019) la concentración de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) al 75% y 100% tuvieron efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ($p=0,000$). De igual forma, para Janampa E.¹³ (Lima, 2018) el *Rosmarinus officinalis* presentó actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATC25175 ($p=0,000$). Nuestros resultados evidencian que a medida que aumentó la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero), también aumentaron los halos de inhibición, determinando que, a mayor concentración del extracto, mayor es el efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*. Por lo que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* es una de las mejores opciones dentro de la medicina natural, por poseer propiedades antiinflamatorias, actividad antibacteriana,

cicatrizantes que ayudan a contrarrestar la aparición de patógenos en la cavidad oral, esto se debería a las hojas del romero que presentan en su composición los polifenoles los cuales desempeñan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento bacteriano. Se ha reportado que algunos ácidos orgánicos presentes como (ácido ascórbico, ácido rosmerico, ácido cafeico) son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias. (Tabla 01)

- Se logró determinar que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 50% mostró actividad antibacteriana del sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, alcanzando un halo de inhibición promedio de 9,25mm. Datos similares se hallaron en el estudio de Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019) quien observó un halo promedio de *Rosmarinus officinalis* al 50% de 8,00mm. Por lo cual podría aplicarse para el tratamiento de inflamaciones de la boca en forma tópica y como enjuague bucal para la higiene oral. Esta similitud corrobora que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* tiene efecto sobre el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans*, por lo que es una excelente alternativa para disminuir el crecimiento de esta bacteria y por ello la aparición de caries. Mientras que, valores diferentes se evidenciaron en el estudio de Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) para quien el halo inhibitorio de *Rosmarinus officinalis* al 50% fue 6,73mm. Entre tanto, datos muy diferentes se evidenció en el estudio de Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019) quien observó que el halo promedio de *Rosmarinus officinalis* al 50% fue 12,30mm. Por su parte, para Janampa E.¹³ (Lima, 2018) la media

de *Rosmarinus officinalis* al 50% fue 11,21mm. Los resultados de estos autores difieren con respecto al obtenido en nuestro estudio; esta diferencia de medidas de los halos de inhibición podría estar influenciado por factores procedimentales, como el ambiente de trabajo, humedad relativa, edad de la planta, técnica microbiológica empleada como difusión en disco o agar en pozo, entre otros. (Tabla 02)

- De igual modo, el estudio reveló que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* al 75% presentó actividad antibacteriana sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con un halo de inhibición promedio de 21,38mm. Mientras que, datos muy distintos se mostraron en el estudio de Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019) para quien el halo promedio de *Rosmarinus officinalis* al 75% fue 10,06mm. Por su parte, para Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) el halo inhibitorio de *Rosmarinus officinalis* al 75% fue 9,27mm. Entre tanto, para Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019)⁹ el halo de inhibición promedio de *Rosmarinus officinalis* al 75% fue 10,80mm. No obstante, para Janampa E.¹³ (Lima, 2018) el halo promedio de *Rosmarinus officinalis* al 75% fue 12,19mm. Esta diferencia observada puede atribuirse a diferencias en el método de extracción del aceite, grado de madurez y origen, y los compuestos químicos añadidos a los productos comerciales, dado que estos los agentes que intervienen en los medios de cultivos, sin embargo, se demuestra, en comparación con la concentración al 50%, que el mayor halo inhibitorio se da con una mayor concentración, siendo directamente proporcional. (Tabla 3)
- Del mismo modo, se logró determinar que, el aceite esencial de

Rosmarinus officinalis al 100% presentó actividad antibacteriana sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con un halo de inhibición promedio de 27,38mm. Mientras que, valores diferentes se evidenciaron en el estudio de Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019) donde el halo de inhibición promedio de *Rosmarinus officinalis* al 100% fue 13,47mm. Entre tanto, para Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) la media del halo de *Rosmarinus officinalis* al 100% fue 12,40mm. Por otra parte, para Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019) el halo de inhibición promedio de *Rosmarinus officinalis* al 100% fue 13,70mm. Entre tanto, para Cueva J.¹⁵ (Lima, 2018) el halo promedio del aceite de romero al 100% fue 19,3mm. Los desacuerdos en los resultados pueden verse influenciadas por las diferencias en el diseño experimental, las diferencias propias de las cepas y el perfil químico del aceite el cual varía con la época del año en la que se recolecta el material vegetal, los fertilizantes utilizados, la posición geográfica, el genotipo, el método de extracción, entre otros factores que influyen en la expresión de metabolitos secundarios. (Tabla 4)

- De la misma forma, se logró comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en sus concentraciones con la Clorhexidina al 2% y el PBS (Buffer fosfato salino) frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, observándose que la mayor efectividad la produjo la concentración de aceite de romero al 100% (27,38mm), seguido del control positivo Clorhexidina al 2% (26,25mm). Datos similares se hallaron en el estudio de Naranjo A.⁷ (Ecuador, 2019)

donde evidenció que el efecto del *Rosmarinus officinalis* al 100% fue superior a la Clorhexidina al 0,12%. Los resultados de estos estudios son prometedores, debido a que el microorganismo analizado es importante en la etiología de las caries y enfermedades periodontales. También muestran la importancia de las aplicaciones terapéuticas del *Rosmarinus officinalis* (romero) como método alternativo y su bajo costo en la prevención de las patologías orales. De esta manera pasaría como parte del arsenal en el uso de las plantas medicinales en odontología, ya que sería una alternativa económica y fácil acceso para la población. Mientras que, datos distintos se mostraron en el estudio de Salas S.¹¹ (Ecuador, 2017) quien demostró que el mayor efecto tuvo la clorhexidina al 0,12% seguido de la *Rosmarinus officinalis* al 50%. Por otro lado, para Cáceres R, Ramírez D.⁹ (Lima, 2019) mayor efecto tuvo el control positivo Ciprofloxacino (24,50mm), seguido de *Rosmarinus officinalis* al 100% (13,70mm). Entre tanto, para Janampa E.¹³ (Lima, 2018) el mayor efecto tuvo el control positivo clorhexidina al 0,12% (12,89mm) seguido de *Rosmarinus officinalis* al 75% (12,19mm). La diferencia entre los resultados podría deberse a que se están evaluando compuestos con posible actividad antibacteriana, a concentraciones desconocidas y embebidas en la matriz compleja del aceite esencial, frente a un fármaco con un mecanismo de acción conocido y actividad antimicrobiana ampliamente estudiada; por ello la Clorhexidina el antiséptico más eficaz y considerada el Gold standard por la OMS. (Tabla 5)

VI. Conclusiones

1. El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) presenta efecto antibacteriano en concentraciones de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
2. El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 50% presenta el efecto antibacteriano frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con un halo promedio 9,25mm.
3. El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 75% presenta el efecto antibacteriano frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con un halo promedio 21,38mm.
4. El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% presenta el efecto antibacteriano frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con un halo promedio 27,38mm.
5. Al comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se determinó mayor efecto de la concentración al 100% (27,38mm) seguido de la Clorhexidina al 2% (26,25mm), mientras que el Buffer fosfato salino (0,00mm) no presenta efecto; todas las concentraciones de *Rosmarinus officinalis* presentan algún efecto.

Aspectos complementarios

Recomendaciones:

- Se recomienda elaborar un estudio, para verificar en que otras concentraciones el aceite esencial presenta halos de inhibición.
- Es recomendable seguir con investigaciones *in vitro*, para averiguar todo el potencial que el *Rosmarinus officinalis* (romero) puede tener como agente antibacteriano de origen natural.
- Fomentar estudios de investigación que continúe con la búsqueda, sobre medicina natural que sirvan como alternativa en la actualidad.

Referencias bibliográficas:

1. Torres H. Estudio epidemiológico sobre caries dental y necesidades de tratamiento en escolares de 3 a 5 años de edad de Huacho, Perú. *Revista Salud, Sexualidad y Sociedad*. [Internet]. 2010 [citado 10 marzo 2022]; 3(1). Disponible en: https://inppares.org/magazine/Revista%20IX%202010/12-Caries_Dental.pdf
2. Ojeda J, Oveido E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *Rev. CES Odont*. [Internet]. 2013 [citado 10 marzo 2022]; 26(1) 44-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005
3. Escamilla B, Moreno P. *Plantas medicinales*. 1ª. Ed. México: Instituto Literario de Veracruz; 2015. Disponible en: http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf
4. OMS. *Estrategia sobre medicina tradicional*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2014. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf
5. OMS. *Centro de prensa 2004*. Ginebra: Organización mundial de la salud; 2015. Disponible en: <https://apps.who.int/mediacentre/news/releases/2004/es/index.html>
6. Garcés E. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) vs *Caléndula officinalis* sobre cepas de *Streptococcus mutans*: estudio *in vitro*. [Trabajo de Investigación presentado previo a la obtención del

Título de Odontóloga]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2019.
Disponible en: <http://200.12.169.19/handle/25000/17347>

7. Naranjo A. Efecto inhibidor del aceite esencial de *Thymus Vulgaris L.* (Tomillo) y *Rosmarinus Officinalis* (Romero) en diferentes concentraciones frente a cepas de *Streptococcus mutans*. [Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título de Odontóloga]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2019. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/17673>
8. García J. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 comparado con amoxicilina in vitro. [Tesis para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista]; Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo; 2020. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/45593>
9. Cáceres R, Ramírez D. Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanólico del *Artemisia absinthium l.* (ajenjo) y *Rosmarinus officinalis l.* (romero) en cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico y Bioquímico]; Lima, Perú: Universidad Inca Garcilaso de La Vega; 2019. Disponible en: <http://168.121.45.179/handle/20.500.11818/5333/>
10. Vásquez G, Guardia G. Efecto antibacteriano del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175: un estudio in vitro. [Internet]. 2021 [citado 20 marzo 2022]; 15 (4): 922-927, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000400922>

11. Salas S. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* vs clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus Mutans*. [Proyecto de investigación presentado como requisito previo a la obtención del Título de Odontóloga]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13420>
12. León A. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y el Diguconato de Clorhexidina al 0,05% y 0,12% más Cloruro de cetilpiridinio 0,05% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, estudio comparativo in vitro. [Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista]; Lima, Perú: Universidad Privada Norbert Wiener; 2019. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2784>
13. Janampa E. Efectividad in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* romero frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]; Lima, Perú: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2018. Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/2564>
14. Cubas L. Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico y Acuoso de la Hoja de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre Cepas de *Streptococcus Betahemolítico* del Grupo A comparado con Ampicilina. [Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano]; Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo; 2018. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/25754>
15. Cueva J. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Romero (*Rosmarinus oficcinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in

- vitro. [Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano]; Lima, Perú: Universidad César Vallejo; 2018. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1031/>
16. Gómez R. Plantas medicinales. Rev. Fitotec. Mex. 2012: 35 (1): 43-49. Disponible en: <https://acortar.link/99VgDC>
17. Domingo D, López M. plantas con acción antibacteriana. Rev. Esp. Quimioterap. [Internet]. 2013 [citado 10 marzo 2022]; 16(4): 185-396. Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>
18. Muñoz L. Plantas medicinales españolas, *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (Romero). Stud. Bot. [Internet]. 2012 [citado 10 marzo 2022]; 1: 105-118. Disponible en: <https://gredos.usal.es/handle/10366/56360>
19. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. Periodontology 2000. [Internet]. 2002 [citado 10 marzo 2022]; 29: 7-10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12102700/>
20. De Sousa T, Monte D. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Ensaio e Ciência. Nursing: [Internet]. 2007; [citado 10 marzo 2022]; 7-13. Disponible en: <https://repositorio.pgsskroton.com/handle/123456789/971/>
21. Ávila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Meza R, et al. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar. [Internet]. 2011 [citado 10 marzo 2022]; 15 (43): 23-36. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Cienciaymar/2011/no43/3.pdf>

22. González A, Cruz A, Vega J. Guía técnica del cultivo de romero (*Rosmarinus officinalis*). México: Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.; 2013, Disponible en: <https://docplayer.es/7373729-Guia-tecnica-del-cultivo-de-romero-rosmarinus-officinalis-alvaro-gonzalez-michel-arturo-cruz-falcon-juan-e-vega-mayagoitia.html>
23. Estrada S. Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). [Tesis de grado previa a la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico]. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Chimborazo; 2010. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/699>
24. Vivancos, V. Estudio de la Variabilidad química, propiedades antioxidantes y biocidas de poblaciones espontáneas de *Rosmarinus officinalis L.* en la región de Murcia. [Tesis para optar el Grado de Doctorado]. Murcia, España: Universidad de Murcia; 2014. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10201/41969>
25. Sánchez F. Orégano y Romero: Cultivo, calidad, tecnología y mejoramiento. Chile: Fundación Chile; 2005. Disponible en: <https://www.opia.cl/601/w3-article-5503.html>
26. Coy, C. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cub de Plantas Medicinales. [Internet]. 2013 [citado 10 marzo 2022]; 18(2): 237-246. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?>

IDARTICULO=41070

27. Guerrero C, Rodriguez H, Brito J. Essencial oils of *Rosmarinus officinalis* L. effect of harvesting dates growing media and fertiizers. Greece. [Internet]. 2007 [citado 10 marzo 2022]; 24(2): 65-70. Disponible en: <https://acortar.link/qzy8Rf>
28. Eugenia Caryophyllata, Origanumvulgare, *Rosmarinus officinalis* Y Thymus vulgaris frente a Clostridium perfringens. Biosalud. [Internet]. 2014 [citado 10 marzo 2022]; 47-57. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5826/582663826003.pdf>
29. Rodríguez E, Árias A, et al. Rendimiento y Capacidad Antioxidante de Extractos de *Rosmarinus officinalis*, Salvia Officinalis y Psidium Guajava obtenidos con CO₂ supercítico. Rev. acad. colombo. cienc. exacto. fis. nacional [Internet]. 2012 [citado 20 marzo 2022]; 56(140): 306-315. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-39082012000300001
30. Cowan M. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Review. [Internet]. 1999 [citado 20 marzo 2022]; 564–582. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.12.4.564>
31. Feitosa A, Dantas F, Wanderley C, Nascimento P. Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales para su uso en el Sistema Único de Salud. Rev Cubana Estomatol. [Internet]. 2019 [citado 20 marzo 2022]; 56 (4):1-16. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=97049>

32. ESCOP European Scientific Cooperative on Phytotherapy. Monographs on the medicinal uses of plant drugs. ESCOP, [Internet]. 1997 [Citado 25 octubre 2019]. Disponible en: <https://escop.com/about-escop/>
33. Genena A, Hense H, Smania J, et al. (*Rosmarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. [Internet]. 2008 [citado 20 marzo 2022]; 28(2): 463-469. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cta/a/8sV8RrdSKHHmhVctQVs8Qtc/abstract/>
34. Hentz S, Santin N. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. *Evidência*, Joaçaba. [Internet]. 2007 [citado 20 marzo 2022]; 7(2): 93-100. Disponible en: <https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/evidencia/article/view/1863>
35. Guerra M, Rodríguez M, Garia G. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus*. *Rev. Cubana PlantMed*. La Habana, [Internet]. 2014 [citado 20 marzo 2022]; 9 (2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200005
36. Campos J, Arrais I, Medeiros J, Pereira L, Gongim A. Ação antibacteriana de *Rosmarinus officinalis* L. e *Maytenus ilicifolia* Mart. sobre bactérias orais. *RFO UPF*. [Internet]. 2015 [citado 20 marzo 2022]; 20 (3). Disponible en: <http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?pid=S1413-40122015000300007>
37. Araújo M, Silva R, Higinio J, et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bacterias orais

- planctónicas. Revista Brasileira de Farmacognosia. [Internet]. 2015 [citado 20 marzo 2022]; 18(2): 236-240. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/bXkB9yX8gRXF5HwL4R6R7dH/?lang=pt>
38. Wanderley Y, Almeida L, Nascimento W. Anti-adherent activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Candida albicans*: an SEM analysis. Revista Odonto Ciencia. [Internet]. 2011 [citado 20 marzo 2022]; 26(2): 139-144. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-65232011000200008>
39. Purca T. Efectividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. [Tesis para optar obtener el Título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2013. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3092>
40. López M. El romero Planta aromática con efectos antioxidantes. Ámbito Farmacéutico fitoterapia. [Internet]. 2018 [citado 20 marzo 2022]; 27 (7): 60-63. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-romero-planta-aromatica-con-13124840>
41. Pérez J. De Estrada R, Fuentes I. Asociación del Estreptococos mutans y lactobacilos con la caries dental en niños. Rev. Cub. Estomatol. [Internet]. 2007 [citado 20 marzo 2022]; 44 (4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-75072007000400002
42. Clarke K. On the bacterial factor in the a etiology of dental caries. BrJ Exp Pathol, [Internet]. 2011 [citado 20 marzo 2022]; 5 (3): 141-147. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2047899/>

43. Estrada R, Pérez, J. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev. Cubana Estomatol. [Internet]. 2010 [citado 20 marzo 2022]; 41 (1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007
44. Núñez P, García L. Bioquímica de la caries dental. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2010 [citado 20 marzo 2022]; 9(2): 156-166. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004
45. Hueso A, Cascant J. Metodología y técnicas cuantitativas de investigación. España: Editorial Universidad Politécnica de Valencia; 2012. Disponible en: <http://repositorio.minedu.gob.pe/handle/20.500.12799/4600>
46. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015. Disponible en: <https://seminariosdeinvestigacion.com/>
47. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6ª ed. México: Mc Graw Hill; 2014. Disponible en: <https://n9.cl/65f>
48. Lalaleo M. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) sobre el *Streptococcus mutans*. [Proyecto de Investigación presentado como requisito previo a la obtención del Título de Odontóloga]. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2016. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/7753>
49. Centurión Villar. Efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus*

mutans ATCC 35668. [Tesis para obtener el grado de Maestro en Estomatología]. Trujillo, Perú: Universidad Antenor Orrego; 2015. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12759/972>

50. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). [Internet]. 2013 [citado 20 marzo 2022]; 33 (1): 100-123. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>

51. Instituto de investigación. Código de ética para la investigación. 4ª ed. Chimbote: ULADECH Católica; 2021. pp. 3–4. Disponible en: <https://web2020.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v004.pdf>

ANEXOS



CARTA DE AUTORIZACIÓN


UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA

CARGO
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA

Año de la Lucha contra la Corrupción e Impunidad

Chimbote, 05 de Mayo del 2019

CARTA N° 020-2019- DIR-EPOD-FCCS-ULADECH Católica

Sr.:
Mg. Q.F. Edison Vázquez Corales
Jefe Laboratorio de Química de la Escuela de Farmacia y Bioquímica
ULADECH Católica
Presente.

A través del presente, reciba Ud. el cordial saludo en nombre de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en esta ocasión en mi calidad de director de la Escuela Profesional de Odontología, para solicitarle lo siguiente:

En cumplimiento del Plan Curricular del programa de Odontología, la estudiante viene desarrollando la asignatura de Tesis II, a través de un trabajo de investigación denominado **EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS FRENTE AL CRECIMIENTO DEL STREPTOCOCCUS MUTANS, CHIMBOTE, 2019.**

Para ejecutar su investigación, la alumna ha seleccionado la institución que Ud. dirige, por lo cual, solicito brindarle las facilidades del caso al estudiante: **Manrique Anticona Cristina Stephany**; a fin de realizar el presente trabajo.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente;


Mg. C.D. Wilfredo Edmundo Torres
DIRECTOR


Mg. Q.F. Edison Vázquez Corales
JEFE LAB. QUÍMICA I y II

Av. Pardo Nro. 4199 - A.H. San Juan
Chimbote, Perú
Tel: (0431) 350411
www.uladech.edu.pe

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE
ESENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* FRENTE AL CRECIMIENTO DEL
STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, DISTRITO DE CHIMBOTE,
PROVINCIA DEL SANTA, DEPARTAMENTO DE ÁNCASH, AÑO 2019**

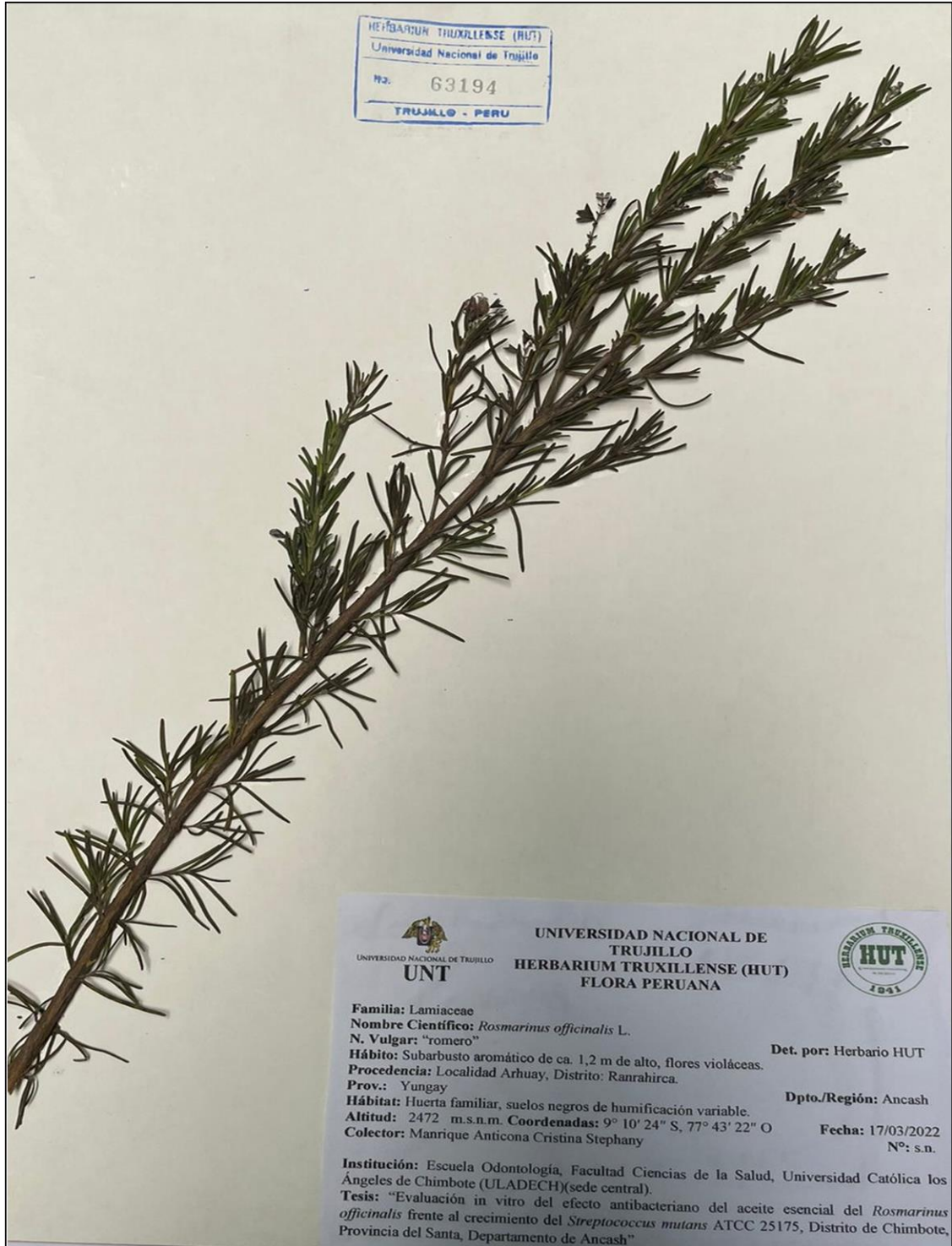
Aceite esencial Concentración	Diámetro de los halos de inhibición según concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (mm)			C+ (mm)	C- (mm)
	50%	75%	100%		
Repeticiones					
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					

C+ = Gluconato de clorhexidina al 2%

C- = PBS (buffer fosfato salino)

*Lalaleo M. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) sobre el *Streptococcus mutans*. [Proyecto previo a la obtención del Título de Odontóloga]. Quito: UCE; 2016. p. 62.*

CONSTANCIA DEL HERBARIO





CONSTANCIA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

Yo, EDISON VÁSQUEZ CORALES, docente de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote – ULADECH con DNI 41687018, dejo constatar mi colaboración con la alumna CRISTINA STEPHANY MANRIQUE ANTICONA, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote - ULADECH con DNI 71394080, en las actividades de preparación de la muestra vegetal y extracción del aceite esencial de las hojas de romero, en el laboratorio de investigación de Farmacia y Bioquímica de ULADECH Católica. El aceite esencial extraído será utilizado para el desarrollo de la tesis titulada: Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.


UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
ESCUELA PROF. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
Mg. Q.F. Edison Vásquez Corales
JEFE LAB. QUÍMICA I Y II

EDISON VÁSQUEZ CORALES

DNI 41687018



ANEXO 05



CONSTANCIA DE MICROBIOLOGIA

Yo, MANUELA N. LUJAN VELASQUEZ Docente de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo y con DNI 17896833.

Dejo constatar mi colaboración con la alumna MANRIQUE ANTICONA CRISTINA STEPHANY, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote con DNI 71394080, en la ejecución de la parte microbiológica lo cual fue realizado en el laboratorio de Inmunología.

Proyecto de tesis titulada: Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

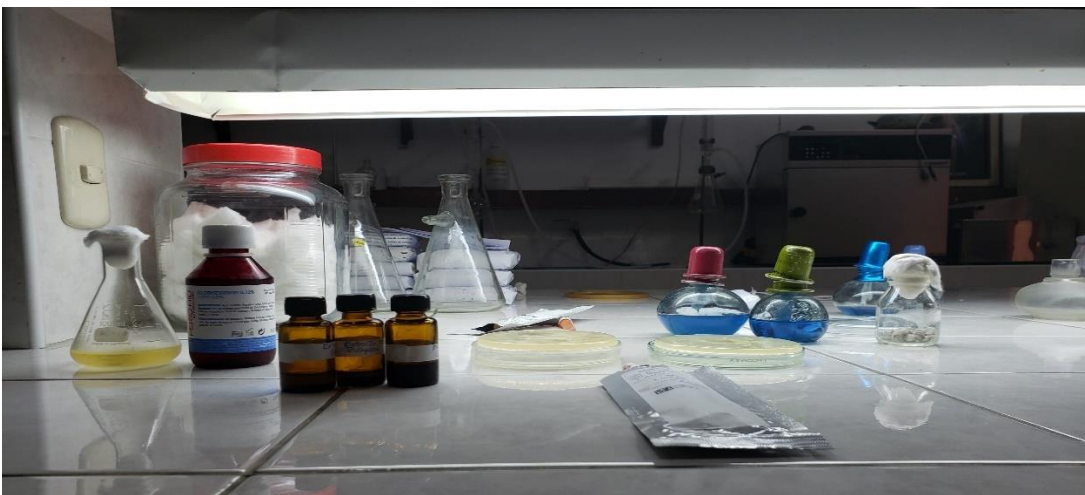
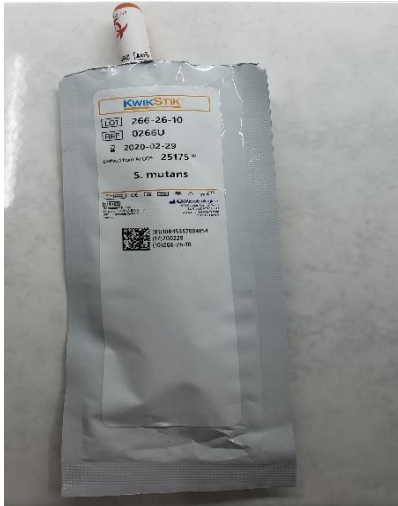
Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez
CATEDRA DE INMUNOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

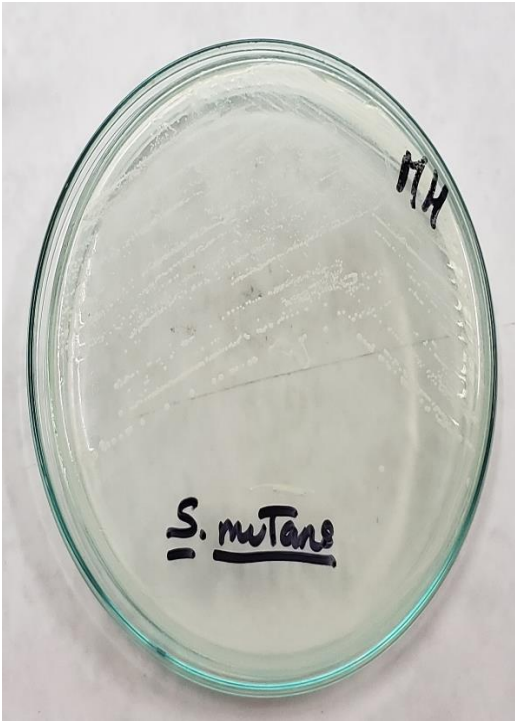
FOTOGRAFÍAS DEL PROCEDIMIENTO

ELABORACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*.

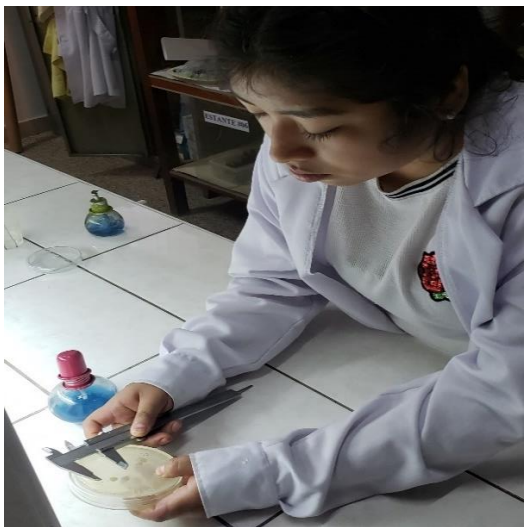
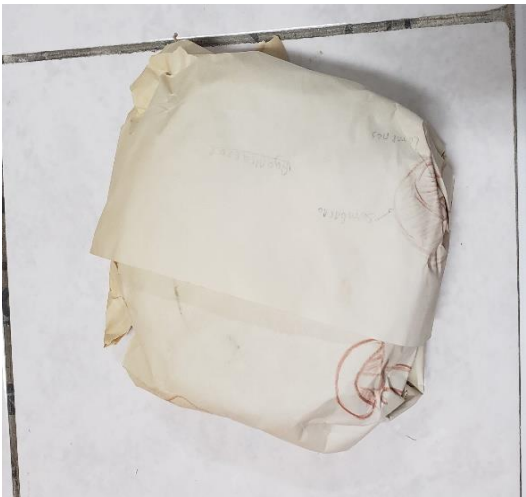
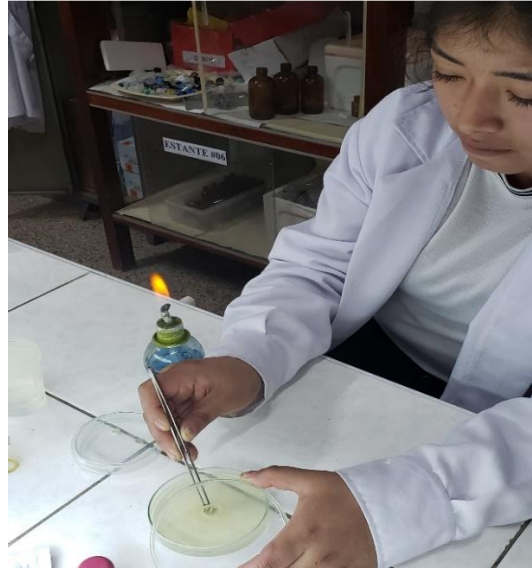


**PROCEDIMIENTO DE LA EVALUACIÓN DEL EFECTO *IN VITRO* DE
TRES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE *ROSMARINUS
OFFICINALIS* “ROMERO” SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC
25175.**









CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Se aplicó la prueba estadística Kruskal-Wallis.

1. Planteamiento de hipótesis

- **H_i**: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.
- **H₀**: El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) no tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

2. Nivel de confianza

Nivel de confianza = **0,95 (95%)**

Nivel de significancia: **$p = 0,05$ (5%)**

La significancia es el valor estándar y en base a ello se determinó si se acepta o se rechaza la hipótesis de investigación.

3. Establecimiento de los criterios de decisión

La prueba estadística se realiza en base a la hipótesis nula.

- Si el valor de significancia **$p > 0,05$** se acepta H_0 se rechaza H_i .
- Si el valor de significancia **$p < 0,05$** se rechaza H_0 ; se acepta H_i .

4. Cálculos

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

Tabla 6.- Kruskal-Wallis: efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

	Concentración	N	Rango promedio
Halo de inhibición	50%	8	12,50
	75%	8	20,50
	100%	8	35,13
	Gluconato Clorhexidina 2%	8	29,88
	Buffer Fosfato Salino	8	4,50
	Total	40	

Estadísticos de prueba ^{a,b}

Halo de inhibición	
Chi-cuadrado	37,057
Gl	4
Sig. Asintótica	0,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Concentración

Fuente: Análisis Kruskal-Wallis - SPSS.

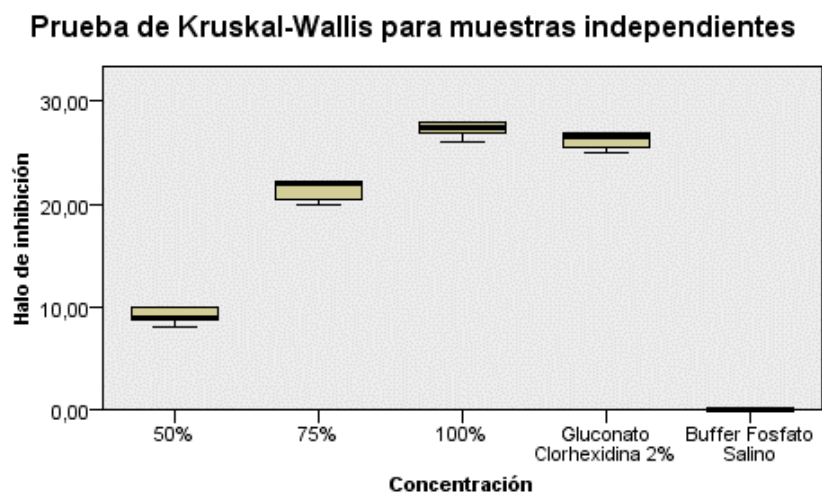
5. Decisión

La prueba Kruskal-Wallis, arroja una significancia $p = 0,000 < 0,05$.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis de investigación.

- ✓ **H₀:** El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) tiene efecto antibacteriano a concentración de 50, 75 y 100% frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019.

Gráfico 6.- Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019



N total	40
Estadístico de contraste	37,057
Grados de libertad	4
Significación asintótica (prueba bilateral)	,000

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

Fuente: Análisis Kruskal-Wallis por SPSS.

PRUEBA DE NORMALIDAD

Los datos fueron sometieron al tratamiento estadístico mediante el software IBM SPSS Statistics v.25, para verificar si las muestras provienen de una población con distribución normal o no normal, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($n > 50$) o Shapiro-Wilk ($n \leq 50$) e indicar inicialmente:

➤ **Criterio para determinar Normalidad:**

- ✓ $p \geq 0,05$ **Acepta H_0** = Los datos provienen de una Distribución Normal.
- ✓ $p < 0,05$ **Acepta H_i** = Los datos provienen de una Distribución No normal.

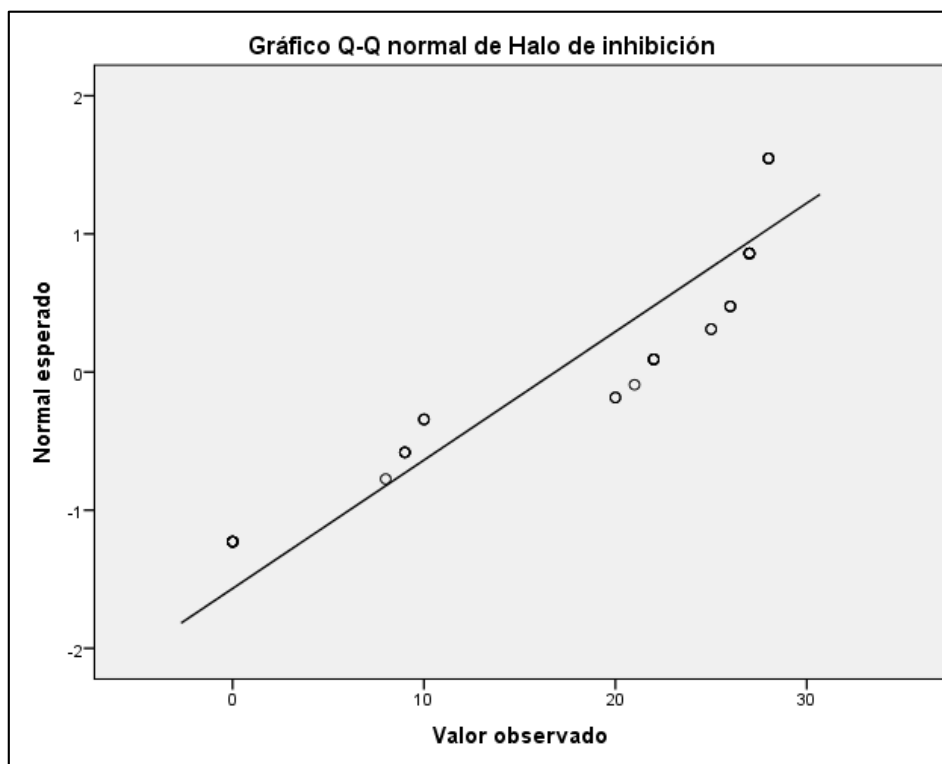
Tabla 7.- Prueba de normalidad para efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Halo de inhibición	.215	40	.000	.818	40	.000

Fuente: Análisis de SPSS.

El resultado en base de la prueba Shapiro-Wilk ($n < 50$), muestra una significancia menor al límite ($p = 0,000 < 0,05$); lo que permite aceptar H_i , demostrando que la muestra proviene de una Distribución No Normal; por ello se aplica la Prueba No Paramétrica Kruskal-Wallis para muestras independientes; el cual es apto para estudios transversales de muestras independientes y más de dos grupos.

Gráfico 7.- Prueba de normalidad para efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento de Áncash, año 2019



Fuente: Datos de tabla 7.



ANEXO 09



HOJA DE CONFLICTO DE INTERESES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio titulado *Evaluación in vitro* del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* frente al crecimiento del *Streptococcus mutans* ATCC25175, Distrito de Chimbote, Provincia del Santa, Departamento Áncash, año 2019.

MANRIQUE ANTICONA, CRISTINA STEPHANY

DNI N° 71394080