



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE  
ESENCIAL DE LA INFLORESCENCIA DE *Matricaria  
chamomilla* (MANZANILLA) SOBRE CEPA DE  
*Streptococcus mutans sp.***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTORA  
OBANDO VIDAL, ROSITA MAGALY**

**ASESOR  
Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2018**

## **JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega.

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau.

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera.

**Asesor**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todopoderoso:

Por permitirme llegar hasta esta instancia de mi vida profesional y a mi alma mater, la UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE, por brindarme la oportunidad de cumplir el sueño de ser profesional.

A mis padres: Quienes con su apoyo incondicional en todo momento han permitido pueda terminar con éxito mi carrera profesional.

A la Universidad ULADECH, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus aulas para ser profesional.

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

## **DEDICATORIA**

### **A mis Padres y hermanos**

Quienes me apoyaron en toda mi carrera profesional de manera incondicional, y todo el tiempo estuvieron ahí para brindarme su apoyo.

### **A mi esposo**

Quien me apoyó y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir y a mi hija que es la inspiración para seguir adelante.

### **A mis maestros:**

Quienes nunca desistieron al enseñarme, aun sin importar que muchas veces no ponía atención en clase, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal en el tiempo, in vitro con enfoque cuantitativo, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre la cepa de *Streptococcus mutans sp* (ATCC 25175). Para determinar el efecto antibacteriano se utilizó el método de estrías, la droga vegetal se obtuvo de la Provincia de Otuzco, Departamento La Libertad, se sembró la cepa de *Streptococcus mutans sp* en placas Petri y se agregó el aceite esencial observándose halos de inhibición en (mm) con promedios y desviación estándar en las concentraciones 10% ( $8 \pm 0.76$ ), 15% ( $11.88 \pm 0.99$ ), 25% ( $16.75 \pm 1.48$ ), 50% ( $20 \pm 4.14$ ), 100% ( $26.75 \pm 6.11$ ) respectivamente, por lo cual se concluye que el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a diversas concentraciones presenta efecto antibacteriano, comprobándose que el nivel de significancia fue  $p = 0.000$  la cual es menor a  $p=0.01$ , con lo que se demuestra que existe una diferencia significativa entre las cinco concentraciones y que a mayor concentración mayor efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, (manzanilla) sobre la cepa *Streptococcus mutans sp*.

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano, halos de inhibición, *Streptococcus mutans*.

## ABSTRACT

The present research work was experimental, prospective and longitudinal in time, in vitro with quantitative approach, the objective of this study was to determine the in vitro antibacterial effect of the essential oil of the inflorescence of *Matricaria chamomilla* (chamomile) on the strain of *Streptococcus mutans* sp (ATCC 25175). To determine the antibacterial effect, the striae method was used, the plant drug was obtained from the Province of Otuzco, Department of La Libertad, the strain of *Streptococcus mutans* sp was planted in Petri dishes and the essential oil was added, observing halos of inhibition in ( mm) with averages and standard deviation in the concentrations 10% ( $8 \pm 0.76$ ), 15% ( $11.88 \pm 0.99$ ), 25% ( $16.75 \pm 1.48$ ), 50% ( $20 \pm 4.14$ ), 100% ( $26.75 \pm 6.11$ ) respectively, for which it is concluded that the essential oil of *Matricaria chamomilla* (chamomile) at various concentrations has antibacterial effect, proving that the level of significance was  $p = 0.000$  which is lower than  $p = 0.01$ , which shows that there is a significant difference between the five concentrations and that the greater the concentration, the greater the antibacterial effect of the essential oil of *Matricaria chamomilla*, (chamomile) on the strain *Streptococcus mutans* sp.

**Key words:** Antibacterial effect, inhibition halos, *Streptococcus mutans*.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA .....	6
2.1. Antecedentes .....	6
2.2. Bases teóricas.....	9
III. HIPÓTESIS .....	17
IV. METODOLOGÍA.....	18
4.1. Diseño de la investigación .....	18
4.2. Población y muestra .....	19
4.3. Definición y Operacionalización de las variables.....	20
4.4. Técnicas e Instrumentos.....	21
4.5. Matriz de consistencia .....	25
4.6. Plan de análisis .....	26
4.7. Principios éticos.....	26
V. RESULTADOS .....	27
5.1. Resultados.....	27
5.2. Análisis de resultados .....	28
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	31
6.1. Conclusiones .....	31
6.2. Recomendaciones .....	32
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
VIII. ANEXOS .....	40

## CONTENIDO DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> Evaluación del efecto antibacteriano in vitro sobre cepa de <i>Streptococcus mutans Sp</i> según la concentración del aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla).	27
--	----



## CONTENIDO DE FIGURAS

<b>Figura N° 01:</b> Planta medicinal de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) con la cual se realizó la presente investigación .....	40
<b>Figura N° 02:</b> Lugar de donde se obtuvo la planta medicinal para la presente investigación .....	40
<b>Figura N° 03:</b> Técnica que se utilizó para la extracción del aceite esencial es: Destilación por arrastre de vapor .....	41
<b>Figura N° 04:</b> Bacteria que se utilizó para realizar el proyecto. <i>Streptococcus mutans</i> .....	41
<b>Figura N° 05:</b> Muestra recolectada.....	42
<b>Figura N° 06:</b> Selección y limpieza.....	42
<b>Figura N° 07:</b> Inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) .....	42
<b>Figura N° 09:</b> Esterilización del material para la ejecución del trabajo de investigación .....	43
<b>Figura N° 10:</b> Activación de la cepa liofilizada.....	44
<b>Figura N°11:</b> Preparación de agar BHA.....	44
<b>Figura N° 12:</b> Realizando el sembrado de la bacteria <i>Streptococcus mutans sp</i> .....	44
<b>Figura N° 13:</b> Pasos para el crecimiento de la bacteria <i>Streptococcus mutans sp</i> .....	45
<b>Figura N° 14:</b> Observación de halos.....	46
<b>Figura N° 15:</b> Anexos de Compra de la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> .....	47
<b>Figura N° 16:</b> Anexos de Compra de medios de cultivo .....	48

## I. INTRODUCCIÓN

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), más del 80% de la población mundial, especialmente en los países en desarrollo, utiliza tratamientos tradicionales a base de plantas medicinales para sus necesidades de atención primaria de salud. No obstante, en los países ha ocurrido una pérdida importante del conocimiento tradicional <sup>(1)</sup>.

Actualmente la medicina tradicional es un recurso fundamental para la salud humana. Las plantas son empleadas con base para el desarrollo de la medicina y en algunas zonas rurales e indígenas, siendo el único recurso la medicina natural a partir de sus propiedades antiinflamatorias, antiespasmódicas como antibacterianas, últimamente ha recibido mucha atención de los científicos, comprobándose las propiedades de sus componentes que van confirmando que permiten combatir a los agentes patógenos, ya que en los últimos años se ha incrementado notoriamente los estudios de sustancias naturales entre ellas los de la *Matricaria chamomilla* (manzanilla) <sup>(2)</sup>.

Las relaciones hombre - planta con el transcurso del tiempo, han dado como resultado un alto conocimiento del uso de las especies vegetales, citándose como ejemplo los usos alimenticios, construcciones textiles y medicinales. Con respecto a este último, data desde tiempos inmemoriales, debido a que los preparados vegetales eran uno de los principales recursos que disponían el hombre en épocas pasadas para controlar sus padecimientos <sup>(3)</sup>. En el presente trabajo se intenta evaluar la actividad antibacteriana de un recurso natural, el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

Según Jáuregui<sup>(3)</sup> la *Matricaria chamomilla* (manzanilla) es considerada una planta medicinal y su eficacia curativa se conoce desde la antigüedad; la propiedad antibacteriana que se le atribuye a dicha planta es debido al bisabolol, aceite esencial terpenoide que forma parte de su composición química, pero también tenemos los flavonoides y cumarinas con actividad antibacteriana por lo que con el presente trabajo de investigación se intenta aportar a la población alternativas de solución sobre un tratamiento natural antibacteriano sobre la bacteria *Streptococcus mutans sp.*, principal causante de la caries dental.

Hoy en día la caries dental es una enfermedad infecciosa localizada, transmisible y muy prevalente de origen multifactorial que termina con la destrucción de los tejidos duros del diente por lo cual es de suma importancia en la salud pública ya que aqueja a toda la población ya sea adultos, niños e incluso lactantes. Sin ser esta una afección que comprometa la vida, pero en términos de dolor, deterioro funcional de la dentadura, disminución de la calidad de vida, muy costosa y con duración de por vida, es la importancia de querer encontrar un efecto bactericida mucho más económico que las pastas dentales fluoradas, y así nos permita ayudar a prevenir la enfermedad de la caries dental con mayor efectividad y tiempo de protección<sup>(4)</sup>.

Cosco, plantea que el azuleno, es el principal responsable de las propiedades antiinflamatorias de la manzanilla, aunque el mecanismo de su eficacia no se ha aclarado<sup>(5)</sup>. En cambio, al bisabolol se le atribuye una acción antiséptica y antibacteriana, comprobado con un extracto de inflorescencia *Matricaria*

*chamomilla* de (manzanilla) que produjo in vitro una acción antibacteriana sobre *Streptococcus mutans* sp causantes de la caries dental<sup>(6)</sup>.

La boca alberga innumerables microorganismos es un ecosistema de la complejidad, actualmente se puede identificar alrededor de 200 – 300 especies de bacterias que son nativas de la cavidad bucal humana y dependiendo de las condiciones del ambiente donde viven podrán crecer y multiplicarse. Es así que los dientes contienen su propia población característica. Existen también microorganismos comensales de otras partes del cuerpo, los cuales pueden estar presentes en la cavidad bucal y algunos permanecerán causando infecciones muy diversas<sup>(7)</sup>.

Se reconoce al *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de ésta bacteria en la cavidad oral<sup>(8)</sup>. Según Figueroa et al, realizaron estudios utilizando métodos de cultivo microbiológicos convencionales y demostraron que *Streptococcus mutans* es el principal asociado a caries dental<sup>(9)</sup>. Ojeda<sup>(10)</sup>, afirma que diversas investigaciones han asociado al *Streptococcus mutans* con la formación de caries dental, por lo cual altos grados de infección por *Streptococcus mutans* elevan el riesgo de padecer caries dental.

Las plantas medicinales recuperan parte del protagonismo que tuvieron en los primeros tratamientos médicos uno de ellos es el aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* (manzanilla) el cual tiene múltiples beneficios médicos bien conocidos pero su posible uso como antibacteriano de la principal bacteria implicada en la

formación de placa dentobacteriana es el que se quiere demostrar con el presente trabajo <sup>(11)</sup>.

La caries dental es multifactorial, constituye actualmente la enfermedad crónica más frecuente en el ser humano, pues del 90 al 95 % de la población sufre esta patología, siendo responsable de la pérdida de la mitad de las piezas dentarias<sup>(12)</sup> de allí la importancia de este proyecto que parte de observar la necesidad de la población en buscar un tratamiento a dicho problema, lo cual puede ser solucionado utilizando las planta medicinales como punto de referencia, para realizar productos naturales basados en el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), comprobando su efecto sobre *Streptococcus mutans sp* in vitro, con el fin de conseguir una solución más económico que servirá para beneficio a la población.

En la búsqueda por encontrar productos alternativos que puedan incorporarse e incluso permitan sustituir a los medicamentos ya conocidos, se han realizado diversas investigaciones que tienen como objetivo principal la utilización de plantas medicinales. Un efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepas de *Streptococcus mutans sp* sería de gran relevancia clínica ya que podría ser utilizado como un agente antimicrobiano natural en el tratamiento de caries dental.

De la realidad problemática anteriormente expuesta nos planteamos el siguiente problema: ¿Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las inflorescencias de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla), sobre cepa de *Streptococcus mutans sp* in vitro?

### **Objetivo general**

Determinar el efecto antibacteriano in vitro que posee el aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla*, (manzanilla) sobre *Streptococcus mutans* sp.

### **Objetivos Específicos.**

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, (manzanilla) sobre cepa *Streptococcus mutans* sp.
- Comparación del efecto antibacteriano in vitro entre las concentraciones del 10%,15%,25%,50% y 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepa de *Streptococcus mutans* sp.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

En la Universidad San Carlos de (Guatemala), en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Medina<sup>(13)</sup> en el 2014, realizó un estudio demostrando el efecto inhibitorio de la infusión de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, utilizando una concentración al 10%, al 20% y en tercer grupo utilizó Clorhexidina al 0.02%, donde se observó que existió una disminución en la población bacteriana con la infusión del 20% siendo más notoria que la del 10%.

González, en el 2016, en la Universidad central de (Ecuador), realizó un estudio de tipo experimental con el objetivo de observar el efecto antimicrobiano de infusiones de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre muestras in vitro de *Actinomyces odontolyticus* y *Actinomyces Viscosus* donde informa que la manzanilla sí posee efecto antibacteriano <sup>(14)</sup>.

Cárcamo, en el 2011 en la Universidad del Desarrollo (Chile), realizó un ensayo clínico randomizado, cuyo objetivo principal fue determinar la efectividad del colutorio de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) comparado con placebo y clorhexidina (0,12%). Se concluyó que de acuerdo al tiempo de exposición del tratamiento se observa una disminución en el grupo con clorhexidina, similar disminución se encuentra en el grupo con *Matricaria chamomilla* (manzanilla), en el grupo placebo no se obtuvo cambios. Los resultados de este estudio muestran que el mejor momento para que el paciente se enjuague con el Colutorio de

Manzanilla es cada 6 horas, evidenciándose una mejor disminución de la carga bacteriana <sup>(15)</sup>.

Talavera, en el 2015 en la Universidad Nacional del Altiplano (Puno), realizó un estudio del efecto antibacteriano in vitro de la infusión de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre *Streptococcus mutans sp.* Los resultados mostraron que no hubo efecto antibacteriano in vitro de las infusiones sobre el *Streptococcus mutans*, ya que no presentaron halos de inhibición; sólo la clorhexidina al 0, 12% presentó un halo de inhibición de 2.5 mm en promedio <sup>(16)</sup>.

En la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, (Lima) Huari<sup>(17)</sup>, realizó un estudio, el cual buscó determinar si el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) ejercía efecto inhibitorio sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM, el mismo que según su informe quedó demostrado, la existencia de un efecto de inhibición del desarrollo bacteriano.

Linares, en la Universidad Nacional de Trujillo, realizó un estudio experimental in vitro de orientación aplicada que tuvo como objetivo determinar la efectividad de un colutorio a base de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) sobre *Streptococcus mutans sp*, siendo el resultado la inhibición del desarrollo bacteriano con una variación mínima en todos los grupos estudiados <sup>(18)</sup>.

De igual manera Valderrama<sup>(19)</sup>, en el año 2015 en la Universidad Nacional de Trujillo, realizó una investigación sobre el efecto de diversas concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre Staphylococcus



aureus y *Escherichia coli*, expresado en halos de inhibición. En los resultados informados se muestra que tanto el *E. coli* como *S. aureus* son sensibles al aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), formando halos inhibición máxima de 10 mm. y 28 mm. respectivamente a una concentración del 100%. Se concluyó que el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) muestra una actividad antibacteriana más pronunciada en *S. aureus*, que en *E. Coli*.

## 2.2. Bases teóricas

### **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 <sup>(20)</sup>.

### **Manzanilla.**

Es una hierba aromática anual de la familia de las compuestas que puede alcanzar hasta los 60 cm. de altura. Crece en tierras cultivadas, en terrenos arenosos y baldíos. Taxonómicamente pertenece al Reino: Plantae, división Magnoliophyta, clase Dicotyledones, Orden: Synandreae, Familia: Asteraceae Género: Matricaria, Especie: *Matricaria chamomilla* <sup>(21)</sup>.

*Matricaria chamomilla*, manzanilla, tiene como principios activos a glucósidos cumarínicos, flavona y flavonoides, lactona y sesquiterpenoides. Aceites esenciales rico en  $\alpha$  bisabolol y camazuleno. Su aceite esencial lo constituye mezclas de muchos componentes volátiles de forma que se evaporan a temperatura ambiente sin dejar rastro, siendo además los responsables de los aromas que desprenden numerosas plantas. Son los principales productos que se obtienen de las partes de las plantas: hojas, flores, tallos, ramas y raíces. Su concentración se ve favorecida con climas cálidos y soleados. Farmacológicamente presentan poder antiséptico, espasmolítico, sedantes así como propiedades antibacterianas, <sup>(21)</sup>.

Según Farinango H<sup>(30)</sup>, dicha propiedad de le atribuye al aceite esencial el bisabolol, el principal mecanismo de acción de la manzanilla durante procesos infecciosos es la ruptura de la membrana celular la misma que puede ocurrir por tres razones: aumento de la permeabilidad, afectación de la estabilidad estructural y por consiguiente desestabilización de la bicapalipídica produciendo la lisis bacteriana. Por lo cual el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* es lipofílico y la pared celular también es lipofílica por lo cual permite el ingreso fácil del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y produce lisis bacteriana.

Los aceites esenciales son compuestos del metabolismo vegetal; la mayoría de ellos son volátiles y son responsables del aroma de las plantas. Dependiendo de la especie, se calcula que un aceite esencial puede contener entre 50 a 300 compuestos químicos, los cuales pertenecen a los grupos de hidrocarburos terpénicos, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides, entre otros. Las características químicas específicas de los aceites esenciales varían en función de la zona de cultivo y condiciones ambientales. Los aceites esenciales cumplen un rol ecológico como atrayentes de polinizadores y dispersores de frutos y semillas; y forman parte de la defensa química de las plantas. Tienen importancia comercial en la industria de alimentos, de sabores/fragancias, cosmética, de productos de aseo y farmacéutica, <sup>(22)</sup>.

Los aceites esenciales se caracterizan por su olor pronunciado y penetrante generalmente agradable. Tienen sabor caústico, acre e irritante y a veces aromático, dulce y delicado. Son sustancias de aspecto oleoso poco soluble o insoluble en agua. Entre las propiedades físico-químicas más importantes tenemos

que son líquidos a temperatura ambiente, son sustancias que pueden ser coloreados, su densidad es menor que el agua, por lo cual su índice refractario es elevado, son de un contenido lipofílico alto, pero si son solubles en disolventes orgánicos. Son arrastrables en vapor de agua, y punto de ebullición superior a 100°C <sup>(23)</sup>.

Los aceites esenciales, de varios tipos de plantas tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de los microorganismos. Se conoce la actividad antimicrobiana de varias especies vegetales en forma de extractos o hierbas aromáticas en los alimentos inhibiendo la formación vegetativa de esporas, levaduras y otros <sup>(23)</sup>.

Los aceites esenciales se pueden extraer mediante diferentes métodos como: prensado, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos<sup>(22)</sup>. En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo por vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formado por este y otros “no volátiles” lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla denominándose este arrastre, pero en realidad su función no es de arrastrar el componente volátil sino condensarse formando otra fase inmiscible que sedera su color latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación <sup>(23)</sup>.

En este caso se tendrá dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo cual cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente es decir cada uno de ellos ejerce su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia. Conforme el

vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando<sup>(23)</sup>. Al ser soluble en el vapor circundante, es “arrastrado” corriente arriba hacia el tope del hidroddestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, mediante un “cuello de cisne” o prolongación curvada del conducto de salida del hidroddestilador <sup>(24)</sup>. (Ver anexo fig. 01).

### **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<sup>(25)</sup>. Guerra<sup>(25)</sup>, realizó un estudio in vitro de aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*. Par observar la actividad antimicrobiana sobre diferentes cepas de microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 7001, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10033, *Serratia sp*, y *Salmonella typhimurium* los cual se obtuvo como resultado positivo sobre los Gram positivos resultaron ser más sensibles.

La cavidad oral es un ecosistema donde cohabitan principalmente microorganismos aproximadamente  $10^{10}$  bacterias, siendo el 60% cultivables pertenecientes a aproximadamente entre 500 y 700 especies, que colonizan las mucosas y dientes donde forman la placa bacteriana o biofilm, entre las cuales

están los miembros del género *Streptococcus* del grupo mutans ha sido estudiado a través de test bioquímicos, serológicos y métodos moleculares que incluyen hibridación ADN-ADN y secuenciación de genes ARN ribosomales <sup>(26)</sup>.

La cavidad bucal constituye un medio ecológico, perfecto para el crecimiento y desarrollo de bacterias que forman una flora microbiana en equilibrio llamada flora saprófita residente que se encuentra en boca habitualmente y que no genera patología. Si este equilibrio se rompe se producen situaciones patológicas por sobre crecimientos microbianos o bien la aparición de una flora patógena no habitual en boca <sup>(27)</sup>.

Existen diversos nichos dentro de la cavidad oral y pueden reconocerse diferencias si se estudia la flora de dientes, lengua, mucosa yugal o surco periodontal. La flora oral es de tipo mixto, con asociación de gérmenes aerobios y anaerobios. Las bacterias que se adhieren a la superficie dental en forma permanente y a través de diferentes polímeros de dos orígenes bacterianos como dextranos y levanos. El contenido de gérmenes anaerobios es máximo a nivel del surco gingival. Los dientes presentan superficies de adherencia que tienen la particularidad de no renovarse en forma periódica, como lo hacen los epitelios. Predominan diferentes especies de *Streptococcus*  $\alpha$  hemolíticos. *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis* <sup>(28)</sup>.

### ***Streptococcus mutans.***

*Streptococcus mutans* es un habitante de la microbiota oral que constituye la primera causa de caries dental y de infecciones graves por estreptococos del grupo viridans, tales como bacteriemia y endocarditis. Sin embargo, puede constituir un

desafío diagnóstico debido a su capacidad de presentarse como “bacilo Gram positivo” a la tinción de Gram. *Streptococcus mutans* es un estreptococo alfa-hemolítico o no hemolítico, que se visualiza como bacilo cuando se aísla de un medio con pH ácido y como coco cuando se sub-cultiva en un medio neutro o alcalino <sup>(28)</sup>.

En el caso del *Streptococcus mutans*, los factores de virulencia más involucrados en la producción de caries son: a). 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, a). 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, b). Aciduricidad: es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo, c). Acidofilicidad: el Estreptococo mutans puede resistir la acidez del medio bombeando protones( $H^+$ ) fuera de la célula, d). Síntesis de glucanos y fructanos: por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas, e). Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno: sirven como reserva alimenticia, f). Producción de dextranasa: además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano <sup>(28)</sup>.

*Streptococcus mutans* obtiene su energía del alimento que ingerimos, su flexibilidad genética le permite romper toda una amplia gama de hidratos de carbono. Entre las sustancias que aprovecha son la glucosa, fructosa, sacarosa, galactosa, maltosa, e incluso el almidón. La bacteria fermenta todos estos compuestos al disponer de un batallón de enzimas, proteínas que rompen las

moléculas de hidratos de carbono, y los convierte en varios subproductos de su metabolismo, como el etanol o el ácido láctico. A la postre, todos estos subproductos acidifican la boca y los dientes, lo que inhibe a las otras bacterias, permitiendo al estreptococo mantener una posición de claro dominio <sup>(29)</sup>.

El paso más importante para que se produzca la caries, es la adhesión inicial del *Streptococcus mutans* a la superficie del diente. Esta adhesión está mediada por la interacción entre una proteína y algunas enzimas de la saliva que son adsorbidas por el esmalte dental, y la capacidad de acumulación en la placa, proceso que ocurre cuando el Estreptococo mutans produce glucanos solubles e insolubles utilizando las enzimas glucosiltransferasas (GTF), a partir de los azúcares de la dieta. El grado de infección por el Estreptococo mutans en la saliva nos refleja el grado de infección existente en los dientes, en un sentido muy general <sup>(29)</sup>.

En la cavidad oral existen bacterias capaces de producir ácidos, que liberan gran cantidad de H<sup>+</sup>, lo cual hace descender el pH por debajo del pH crítico, en zonas limitadas de la superficie del esmalte y se inicia la descalcificación. Todos los tejidos contienen minerales, tejidos blandos y duros, cuya diferencia está en cantidad y clase de minerales, y disposición espacial. En los tejidos duros como el esmalte la mineralización es mayor de 98%. Forma modelos cristalinos que se caracterizan en apatita, Hidroxiapatita. Las altas concentraciones de iones H<sup>+</sup> provocan la solubilización de la hidroxiapatita y la desmineralización <sup>(29)</sup>.

Evidentemente, existe un amplio reconocimiento de la importancia de los factores microbiológicos en relación con la caries dental, y *Streptococcus mutans* parece tener un papel muy importante. Son numerosos y diferentes los estudios realizados



sobre el tema, sin embargo, todos los autores coinciden en que la génesis de la caries dental requiere la presencia de varios factores de riesgo, de manera más significativa, la colonización por *Streptococcus mutans*, una deficiente higiene oral y un alto consumo de alimentos ricos en sacarosa <sup>(30)</sup>.

### **III. HIPÓTESIS.**

#### **3.1. Hipótesis Alternativa.**

El aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), poseerá efecto antibacteriano in vitro sobre cepa de *Streptococcus mutans sp.*

#### **3.2. Hipótesis Nula.**

El aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), no poseerá efecto antibacteriano in vitro sobre cepa de *Streptococcus mutans sp.*

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1. Diseño de la investigación.**

- El presente estudio fue de tipo experimental, in vitro, cuantitativo y longitudinal.
- Control negativo: Dimetilsulfoxido (DMSO). Se empleó para la disolución de aceite esencial de la inflorescencias de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) para obtener las diferentes concentraciones.

### **4.2. Población y Muestra.**

#### **Población vegetal.**

Se trabajó con *Matricaria chamomilla* (manzanilla), procedentes de la provincia de Otuzco, Departamento La Libertad con lo cual se realizó la extracción del aceite esencial para realizar el presente trabajo.

#### **Muestra vegetal.**

Se utilizó 5 kg de inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

#### **Criterios de inclusión.**

- Inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) frescas, verdes y de buenas características organoléptica.

#### **Criterios de exclusión.**

- Se excluirán inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en mal estado con características organolépticas no aceptables.

**Población microbiológica.**

Se trabajó con cepas de *Streptococcus mutans* sp. procedentes del laboratorio

GenLab del Perú SAC. de la ciudad de Lima.

**Muestra microbiológica.**

Se trabajó con colonias jóvenes de *Streptococcus mutans* sp. ATCC®25175

#### 4.3. Definición y Operacionalización de las variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<b>Aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i></b>	Es un líquido volátil que inhibe el crecimiento bacteriano pueden ser naturales o sintéticos <sup>(22)</sup> .	Se utilizó 5 concentraciones	10% Grupo p/v, 15% Grupo 2 p/v 25%, Grupo 3 p/v 50% grupo 4 p/v, 100% Grupo 5 p/v.	Cualitativa nominal
<b>Efecto antibacteriano</b>	Es la susceptibilidad que tiene un microorganismo ya sea a la potencia de un fármaco o un recurso natural. <sup>(25)</sup> .	Se determinó a través de halos de inhibición.	Diámetro del halo de inhibición en milímetros	Cuantitativa razón

### **Variable dependiente.**

Efecto antibacteriano. 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 aceite esencial de una planta medicinal<sup>(25)</sup>.

### **Variable independiente.**

Aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla*: Es el efecto relativo del aceite esencial que destruye las bacterias o que inhibe su crecimiento o replicación. Pueden ser aceites esenciales naturales, semisintéticos o sintéticos que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, al actuar sobre la síntesis proteica, la síntesis de ácidos nucleicos, la integridad de la membrana celular o bien inhibiendo ciertas vías de importancia. Este tipo de variables es cualitativo <sup>(26)</sup>.

## **4.4. Técnicas e Instrumentos de la investigación.**

**Técnica:** Observacional.

**Procedimiento.**

**Obtención del aceite esencial de *la Matricaria chamomilla* (manzanilla):**

En este trabajo se realizó la extracción del aceite esencial mediante el método de arrastre de vapor en lo cual se procedió a depositar 5 kg de inflorescencias de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en el destilador, se conectó el equipo de destilación para proceder con la extracción la olla a presión con las inflorescencias se conectó directo al balón con una cantidad de agua en la parte externa estuvo conectado el condensador, se calentó el balón con agua por tiempo

de 6 horas de tal forma que el vapor paso a través de la muestra del condensador y el aceite se colecto en una pera de decantación luego se separó el agua del contenido de la pera y se obtuvo el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* y se guardó en un frasco ámbar a una temperatura de 2 – 8 °C.

**Obtención de la cepa liofilizada de *Streptococcus mutans sp.*:**

La cepa liofilizada de *Streptococcus mutans sp* (ATCC 25175) fue obtenida de los laboratorios GenLab del Perú SAC. de Microbiologics TM.

**Activación de la cepa liofilizada de *Streptococcus mutans sp.*:**

Para la activación de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), se procedió a la esterilización del ambiente, se empezó abriendo los liófilos que se encontraban dentro de un vial de plástico que le servía como protección, el cual contenía a la cepa *Streptococcus. Mutans sp* (ATCC 25175), un fluido de hidratación y un hisopo estéril. Se procedió a romper el fluido de hidratación, luego se hizo la homogenización de la cepa de *Streptococcus. Mutans sp* (ATCC 25175) con el fluido para poder activarlas.

Una vez activada la cepa de *Streptococcus mutans sp* (ATCC 25175), se realizó el sembrado en placas Petri en cultivo Brain Heart Infusion Agar que fue indicado dentro del manual de activación de cepas bacterianas del laboratorio GenLab, El sembrado se realizó con el hisopo estéril, luego pasamos a esterilizar el asa bacteriológica para proceder al estriamiento de la cepa de *Streptococcus mutans sp* (ATCC 25175), dichas bacterias necesitan de un ambiente anaeróbico para su desarrollo adecuado el cual se logró colocándoles en una jarra GasPack durante 48 horas a 37° logrando el crecimiento bacteriano (Ver Fig.13).

### **Ejecución de ensayos:**

Se empezó diluyendo el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), con Dimetilsulfoxido, para obtener las cinco concentraciones que fueron del 10%, 15%, 25%, 50% y 100%. Para la concentración del 10% se utilizó 0.9 ul de (DMSO) y 0.1 ul de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla). Para la concentración del 15% se utilizó 0.85 ul de (DMSO) y 0.15 ul de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla). Para la concentración del 25% se utilizó 0.75 ul de (DMSO) y 0.25 ul de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla). Para la concentración del 50% se utilizó 0.50 ul de (DMSO) y 0.50 ul de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

De una colonia aislada se procedió a realizar la siembra en un tubo de ensayo estéril que contenía 5 ml de suero fisiológico, se agito por un promedio de 3 minutos alcanzando la turbidez para lo comparracion, según Jauregui<sup>(3)</sup>, la escala de McFarland se usa como referencia en suspensiones bacteriológicas. Lo cual en el presnete trabajo se logro una turbidez equivalente al tubo numero 0.5 de McFarland.

Listas las colonias se procedió hacer la siembra en las placas Petri con Brain Heart Infusion Agar, mediante el método de estrías lo cual en la última pasada se logró depositar el número más bajo de células que al ser incubadas se formaron colonias puras para realizar la experimentación.

En total fueron 20 placas, las cuales se dividieron en dos cuadrantes, y con la ayuda de una micro pipeta se colocó una gota de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla). En cada cuadrante a diferentes concentraciones.



Luego las placas fueron colocadas en la jarra GasPack, y llevadas a la incubadora por 24 horas a 37°. Para luego proceder a la lectura.

**Lectura de los ensayos:**

Para la lectura de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones se utilizó una regla milimetrada que abarco el diámetro del halo en mm. Y se procedió a recolectar datos en una tabla los cuales posteriormente se procesó estadísticamente.

#### 4.5. Matriz de consistencia.

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la inflorescencias de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla), sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp.</i>	¿ Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) , sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp</i> in vitro?	<p><b>Objetivo general.</b> Determinar el efecto antibacteriano in vitro que posee el aceite esencial de <i>matricaria chamomilla</i> (manzanilla) sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp.</i></p> <p><b>Objetivos específicos.</b> .Evaluar el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp.</i> .Comparación del efecto antibacteriano in vitro entre las concentraciones del 10%,15%,25%,50%, 100% del aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> sobre cepa de <u><i>Streptococcus mutans sp.</i></u></p>	<p><b>Hipótesis alternativa.</b> El aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) poseera efecto antibacteriano in vitro sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp.</i></p> <p><b>Hipotesis nula.</b> El aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i> (manzanilla) no poseera efecto antibacterino in vitro sobre cepa de <i>Streptococcus mutans sp.</i></p>	<b>Tipo:</b> Experimenta, in vitro, cuantitativo longitudinal	<p><b>Variable independiente</b></p> <p><b>Variable dependiente</b></p>	<p><b>Aceite esencial de la inflorescencia de <i>Matricaria chamomilla</i></b> Se utilizó cinco concentraciones de aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i>.</p> <p><b>Efecto antibacteriano.</b> Este tipo de variable se midio atravez de los halos de inhibición.</p>	<p>Cinco concentraciones p/v. Cualitativa nominal</p> <p>Diametro del halo de inhibición del crecimiento Cuantitativa de razón.</p>	<p>Prueba estadística ANOVA</p> <p>.</p>

#### **4.6. Plan de Análisis:**

Para los estudios y evaluación de los resultados obtenidos se realizó el análisis estadístico en las muestras de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), con acción antibacteriana sobre *Streptococcus Mutans sp*, (ATCC 25175), habiéndose medido el halo de inhibición del crecimiento bacteriano.

Los resultados son presentados en tablas, utilizando el programa Excel Microsoft y el programa estadístico ANOVA que se utiliza para presentar datos a diferentes concentraciones.

#### **4.7. Principios éticos**

En el presente trabajo se tuvo en cuenta la manipulación y desecho de las muestras sobre todo de la cepa de *Streptococcus mutans sp* de acuerdo al manual de bioseguridad en laboratorios de microbiología y medicina durante la ejecución del trabajo se tomó todas las precauciones necesarias para evitar cualquier contaminación.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1.** Evaluación del efecto antibacteriano in vitro sobre cepa de *Streptococcus mutans* Sp según la concentración del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

Concentraciones	Halos de inhibición (mm)								Media $\pm$ Desviación Estándar	Significancia (p)
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> al 10%	7	7	8	8	8	8	9	9	8 $\pm$ 0.76	
Aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> al 15%	10	11	12	12	12	12	13	13	11.88 $\pm$ 0.99	
Aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> al 25%	14	16	16	17	17	17	18	19	16.75 $\pm$ 1.48	**P=0.000
Aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> al 50%	16	17	18	18	19	19	19	20	20 $\pm$ 4.14	
Aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> al 100%	19	20	20	30	30	30	30	35	26.75 $\pm$ 6.11	

**\*\*P=0.000 < 0.01.** son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

## 5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el presente trabajo se buscó determinar si el aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) ejercía efecto inhibitorio sobre el crecimiento de cepas aisladas de *Streptococcus mutans sp*, lo cual quedó demostrado, al apreciarse un efecto de inhibición del desarrollo bacteriano con el aceite estudiado, según los resultados obtenidos; además se encontró diferencias significativas con respecto al tamaño del halo de inhibición en las distintas concentraciones utilizadas.

En la **TABLA 1**, respecto a la actividad inhibitoria sobre crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans Sp* según la concentración del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), se puede apreciar las diferentes medias y desviación estándar de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) de los cuales para la concentración al 10% corresponde a los halos de inhibición de  $8 \pm 0.76$ , con la concentración del 15% a los halos que alcanzaron un diámetro de inhibición de  $11.88 \pm 0.99$ , lo cual podemos corroborar con el estudio de Zuta<sup>(31)</sup>. Quien encontró halos del similar diámetro con concentraciones de 10%,25%,50% y 100% de extracto de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).

Con las concentraciones del 25%, 50% y 100% Los halos de inhibición alcanzaron diámetros correspondientes a  $16.75 \pm 1.48$ ,  $20 \pm 4.14$  y  $26.75 \pm 6.11$ , respectivamente estudios similares realizados por Cosco<sup>(5)</sup>. en el 2010 en Lima y Linares<sup>(6)</sup> en el 2012 en Trujillo encontraron halos de inhibición de 18 mm con una media de 17.8 para la concentración del 50% y para la concentración del 100% encontraron halos de inhibición de 20 mm con una media de 22 quedando demostrado que si hubo un efecto significativo de inhibición bacteriana.

Es probable que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *matricaria chamomilla* sobre cepa de *Streptococcus mutans* se deba a la presencia de derivados terpénicos como: matricina, camazulenos, y  $\alpha$  bisabolol este ultimo al que se le atribuye la propiedad antibacteriana tal como es indicado por Jauregui<sup>(3)</sup>. Farinango<sup>(30)</sup>. En su estudio realizado nos indica que el principal mecanismo de acción de la manzanilla durante procesos infecciosos es la ruptura de la membrana celular la misma que puede ocurrir por tres razones: aumento de la permeabilidad, afectación de la estabilidad estructural y por consiguiente desestabilización de la bicapalipídica produciendo la lisis bacteriana.

Tambien se pudo observar que a mayor concentración del aceite esencial de la inflorescencia de *Matricaria chamomilla* tuvo mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans sp*, se presento tal como se comprueba con la prueba ANOVA con una (P = 0.000), estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Cosco<sup>(5)</sup>, Linares<sup>(6)</sup> quienes también informaron diferencias significativas en el tamaño de los halos expuestos a diferentes concentraciones de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre *Streptococcus mutans sp* y *Enterococcus faecalis* respectivamente.

Asi mismo además de demostrar que *Matricaria chamomilla* tiene un mayor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans sp* a la concentracion del 100%, al realizar la prueba estadística ANOVA las cinco concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* ( manzanilla) sobre *Streptococcus mutans sp* se observa una diferencia altamente significativa lo cual es corroborado con Jauregui<sup>(3)</sup> quien en un estudio realizado en la Universidad Nacional de Trujillo en el año 2013, utilizo aceite esencial de *Matricaria chamomilla* al 100 % logrando una inhibición de *Streptococcus mutans*

ATCC 2652263, Zuta<sup>(31)</sup> en Lima 2014, realizo un estudio con cuatro concentraciones de extracto etanolico de *Matricaria chamomilla* al 10%,25%,50%,100% al evaluar las diferentes concentraciones la del 100% mostró poco actividad y las demás no mostraron actividad significativa.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 7.1. Conclusiones.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

El aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a diversas concentraciones presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Streptococcus mutans sp.*

Se comprobó que a mayor concentración del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, (manzanilla) existió mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans sp* in vitro, siendo la concentración del 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) la que presentó mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus murtans sp.*



## 7.2. Recomendaciones

- Sobre la base este estudio realizar otras investigaciones para determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) que produzca efecto antibacteriano sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans sp.*
- Realizar estudios de investigación en animales de experimentación y posteriormente en personas para probar la eficacia, tolerancia y seguridad de este aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).
- Promover estudios de investigación que continúe en la búsqueda de principios activos de origen natural que sirvan como alternativa a la medicina convencional actual.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Bermúdez A, Oliveira M, Velázquez D. La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: INCI. 30(8):453-459, 2005. [Internet]. [Accesado el 03 de abril del 2016]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/339/33910703.pdf>.
2. Escamilla B, Moreno P. Plantas medicinales. 1era. edición. Printed in México. 2015. [Internet]. [Accesado el 05 de mayo del 2017]; Disponible en: [http://www.itto.int/files/itto\\_project\\_db\\_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf](http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/3000/Technical/Manual%20plantas%20medicinales.pdf)
3. Jáuregui G. Efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de Matricaria chamomilla (manzanilla) a diferentes concentraciones sobre la cepa ATCC 2652263 de Streptococcus mutans. Trujillo – Perú 2013. [Internet]. [Accesado el 04 de mayo de 2016]. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/592/JaureguiAlvarez\\_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/592/JaureguiAlvarez_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
4. Hidalgo I, Duque J, Pérez J. La caries dental. Algunos de los factores relacionados con su formación en niños. Rev. Cubana Estomatol v.45 n.1 Ciudad de La Habana ene.-mar 2008. [Internet]. [Accesado el 10 de junio del 2017]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003475072008000100004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475072008000100004&lng=es).
5. Cosco D. Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la Matricaria chamomilla

manzanilla. Lima – Perú. 2010. [Internet]. [Accesado el 28 de mayo del 2017]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2149/1/Cosco\\_rd.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2149/1/Cosco_rd.pdf)

6. Linares J. Efecto In vitro del aceite esencial de manzanilla (Matricaria chamomilla) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Trujillo. 2012. [Internet]. [Accesado el 05 de abril del 2016]. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/573/LinaresZavaleta\\_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/573/LinaresZavaleta_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
7. Hormigot L, Reyes D, Gonzales A, Meriño Y. Estudio descriptivo transversal sobre promoción de salud bucal y nivel de conocimientos de caries dental en niños de 11-12 años. Rev. Medwave. 13(5): 5674 doi: 10. 2013. [Internet]. [Accesado el 15 de abril del 2016]. Disponible en: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Estudios/Investigacion/5674>
8. Rodríguez O, Torrez E, Valenzuela R. Plantas utilizadas para el tratamiento de enfermedades en los animales domesticos, reserva natural. Esteli. 2005. [Internet]. [Accesado el 15 de abril del 2016]. Disponible en: <http://www.Biónica.info/biblioteca/rodriguez2005etnobotanica.pdf>.
9. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans y caries dental. Colombia. Rev. Odontología Vol. 26 No. 1 2013. [Internet]. [Accesado el 20 de abril del 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1a05.pdf>.

10. Tananta P. "Actividad antibacteriana del extracto etanolicos de Calatola costarricense Standl sobre cultivos de placa bacteriana de origen dental. estudio in vitro” Lima – Perú. 2005. [Internet].[Accesado el 13 de mayo del2017].Disponibleen:[http://www.cop.org.pe/bib/tesis/JARLINELIOTANA\\_NTAPEZO.pdf](http://www.cop.org.pe/bib/tesis/JARLINELIOTANA_NTAPEZO.pdf)
11. Figueroa P. Efecto de productos que contiene xilitol durante ocho semanas sobre colonias de Estreptococos del grupo Mutans. Quito. 2008. [Internet].[Accesado el 10 de Mayo de 2016];Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/514/1/86591.pdf>
12. Hernández M. Aislamiento Y Cuantificación De Streptococcus Mutans En Saliva de Niños”. Universidad Veracruzana noviembre 2011. [Internet]. [Accesado el 08 de mayo del 2016],Disponible en: <https://es.scribd.com/document/349915967https://es.scribd.com/document/349915967/Streptococcus-Mutans-en-Saliva-de-Ninosd>
13. Medina D “Evaluación del efecto antiséptico y antiinflamatorio de Manzanilla. Guatemala, Julio2014.[Internet] [Accesado el 02 de mayo del 2016]; Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/1656/1/Tesis%20Med%20Vet%20Diego%20Medina.pdf>
14. González O. Efecto antimicrobiano de la Infusión de Manzanilla sobre el Actinomyces Odontolyticus y el Actinomyces Viscosus: Estudio in vitro. Ecuador Febrero, 2016. [Internet]. [Accesado el 03 de mayo del 2016]; Disponible en:<http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/5702>

/1/T-UCE-0015-254.pdf.

15. Cárcamo V, Oliva P, Gonzalez P. Efectividad Antimicrobiana del colutorio de *Matricaria recutita*, Universidad del Desarrollo. Chile. Int. J. Odontostomat. vol.5 no.2 Temuco ago. 2011. [Internet]. [Accesado el 04 de mayo 2016]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijodontos/v5N2/art11.pdf>
16. Talavera M. Efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175) y perfil de compuestos fenólicos de la manzanilla (*matricaria chamomilla* L.) cultivada en Puno. Rev. Investig. Altoandin. Vol. 17 N° 2. 2015. [Internet]. [Accesado el 21 de Junio de 2017]; Disponible en: <http://huajsapata.unap.edu.pe/ria/index.php/ria/article/view/110/102>.
17. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en *Streptococcus mutans*. Tesis. UNMSM. Lima- Perú. 2014. [Internet]. [Accesado el 04 de mayo de 2016]; Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3680/1/Huari\\_gg.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3680/1/Huari_gg.pdf)
18. Linares J. Efecto "in vitro" del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Tesis. UNT. Trujillo. 2012. [Internet]. [Accesado el 04 de mayo de 2016]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/573>
19. Valderrama Y. Efecto del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Tesis para obtener el título profesional de Biólogo-Microbiólogo. Universidad Nacional de

- Trujillo. 2015. [Internet]. [Accesado el 20 de junio de 2017]. Disponible en:  
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4603>
20. Gómez R. Plantas Medicinales, México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (1): 43 - 49, 2012. [Internet]. [Accesado el 22 de abril del 2016]. Disponible en:  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v35n1/v35n1a7.pdf>.
21. Alvarado R. Determinación del rendimiento del aceite esencial de las flores de Manzanilla (*Matricaria Recutita* L.) Guatemala, marzo del 2007. [Internet]. [Accesado el 04 de mayo de 2016]; Ingeniero Químico. [Http://Biblioteca.Usac.Edu.Gt/Tesis/08/08\\_1016\\_Q.Pdf](Http://Biblioteca.Usac.Edu.Gt/Tesis/08/08_1016_Q.Pdf).
22. Peredo H, Palou E, López A. Aceites esenciales métodos de extracción. México. 2009. [Internet]. [Accesado el 05 de mayo de 2016]; Disponible En: [Http://Www.Udlap.Mx/Wp/Tsia/Files/No3-Vol-1/Tsia-3\(1\)-Peredo-Luna-Et-Al-2009.Pdf](Http://Www.Udlap.Mx/Wp/Tsia/Files/No3-Vol-1/Tsia-3(1)-Peredo-Luna-Et-Al-2009.Pdf).
23. Rodríguez M, Alcaraz L, Real S. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. México. 2012. [Internet]. [Accesado el 05 de mayo de 2016]. Disponible en:[https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez\\_m.pdf](https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf).
24. Cerpa M. Hidrodestilación de aceites. Valladolid 2007. [Accesado el 05 De mayo de 2016]; Disponible en: <http://www.anipam.es/downloads/43/hidrodestilacion-de-aceites-esenciales.pdf>.

25. Guerra M, Rodríguez M, Garia G. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus*. Rev. Cubana Plant Med V.9 N.2 La Habana. 2004. [Internet]. [Accesado el 10 junio del 2017]; Disponible en:[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102847962004000200005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962004000200005).
26. Linossier A, Valenzuela C, Eduardo R, Estela M. Colonización de la cavidad oral por *Streptococcus* grupo Mutans, Rev. Chile. Infectol. Vol.28 No.3 Santiago jun. 2011. [Internet]. [ Accesado el 05 de Mayo de 2016]; Disponible en:[http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182011000300006](http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182011000300006).
27. Fernández E. Formación de biofilms bacterianos sobre distintas superficies de implantes dentales. Universidad Complutense de Madrid. Junio 2013. [Internet].[Accesado el 28 de mayo de 2017];Disponible en: [http://eprints.ucm.es/22535/1/Eva\\_Fern%C3%A1ndez\\_VidalFormaci%C3%B3n\\_de\\_biofilms\\_bacterianos\\_sobre\\_distintas\\_superficies\\_deImplantes.pdf](http://eprints.ucm.es/22535/1/Eva_Fern%C3%A1ndez_VidalFormaci%C3%B3n_de_biofilms_bacterianos_sobre_distintas_superficies_deImplantes.pdf)
28. Ojeda J, García E, Salas L. *Streptococcus Mutans* y caries dental. Ces Odontol. Vol.26 No.1 Medellín Jan. /June 2013. [Internet]. [Accesado el 17 de mayo del 2017]; Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0120971x2013000100005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=s0120971x2013000100005&script=sci_arttext).
29. Hernández M. Aislamiento y Cuantificación de *Streptococcus Mutans* en saliva en niños”. Odontólogo. Universidad Veracruzana noviembre 2011.

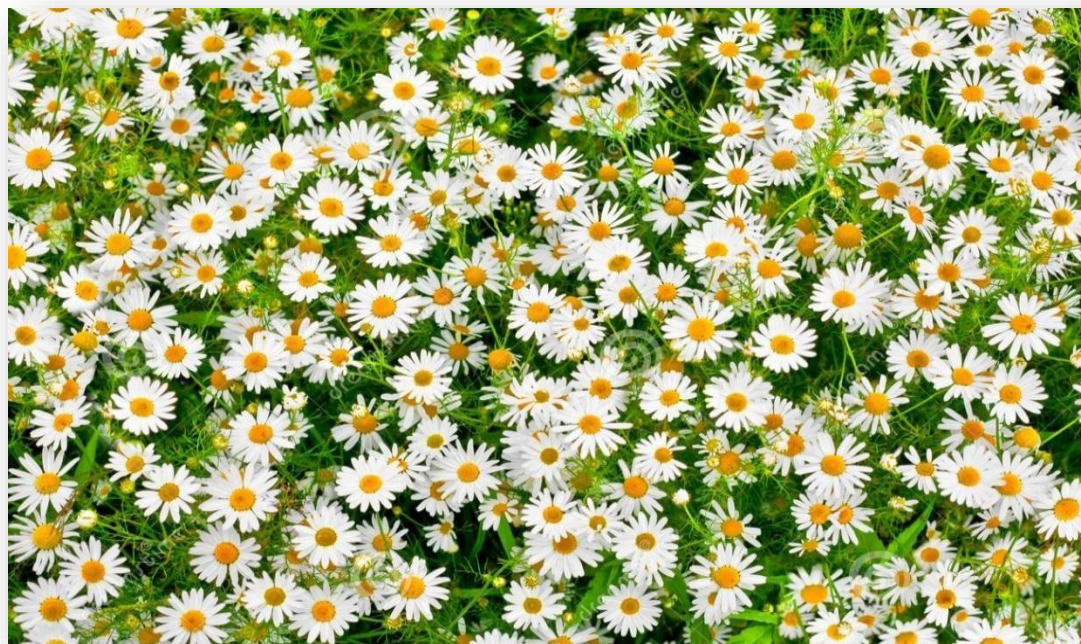
[Internet]. [Accesado el 08 de mayo del 2016]; Disponible en:<http://Cdigital.Uv.Mx/Bitstream/123456789/30913/1/Hdzmtz.Pdf>.

30. Farinago H. Efecto inhibidor del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% sobre cepas de *enterococcus faecalis*. estudio in vitro. Ecuador. 2013. [Internet], [Accesado el 06 de agosto del 2018];Disponible en:<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2803/3/T-UCE-0015-67.pdf>
  
31. Zuta N. Actividad antibacteriana in vitro de extractos de *Piper angustifolium* (matico) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. Proyecto de investigación. Repositorio digital Universidad Nacional del Callao. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/943>



## VIII. ANEXOS

**Figura N° 01:** Planta medicinal de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) con la cual se realizó la presente investigación.



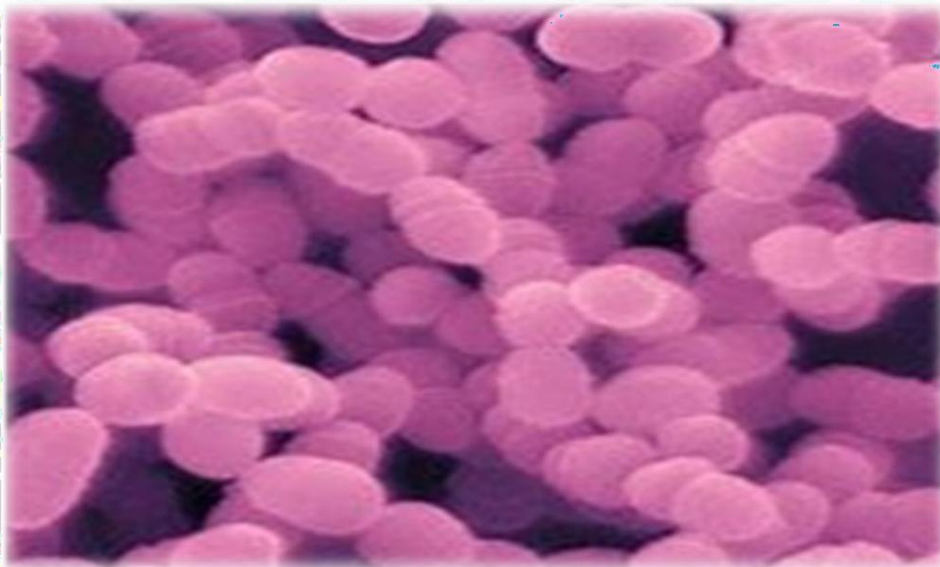
**Figura N° 02:** Lugar de donde se obtuvo la planta medicinal para la presente investigación.



**Figura N° 03:** Técnica que se utilizó para la extracción del aceite esencial es: Destilación por arrastre de vapor.



**Figura N° 04:** Bacteria que se utilizó para realizar el proyecto. *Streptococcus mutans*.





**Figura N° 05:** Muestra recolectada.



**Fuente:** Obtención de la ciudad de Otuzco.

**Figura N° 06:** Selección y limpieza.



**Fuente:** Laboratorio de microbiología

ULADECH.

**Figura N° 07:** Inflorescencia de *Matricaria chamomilla* (manzanilla).



**Fuente:** Laboratorio de Microbiología. ULADECH.

**Figura N° 08:** Extracción de aceites esenciales.



**Fuente:** Laboratorio de farmacognosia de la UNT.

**Figura N° 09:** Esterilización del material para la ejecución del trabajo de investigación.

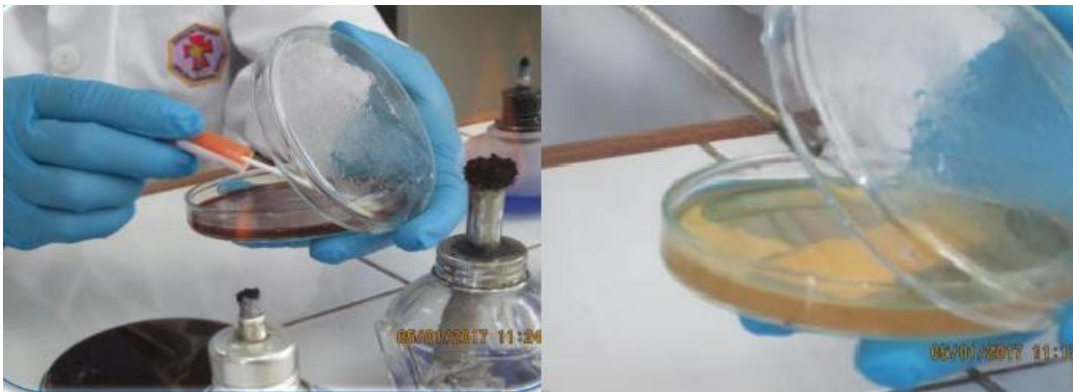


**Figura N° 10:** Activación de la cepa liofilizada. **Figura N°11:** Preparación de agar BHA.



**Fuente:** Laboratorio de microbiología ULADECH.

**Figura N° 12:** Realizando el sembrado de la bacteria *Streptococcus mutans* sp.



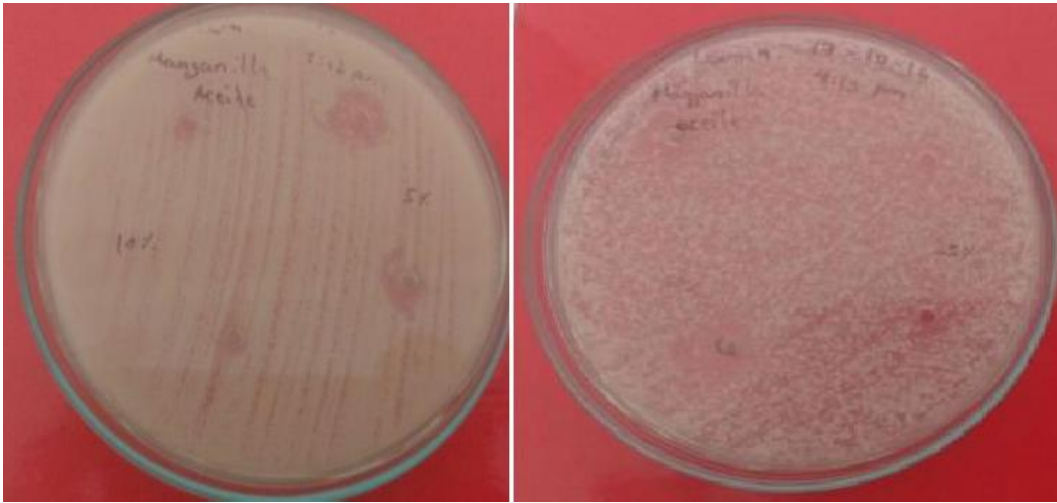
**Fuente:** Laboratorio de Microbiología ULADECH.

**Figura N° 13:** Pasos para el crecimiento de la bacteria *Streptococcus mutans*.



**Fuente:** Laboratorio de microbiología ULADECH.

**Figura N° 14:** Observación de halos.



**Fuente:** Laboratorio de Microbiología ULADECH.







