

**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE**

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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL
EXTRACTO ACUOSO DE *ORIGANUM VULGARE L.*
(ORÉGANO) SOBRE LOS *STREPTOCOCCUS MUTANS*,
DISTRITO DE CHIMBOTE, PROVINCIA DEL SANTA,
DEPARTAMENTO ANCASH, 2018**

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

AUTOR

**JORGE IVÁN VÁSQUEZ ESPELETA
ORCID: 0000-0002-5621-3086**

ASESOR

**RONDÁN BERMEO KEVIN
ORCID 0000-0003-2134-6468**

**CHIMBOTE – PERÚ
2019**

TÍTULO

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
ACUOSO DE *ORIGANUM VULGARE L.* (ORÉGANO) SOBRE
LOS *STREPTOCOCCUS MUTANS*, DISTRITO DE CHIMBOTE,
PROVINCIA DEL SANTA, DEPARTAMENTO ANCASH, 2018**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Vásquez Espeleta, Jorge Iván
ORCID: 0000-0002-5621-3086

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Bachiller en
Estomatología, Chimbote, Perú

ASESOR

Rondán Bermeo, Kevin
ORCID: 0000-0003-2134-6468

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias
De La Salud, Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

JURADO

San Miguel Arce, Adolfo
ORCID: 0000-0002-3451-4195

Canchis Manrique, Walter Enrique ORCID:
0000-0002-0140-8548

Trinidad Milla, Pablo Junior
ORCID: 0000-0001-9188-6553

HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

**MGTR. SAN MIGUEL ARCE ADOLFO
PRESIDENTE**

**MGTR. CANCHIS MANRIQUE WALTER
MIEMBRO**

**MGTR. TRINIDAD MILLA PABLO
MIEMBRO**

**MGTR. RONDÁN BERMEO KEVIN
ASESOR**

DEDICATORIA

A Dios por darme la fortaleza de continuar y no desvanecer en este nuevo camino que me ha sido muy difícil.

A mí amada esposa y a mí amado hijo por ser el motivo e impulso en mi crecimiento personal y profesional.

RESUMEN

Esta investigación se ha realizado con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana “in vitro” del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* sobre los *Streptococcus mutans* en tres diferentes concentraciones (10%, 50% y 100%). Los materiales y métodos fueron *Origanum vulgare L.* (Orégano) que fue posteriormente procesado para la obtención del extracto acuoso. Las cepas de *Streptococcus mutans* fueron cultivada en el Laboratorio de Biología de la ULADECH - Sede Central, a partir de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC ® 25175™). Se utilizó el método de disco-difusión en agar, se incubo a 37 °C por 24 horas. Posteriormente se transfirió a un tubo de ensayo con 5 mL de caldo Müller-Hinton, se incubo a 37 °C por 6 horas en microaerofilia hasta encontrar una turbidez equivalente al 0,5 de la escala de Mc Farland. Se realizó el sembrado en 14 placas con agar Müller-Hinton mediante la técnica de difusión, con el extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* a las concentraciones del 10%, 50% y 100%, se realizó a la incubación en microaerofilia a 37 °C por 24 horas. Para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics V25.0. Las concentraciones del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* al 10%, 50% y 100% mostraron un halo de inhibición promedio de 6,18, 7,81 y 8,63 mm respectivamente, la diferencia de promedios fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$). Se concluye que las tres concentraciones utilizadas para este estudio del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.*, presentan actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

Palabras claves: *Origanum vulgare L.*, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

This research has been carried out in order to determine the "in vitro" antibacterial activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* L. on the mutans *Streptococcus* in three different concentrations (10%, 50% and 100%). The materials and methods were *Origanum vulgare* L. (Oregano) that was obtained from CP plantations. Munchugo, Santiago de Chuco province, La Libertad department and later processed to obtain the aqueous extract in the pharmacy laboratory of the ULADECH University. The strains of *Streptococcus* mutans were cultivated in the Biology Laboratory of the ULADECH - Headquarters, from strains of *Streptococcus* mutans (ATCC ® 25175™) purchased from Gen Lab Peru S.A.C. The disc-diffusion method was used in agar and the strain was reactivated in BHI broth (Heart Brain Infusion), incubated at 37 ° C for 24 hours. Subsequently, it was transferred to a test tube with 5 mL of Müller-Hinton broth, incubated at 37 ° C for 6 hours in microaerophilicity until a turbidity equivalent to 0.5 of the Mc Farland scale was found. Seeding was carried out in 14 plates with MüllerHinton agar by means of the diffusion technique, with the aqueous extract of *Origanum vulgare* L. at the concentrations of 10, 50 and 100%, it was carried out in microaerophilic incubation at 37°C for 24 hours. For the statistical analysis, the STATA Version 13 program was used. The concentrations of the aqueous extract of *Origanum vulgare* L. at 10%, 50% and 100% showed an average inhibition halo of 6,18, 7,81 and 8,63 mm respectively, the difference in averages was statistically significant ($P < 0,05$). It is concluded that the three concentrations used for this study of the aqueous extract of *Origanum vulgare* L., have antibacterial activity against *Streptococcus* mutans.

Keywords: *Origanum vulgare* L., *Streptococcus mutans*

CONTENIDO

1. Título De La Tesis.....	ii
2. Equipo De Trabajo	iii
3. Hoja de firma de jurado y asesor.....	iv
4. Hoja De Agradecimiento.....	v
5. Resumen y abstract	vi
6. Contenido.....	viii
7. Índice de tablas y gráficos.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de la literatura.....	4
2.1 Antecedentes.....	4
2.2 Bases teóricas.....	8
Hipótesis	23
III.	
IV. Metodología.....	24
4.1 Diseño de la investigación.....	24
4.2 Población y muestra.....	24
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	26
4.4 Técnicas y procedimientos de recolección de datos.....	27
4.5 Plan de análisis.....	31
4.6 Matriz de consistencia.....	32
4.7 Principios éticos.....	33
V. Resultados.....	34
5.1 Resultados.....	34
5.2 Análisis resultados.....	37
de VI.	
Conclusiones.....	39
Aspectos complementarios.....	40
Referencias bibliográficas.....	41
Anexos.....	44

ÍNDICE DE TABLAS TABLA N° 1:

Estadística descriptiva de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Origanum vulgare</i> L.....	35
--	----

TABLA N° 2:

Comparación de los tres grupos concentraciones del extracto acuoso de Orégano con Clorhexidina al 0.12%.....	36
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS GRÁFICO N° 1:

Halo de inhibición promedio según diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Origanum vulgare</i> L.....	35
--	----

GRÁFICO N° 2:

Comparación de los tres grupos concentraciones del extracto acuoso de Orégano con Clorhexidina al 0.12%.....	36
--	----

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la tendencia del estilo de vida más saludable está en aumento significativo, aunque en un inicio el concepto de estilo de vida saludable estaba enfocado en bajar de peso y tener una buena figura (1), hoy en día este concepto es mucho más amplio.

Según un artículo publicado en el diario Gestión de Perú, el 90% de los peruanos en la actualidad están dispuestos a pagar más dinero por productos alimenticios que prometen beneficios para la salud (2).

La utilización de productos naturales medicinales no es ajena a esta tendencia, Peña A, Paco O. (3) en su artículo titulado Medicina alternativa, menciona que el 46% de australianos, 49% de franceses y el 70% de canadienses ha utilizado alguna terapia con medicina alternativa la misma que incluye el uso de productos naturales.

En tal sentido y adicionado al problema creciente de la resistencia a los antibióticos, se están evaluando constantemente nuevas alternativas para combatir las infecciones (4).

Consecuentemente en Odontología existen numerosos estudios acerca de productos naturales los cuales tienen efectos antibacterianos, antimicóticos, analgésicos, etc.

Los estreptococos del grupo mutans son las bacterias más importantes implicadas en desarrollo de la caries dental. En la actualidad concretamente, como medida de control químico se recomienda clorhexidina; sin embargo, su uso continuo puede causar

decoloración de los dientes y tinción del dorso de la lengua, alteraciones del gusto, así mismo se ha descrito casos de irritación de la lengua.

Del mismo modo en niños igual o menores a 10 kg que pudieran ingerir más de 100 ml de clorhexidina puede mostrar síntomas de intoxicación como náuseas y vómitos, entre otras reacciones (5).

Uno de los productos naturales que ha sorprendido por su capacidad antibacteriana sobre los *Streptococcus mutans* es *Origanum vulgare*.

El *Origanum vulgare* es una planta aromática cultivada en la sierra de nuestro País, es utilizada como condimento en la comida peruana. Así mismo, investigaciones han reconocido a esta planta diversas propiedades como: antioxidante, antimicrobiana, estrogénica, antígenotóxica, entre otras.

Las diversas investigaciones que se han realizado sobre efectividad antibacteriana del extracto acuoso de orégano, confirma su actividad frente a los *Streptococcus mutans*; con el fin de comprobar y corroborar dichos antecedentes, surge la necesidad de estudiar este producto natural, y así pueda servir de guía para futuros proyectos de investigación, por tal razón se planteó el siguiente enunciado del problema: ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. (orégano) sobre los *Streptococcus mutans*, distrito de Chimbote, provincia del Santa, departamento Ancash, 2018?

El objetivo del presente estudio es evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de orégano sobre los *Streptococcus mutans*.

Así mismo y con la intención de lograr cumplir con el objetivo general propuesto anteriormente, se han definido como primer objetivo específicos: Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* (orégano) a concentraciones de 10%, 50% y 100% y como segundo objetivo específico, comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* a 10%, 50% y 100% frente a la Clorhexidina al 0.12 %.

La presente investigación busca evaluar la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de orégano sobre los *Streptococcus mutans*, con el fin de que pueda ser utilizada para la elaboración de productos naturales para la asepsia de la cavidad bucal de aquella parte de la población que sigue la tendencia a preferir productos naturales.

Por este motivo surge la necesidad de seguir investigando productos alternos a la clorhexidina con el fin de poder minimizar efectos adversos. Y para ello una elección de primera mano son los antibacterianos hechos a base de productos naturales. Así mismo queremos contribuir con nuevos antecedentes que sirvan para ser discutidos en futuras investigaciones.

La presente investigación fue ejecutada en el laboratorio de farmacia y bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote – Sede Central en el mes de setiembre de 2018. Las Cepas de *Streptococcus mutans* fueron reactivadas y cultivadas en su mismo laboratorio, a partir de cepas de *Streptococcus mutans*

(ATCC ® 25175 TM).

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Abdul BA, Hassan AM, Hassan AS. (Bagdad, 2012) en su artículo titulado “Actividad antimicrobiana in vitro de *Thymus Vulgaris*, *Origanum Vulgare* y *Rosmarinus Officinalis* contra patógenos de la caries dental”. **Objetivo:** Evaluar las propiedades antibacterianas y antifúngicas in vitro de los extractos acuosos de dichas plantas contra los microorganismos que causa la caries dental. **Materiales y métodos:** Los microorganismos aislados fueron *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* y *Candida albicans*. Las muestras de hierbas fueron obtenidas de un mercado local para posteriormente utilizarlas para la preparación de sus respectivos extractos acuosos. **Resultados:** Todos los extractos acuosos ejercieron actividad antimicrobiana contra todos los aislados con diferentes diámetros de inhibición en diferentes concentraciones. Así el extracto acuoso de orégano tiene actividad inhibidora frente a todas las cepas utilizadas en este estudio a partir de la concentración de 200 mg \ ml (6).

Scandorieiro S et al. (Brasil, 2016), en su artículo titulado “Efecto sinérgico y aditivo del aceite esencial de orégano y nanopartículas de plata biológicas contra cepas bacterianas resistentes a múltiples fármacos” evaluaron el efecto antibacteriano de una combinación de dos fármacos de nanopartículas de plata biológicamente sintetizadas (bio-AgNP), producida por *Fusarium oxysporum*, y

aceite esencial de orégano (OEO) contra las bacterias Gram-positivas y Gramnegativas, incluyendo cepas resistentes a múltiples fármacos. **Resultados:**

Obtuvieron que ambos compuestos muestran un efecto sinérgico reduciendo así el tiempo de acción contra bacterias como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), y β -lactamasa y *Escherichia coli* productoras de carbapenemasas y *Acinetobacter*. En tanto se determinó que la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de orégano sobre los

Streptococcus mutans es de 0.596 mg/ml (7).

Ayala Reyes MB. (Chimbote, 2019), en su tesis titulada “Comparación de la efectividad antibacteriana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans*, La Libertad, Trujillo, 2017” tuvo como **Objetivo** evaluar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans*. Su **metodología** fue pre - experimental, su muestra fue de 16 placas Petri donde se cultivó la bacteria *Streptococcus mutans* (SM.). Obtuvo como **resultado** que la dilución al 75% del propóleo natural tiene más efectividad antimicrobiana con halos de inhibición 10 mm. **Concluyó** que el propóleo natural si es efectivo contra el *Streptococcus mutans* (8)..

Godoy Vásquez J. (Chimbote, 2018), en su tesis titulada “Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *Streptococcus mutans*, Chimbote, 2017” tuvo como **objetivo** conocer el efecto antimicrobiano del acetite de *Copaifera officinalis* en tres diferentes

concentraciones de 15%, 10%, 5% sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Su **metodología** fue preparar 3 concentraciones diferentes siendo al 15% 10% y 5% utilizando como diluyente el dimetilsulfoxido. Los **resultados** encontrados fueron que la concentración al 15% fue la que mayor actividad antimicrobiana tuvo, con un halo de inhibición de 10.08 mm. Se **concluye** que el aceite de *Copaifera officinalis* tiene un efecto positivo como antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* (9)..

López Alvarado MV. (Trujillo, 2018), en su tesis titulada “Efectividad antibacteriana in vitro del gel de *Burm. f. (aloe vera)* y extracto hidroetanólico de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175” tuvo como **objetivo** comparar la efectividad antibacteriana del gel de *Burm.f. (Aloe vera)* y extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Su **metodología** investigación fue experimental donde prepararon tres concentraciones de gel de Aloe vera (30%, 40% y 50%) y también tres concentraciones de extracto etanólico de manzanilla (15%, 20%, 25%). Sus **resultados** fueron que tanto el gel de Aloe vera al 50% con halos de 8.7 mm como el extracto etanólico de Manzanilla al 25% con halos de 10.2 mm presentan efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Se **concluyó** que el mejor efecto antibacteriano fué para el extracto etanólico de Manzanilla al 25% con halos de 10.2mm (10)..

Montenegro Pareja DD. (Chimbote, Perú), en su tesis titulada “Efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el streptococcus mutans, La Libertad, Trujillo, 2017” tuvo como **objetivo** evaluar la efectividad antimicrobiana de la hoja de la guayaba y la Clorhexidina a concentraciones mínimas inhibitorias frente al Streptococcus mutans. Su **metodología** fue un estudio experimental donde se preparó extracto etanólico en varias concentraciones 32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml,

0.5mg/ml, 0.25mg/ml. Sus **resultados** encontrados fueron que la CMI es al 0.50mg/ml y la concentración mínima bactericida CMB 0.25mg/ml. Se **concluye** que si hubo efectividad antibacteriana del extracto etanólico de la hoja de guayaba frente al Streptococcus mutans a una concentración de 0.50 mg/ml hasta 32mg/ml

(11)..

Coronel Alva J. (Chimbote, Perú), en su tesis titulada “Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de Streptococcus Mutans ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de Lippia Alba” tuvo como **objetivo** determinar la actividad inhibitoria in vitro del aceite esencial de Lippia alba a diferentes concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM. Obtuvo como **resultados** las muestras el aceite esencial de Lippia alba al 100% obtuvo un promedio de 32.2 mm, aceite esencial de Lippia alba al 75 % obtuvo un promedio de 24.4 mm, aceite esencial de Lippia alba al 50 % obtuvo un promedio de 19.2 mm, aceite esencial de Lippia alba al 25 % obtuvo un promedio de 15.4 mm, el control positivo (Clorhexidina 0.12%) obtuvo un promedio de 14.1 mm y el control negativo DMSO 25 % no tuvo efecto

inhibitorio del crecimiento sobre la cepa patrón. Se **concluyó** que el aceite esencial de Lippia alba al 25% comparado con el control positivo (Clorhexidina 0.12%) presento mayor efecto inhibitorio en el crecimiento de la cepa patrón de Streptococcus mutans ATCC®25175TM (12)..

Collantes Vargas M. (Trujillo, 2019), en su tesis titulada “Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de Bixa orellana L. (achiote) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, Trujillo – 2018” tuvo como **objetivo** comparar el efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de Bixa Orellana L. (Achiote) frente a Streptococcus mutans ATCC 25175. **Metodología:** La población estuvo conformada por cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175, además, se elaboraron extractos de las hojas de achiote en diferentes concentraciones, 25, 50 y 75%. El efecto antimicrobiano se evaluó mediante el método de KIRBY BAUER. Los **resultados:** El extracto al 25% obtuvo una media 19.43mm, al 50% una media 23.35 mm, y al 75% una media 26.38mm. En **conclusión**, el extracto hidroetanólico de hojas de Bixa Orellana L. al 75% presentó mayor efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans que las otras dos concentraciones (13).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Plantas medicinales

2.2.1.1 Evolución histórica de las plantas medicinales

El uso de las plantas medicinales, en algún momento fue quizás el único medio que las personas utilizaban para curar o tratar sus dolencias y/o enfermedades, esto debido a que no existía los conocimientos ni la tecnología para realizar análisis o estudios químicos tal como se realizan hoy en día.

La literatura nos da a conocer que los antiguos egipcios, griegos y romanos practicaban la fitoterapia, tales prácticas sirvieron como cimiento para el nacimiento de los medicamentos que hoy en día se utilizan, sin embargo también es cierto que alguna de las prácticas que en tiempos remotos se realizaban aún se sigue usando en algunas partes del mundo (14).

La prehistoria

Se ha demostrado que en la prehistoria el hombre aprendió a distinguir entre las plantas aquellas que eran comestibles, venenosas y aquellas que podrían servir para curar dolencias y heridas.

Así mismo en esta época el uso de las plantas o hierbas estaba asociada a curanderos, chamanes, etc. esto debido a que antiguamente estos eran comúnmente los encargados de tratar las dolencias de las personas (14).

Egipto

En Egipto, gracias a los papiros se sabe que ya se utilizaba muchas plantas con fines medicinales, tales como ajo, ricino, cebolla, anís, comino, acacia, loto, palma datilera, hojas de sen, etc. las mismas que era utilizadas en presentaciones como polvos, ungüentos, píldoras, etc.

(14).

La medicina India

En la India, en los años 1300 a.C. las plantas eran utilizadas también con el objetivo de alargar la vida, por otro lado se utilizaba la pimienta, sándalo, aceite de ricino, etc. como purgantes o calmantes (14).

La medicina China

Es probable que los conocimientos sobre el uso de las plantas con fines curativos hayan pasado de la India a la China. En China la medicina tradicional tiene tres pilares, la acupuntura, la moxibustión, y la fitoterapia.

Algunas de las plantas que utilizaban son el ginseng, el té, y la canela China (14).

La medicina griega y romana

Fue aquí donde se desarrolló la llamada medicina occidental. Algunas referencias impulsadoras de este cambio, fueron Hipócrates, con su obra “Corpus Hipocráticum”, donde da a conocer sus conocimientos médicos de su época, mencionando remedios a través del uso de plantas.

Por su parte Claudio Galeno, quién elaboro remedios caseros para dolencias a través también del uso de plantas, el fundo una nueva ciencia llamada farmacia galénica.

Posterior a la caída del imperio romano los conocimientos fueron pasando a territorios árabes (14).

Medicina árabe

En la antigua medicina árabe es importante mencionar a Avicena, quien basándose en las teorías de galeno, se encargó de difundir su uso, en el mundo el uso de las plantas medicinales junto a una buena dieta y la realización de ejercicios es de vital importancia (14).

La edad media

Entre los siglos X y XII se creó una escuela de medicina en Salerno, donde se elaboró una obra que contiene información sobre medicina a través del uso de plantas.

Por otro lado en esta época se comenzó a difundir con mayor amplitud el uso de plantas medicinales a consecuencia de la creación de las imprentas.

En ese mismo sentido con el descubrimiento de América por parte de los europeos, se comenzaron a exportar más variedades de plantas que fueron utilizadas también en la medicina, entre ellas podemos nombrar al tabaco, zarzaparrilla y la quina (14).

La edad moderna

A partir del siglo XVII se comenzaron a identificar principios activos para ser utilizados en los medicamentos.

Debido a la importancia que se dio y se sigue dando al uso de plantas medicinales es que se comenzaron a crear herbolarios, jardines botánicos para el estudio de las diversas plantas.

En la actualidad universidades, institutos de investigación, laboratorios y compañías farmacéuticas están en constante investigación sobre los principios activos de las plantas medicinales (14).

2.2.1.2 Definición y conceptos básicos en fitoterapia

Definición de fitoterapia

Fitoterapia proviene del griego *phytós* que significa planta o vegetal y *therapeia* que significa terapia, por tanto la fitoterapia es el tratamiento de las enfermedades a través del uso de las plantas medicinales.

La RAE (15), define fitoterapia al tratamiento de enfermedades mediante plantas o sustancias vegetales.

Por otro lado la OMS dentro de las definiciones que ha dado en el área de medicina tradicional está:

Medicamento herbario:

“El concepto de medicamentos herbarios abarca hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos.” (16)

Preparaciones herbarias

Dentro de medicamentos herbarios, se encuentran las preparaciones herbarias que la OMS la define de la siguiente manera:

“Son la base de los productos herbarios acabados y pueden componerse de materiales herbarios triturados o pulverizados, o extractos, tinturas y aceites grasos de materiales herbarios. Se producen por extracción, fraccionamiento, purificación, concentración y otros procesos biológicos o físicos. También comprenden preparaciones obtenidas macerando o calentando materiales herbarios en bebidas alcohólicas o miel o en otros materiales.” (16)

2.2.1.3 La fitoterapia en la actualidad

A consecuencia del avance de la tecnología, la terapia a través de plantas medicinales ha sido mejorada gracias a que se cuenta con diversos medios para poder identificar los componentes terapéuticos de los mismos.

A través de diferentes métodos utilizados en los laboratorios, se puede obtener extractos, aceites esenciales, etc. el mismo que contienen los principios activos de las plantas medicinales (14).

2.2.1.4 Ventajas e inconvenientes del uso de plantas medicinales

Ventajas (14):

- Su modo de acción estimula las defensas del organismo en vez de sustituirlas, de modo que su acción es profunda pero sin agredir al organismo.
- El resultado es una acción más eficaz y duradera que la de los medicamentos químicos.

Inconvenientes (14):

- No se puede descartar el que puedan aparecer efectos secundarios y posibles interacciones con otros tratamientos.
- Interacción química con sustancias tales como fertilizantes o pesticidas, puede ocasionar efectos colaterales indeseados, incluso peligrosos para el organismo.
- Existencia de curanderos sin conocimientos exactos de la terapéutica de las plantas medicinales.

2.2.2 Orégano

2.2.2.1 Taxonomía

Nombre científico:	<i>Origanum vulgare L.</i>
Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
Filo:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae

Género: *Origanum*
Especie: *Origanum vulgare L.*

2.2.2.2 Descripción botánica

Descripción: *Origanum vulgare* es una planta perenne aromática, de base leñosa, que crece a 20-90 cm de altura.

Hojas: Sus hojas son ovadas (en forma de huevo, con el extremo más ancho en la base), 10-40 mm de largo y 5-25 mm de ancho, y nacen una frente a la otra en el tallo. Los bordes de las hojas son lisos o muy poco dentados, y las puntas de las hojas varían de agudas (puntiagudas) a obtusas (redondeadas).

Flores: la inflorescencia es de muchas flores, con flores agrupadas en espigas laterales cortas o terminales cortas y densas. La corola (anillo de pétalos unidos) es de color blanco a morado, de 4 a 8 mm de largo, y tiene dos labios. El cáliz (anillo de sépalos unidos) tiene cinco dientes. Cada flor tiene cuatro estambres (partes masculinas). **Fruto:** cada fruto tiene cuatro nueces pequeñas (unidades de una sola semilla).

2.2.2.3 Origen y Distribución geográfica

El orégano es originario del Mediterráneo, Europa (incluidas las Islas Británicas) y del sur y centro de Asia, y se cultiva en otros lugares del mundo (17).

2.2.2.4 Composición química del orégano

A través de extractos acuosos y sus aceites esenciales diversos estudios han identificado los componentes del *Origanum vulgare L.*, estos compuestos son: Ácido o-cumárico, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido r-hidroxibenzoico, ácido vainillínico, ácido rosmarínico. Mirceno, γ -terpineno r-cimeno, γ -terpineno, timol, carvacrol, β -cariofileno (16).

2.2.2.5 Propiedades del orégano

Arcila et al. (18), en su artículo detalla algunas propiedades biológicas del orégano, alguna de ellas son: antioxidante, antimicrobiana, estrogénica, antígenotóxica.

Antioxidante: El efecto antioxidante del orégano se debe a la presencia de compuestos fenólicos. Estos compuestos son capaces de inhibir la peroxidación lipídica, de esa manera protegen al ADN del daño que puede causar los radicales hidroxilos (18).

Antibacteriano: Varios estudios ha demostrado la actividad antibacteriana del orégano, los componentes principales responsables de dicha actividad son el carvacrol y el timol, de los cuales el timol

muestra mayor actividad antibacteriana contra bacterias gram negativos (18).

“La acción antibacteriana posiblemente se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos”

(18).

2.2.2.6 Usos del orégano

El orégano es ampliamente usado como complemento culinario, además por sus propiedades antioxidantes es usado cosméticamente. Y por último y de acuerdo a las propiedades de sus componentes tiene un uso medicinal.

2.2.3 *Streptococcus mutans*

2.2.3.1 Características generales

Fue descubierta en 1924 por J.K. Clark, se caracteriza por presentarse morfológicamente por cocos grampositivos los cuales se asocian en pareja o en cadenas cortas o largas, son aerobios y anaerobios facultativos y carecen de catalasa.

Su metabolismo es fermentativo y esencialmente producen ácido láctico. Pero, sin embargo, el descenso del pH provocado por su propia producción de ácido puede generar su autólisis.

En los caldos de cultivo se crecimiento puede ser plasmado con turbidez, granular, o depósitos en el fondo de las paredes.

La temperatura óptima de desarrollo es de 36 ± 1 °C.

2.2.3.2 Estructura

Están conformados por ADN cromosómico, el citoplasma Muerína o peptidoglucano, membrana citoplasmática, ácidos teicoicos y lipoteicoicos, carbohidratos y polisacáridos en la pared celular, proteínas en la pared celular, fimbrias, y capa mucosa en cuya composición siempre hay glucano, por tal motivo poseen enzimas de glucosiltransferasas.

2.2.3.3 Cultivo

Para su identificación se puede utilizar medios de cultivo solidos o líquidos:

Sólidos

Dentro de este grupo de medios de cultivos podemos encontrar al agar sangre, que es no selectivo, al MSA (mitis-salivarius-agar) que es selectivo para estreptococos orales, y el selectivo que es MSB (mitissalivarius-bacitracina).

Condiciones de cultivo: Debido a que son anaerobios facultativos, se aconseja que para efectos de la fermentación se las primeras 24 horas de incubación sea en anaerobiosis, posteriormente 24 horas en aerobiosis para de esa manera estimular la formación de polisacáridos extracelulares.

Líquidos

El crecimiento en este tipo de medio casi siempre es granular, algunas veces se adhieren a las paredes del recipiente, en este tipo de cultivo se puede utilizar caldo de cerebro-corazón (BHI), caldo de soja tripsinizada (TSB) y caldo Schaedler.

Condiciones de cultivo: Debido a la abundante producción de ácido no deben ir tamponados y no incubarse más de 24 horas para de esa manera evitar la autólisis.

2.2.3.4 Metabolismo de la sacarosa

El sustrato más importante para el *S. mutans* es la sacarosa, la cual es un disacárido formado por una unidad de D-glucosa y una de D-fructuosa.

Fundamentalmente como producto final se da la producción de ácido láctico, a través del transporte de la sacarosa al interior de la célula, seguida de la fosforilación y utilización de la energía.

Así mismo también se da la síntesis de polisacáridos, a través de la utilización de la glucosa y fructosa, la cual proporcionan un reservorio de energía.

2.2.3.4.1 Producción de ácido

A través de la vía glucolítica se da la producción de ácidos a partir de la sacarosa. Este proceso sigue hasta llevar a formar el piruvato, a partir de ahí los *S. mutans* siguen dos vías una para formar Acetil CoA, y a partir de este acetato y etanol, y especialmente la vía de lactato deshidrogenasa con la posterior formación del lactato.

2.2.3.5 Poder patógeno y virulencia de *S. mutans*

2.2.3.5.1 Caries dental

Polomer (19) citó en su artículo la definición según la OMS de caries dental de la siguiente manera:

“Un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y que evoluciona hasta la formación de una cavidad. Si no se atiende oportunamente, afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos de todas las edades”

KEYES en 196, representó en un esquema los tres principales factores requeridos para el desarrollo de caries dental, los microorganismos, sustrato y huésped.

NEWBRUN en 1989, posteriormente adiciono el factor tiempo, sustentando que para que se produzca la caries dental, los tres factores mencionados anteriormente deberían interactuar y permanecer en el tiempo.

La caries dental se puede explicar como un proceso de desmineralización del esmalte debido a que existe un desequilibrio entre la mineralización y desmineralización del esmalte.

La desmineralización del esmalte se produce por los ácidos orgánicos que son los subproductos de las bacterias en el metabolismo de la sacarosa.

2.2.3.5.2 Papel del S. mutan en la caries dental

El poder cariogénico de los SM está ligado a la sacarosa, ya que estas son capaces de degradar mucho más rápido que otras bacterias de la cavidad oral. Metabólicamente se menciona algunos factores de virulencia de los S. mutan.

- Poder acidógeno.
- Poder acidófilo. Son muy tolerantes a los ácidos
- Poder acidúrico. Siguen produciendo ácidos a pH ácido
- Rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos

- Pueden conseguir el pH crítico para la desmineralización del esmalte más rápidamente que cualquier otro microorganismo de la placa
- Corto efecto post-pH
- Producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa y su movilización

- Producción y movilización de polisacáridos intracelulares
- Producción de dextranasas y fructanasas.

III. HIPÓTESIS

H₁: El extracto acuoso de orégano tiene actividad antibacteriana sobre los *Streptococcus mutans*.

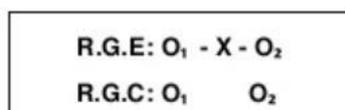
H₀: El extracto acuoso de orégano no tiene actividad antibacteriana sobre los *Streptococcus mutans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

La presente investigación es de tipo experimental, prospectivo y con enfoque cuantitativo.

Esquema:



Donde:

- O₁ = Pre test
- X = Tratamiento
- O₂ = Post test

4.2 Población y muestra

Población:

Cepa de *Streptococcus mutans* cultivada en el Laboratorio de Biología de la ULADECH - Sede Central, a partir de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC ® 25175 TM).

Muestra:

Conformada por 14 placas Petri que contienen las bacterias y discos de papel inoculados con extracto acuoso de *O. vulgare L.* en diferentes concentraciones más el control positivo y negativo.

Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística para hallar el número de repeticiones necesarias que validen el diseño experimental se aplicó la siguiente fórmula estadística:

$$N = \frac{\left(\frac{Z}{\alpha} + \frac{Z}{\beta}\right)^2 \times 2 \times s^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Nf = n \left(\frac{g^{l+3}}{g^{l+1}}\right)$$

n=muestra preliminar

nf= muestra reajustada

$\frac{Z}{\alpha} = 1.96$ para confianza del 95%

$\frac{Z}{\beta} = 0.84$ para una potencia del 80%

$S = 0.8(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ valor asumido por no haber estudios similares.

Reemplazando...

$$N = \frac{(1.96 + 0.84)^2 \times 2 \times (0.64) \times (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$N = (2.8)^2 \times 2 \times 0.64 = 12$$

NF=12 (21/19) = 14 REPETICIONES

4.3 Definición y operacionalización de variables

Variables	Conceptualización	Indicadores	Escala	Valores
Extracto acuoso de <i>O. vulgare L.</i>	Solución acuosa obtenida del <i>O. vulgare L.</i> a determinada concentración	Grado de concentración	Cualitativa ordinal	10%, 50% y 100%

Actividad antibacteriana	Actividad antibacteriana del extracto de <i>O. vulgare</i> sobre los <i>S. mutans</i> .	Diámetro de los Halos de Inhibición (mm)	Cuantitativa de razón	Presente Ausente
--------------------------	---	--	-----------------------	---------------------

4.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

4.4.1 Obtención del extracto acuoso de *O. vulgare L.*

4.4.1.1 Recolección la muestra de *O. vulgare L.*

Se obtuvieron plantas de orégano fresco en el mes de noviembre del 2017, el origen de la planta es del CP. Munchugo, provincia Santiago de Chuco, departamento La Libertad. La muestra fue identificada y depositada en el laboratorio de farmacia de la ULADECH.

4.4.1.2 Lavado, Secado y molienda

El *O. vulgare L.* fue sometido a una eliminación manual de pajas, piedras y otras impurezas, luego se lavó con abundante agua de caño.

Posteriormente se secaron las hojas durante por dos días en una estufa a 38° C.

Seguidamente, se pesó 80 g de las hojas ya secas utilizando una balanza electrónica, esta fue calibrada en 00.00 después de haber pesado un pedazo de papel aluminio.

Luego, la muestra fue molida utilizando un molino para obtener un polvo fino.

4.4.1.3 Preparación del extracto acuoso

El *O. vulgare L.* en polvo se diluyó en 90 ml de agua destilada y se procedió a calentar a 100 °C durante 30 minutos. Así se obtuvo un extracto acuoso de *O. vulgare L.* a la concentración de 160 mg/ml.

4.4.2 Preparación del material biológico

4.4.2.1 Reactivación de las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC ® 25175™)

La reactivación de las cepas de *S. mutans* ATCC ® 25175™, se hizo a través del método de reactivación en placa, para lo cual se utilizó Agar Mueller-Hinton como medio de cultivo, a una temperatura de 37° C, por 24 horas.

Posteriormente se seleccionaron 3 colonias utilizando un asa de siembra para luego transferirlo a un tubo de ensayo el cual contenía 5 ml de caldo Müller-Hinton.

Luego, se incubó el caldo por 6 horas a una temperatura entre 37° en microaefilia, hasta obtener una turbidez final equivalente al 0.5 de la escala de Mc Farland, que corresponde a 10^8 UFC/mL.

4.4.2.2 Prueba de sensibilidad antibacteriana

Sembrado de la cepa en Agar:

Luego de que las cepas fueron reconstituidas se sembraron en 14 placas petri las cuales contenían Agar Müller-Hinton utilizando la técnica de difusión, de la siguiente manera:

- Se utilizó un hisopo de algodón estéril y se sumergió en el inóculo, luego se hizo rotar el hisopo varias veces haciendo presión sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido, para de esta manera remover el exceso del inóculo en el hisopo.

- Posteriormente se procedió a inocular la superficie seca de la placa de Müller-Hinton, estriando en tres direcciones el hisopo para asegurarnos que haya una distribución uniforme.
- Luego se dejó secar las placas a una temperatura ambiente por 3 a 5 m y se esa manera lograr que para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbida.

Discos de papel

Los discos de papel utilizados para este estudio tenían un diámetro de 6mm y un espesor de 0.02mm.

Inoculación de la muestra:

Se utilizaron 5 discos de papel, para cada placa Petri, los cuales fueron enumerados del 1 al 5, y usando una micropipeta, se procedió de la siguiente manera:

Placa : *Origanum vulgare L.*

Disco 1: Se inoculó 10 uL de extracto acuoso de orégano al 10%

Disco 2: Se inoculó 10 uL de extracto acuoso de orégano al 50% Disco

3: Se inoculó 10 uL de extracto acuoso de orégano al 100% Disco 4:

Se inoculó 10 uL de Clorhexidina al 0.12%.

Disco 5 Se inoculó 10 uL de agua destilada.

Posteriormente se colocó cada uno de los discos de papel sobre las placas Petri que contenían el del agar, para ello se utilizó una pinza estéril y se fue presionando suavemente sobre cada disco para asegurar que exista un contacto uniforme. Los discos de papel se colocaron a una distancia mínima de 25mm uno del otro.

Incubación de la muestra:

Posteriormente se cubrió las placas petri, y se procedio a colocarlas en la incubadora en una posición invertida a 37 °C por 24 horas.

4.5 Plan de análisis

- La acción antibacteriana del extracto acuoso de *O. vulgare* L. fue medida en milímetros, se tomaron en cuenta los diámetros de los discos para lo cual se utilizó un calibrador digital.
- Se mantuvieron iluminadas la parte posterior de las placas.
- Los datos obtenidos de la medición de los halos de inhibición fueron anotados en la ficha de recolección de datos que se muestra en el anexo 02.
- La prueba estadística a utilizar se seleccionó en base a 2 pruebas, prueba de normalidad (Kolmogorov) y la prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) para poder utilizar el análisis de varianza (Anexo 4 y 5).
- En la prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) el valor de “P” es igual a “,000” es decir es menor a 0.05 por lo tanto se acepta la hipótesis H1 (al menos una varianza es diferente) por tal motivo se ha seleccionado la prueba de K-Wallis porque en la prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) no cumple. (Anexo 4)
- Para realizar dichas pruebas estadísticas se utilizará el software IBM SPSS Statistics V25.0.

4.6 Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología	Población y muestra
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Origanum vulgare L.</i> (orégano) sobre los <i>Streptococcus mutans</i> ?	<p>Objetivo general:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de orégano sobre los <i>Streptococcus mutans</i></p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>Origanum vulgare L.</i> (orégano) a concentraciones de 10%, 50% y 100%.</p> <p>Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Origanum vulgare L.</i> a 10%, 50% y 100% frente a la Clorhexidina al 0.12%</p>	<p>H₁: El extracto acuoso de orégano tiene actividad antibacteriana sobre los <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>H₀: El extracto acuoso de orégano no tiene actividad antibacteriana sobre los <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>- Extracto acuoso de orégano</p> <p>- Actividad antimicrobia na.</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>•Tipo cuantitativo</p> <p>Nivel de la investigación</p> <p>•Nivel explicativo</p> <p>Diseño de la investigación</p> <p>Experimental</p>	<p>Población:</p> <p>Cepa de <i>Streptococcus mutans</i> cultivada en el Laboratorio de Biología de la ULADECH - Sede Central, a partir de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC ® 25175 TM).</p> <p>Muestra:</p> <p>Conformada por 14 placas Petri que contienen las bacterias y discos de papel inoculados con extracto acuoso de <i>O. vulgare L.</i> en diferentes concentraciones más el control positivo y negativo.</p>

4.7 Principios éticos

El presente estudio contó con la autorización de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en concordancia con las recomendaciones establecidas en la declaración de Helsinki, adoptado por la 18ª Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia, junio 1964 y modificada por la Asamblea Médica Mundial en Tokio, enero 2004. (24)

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

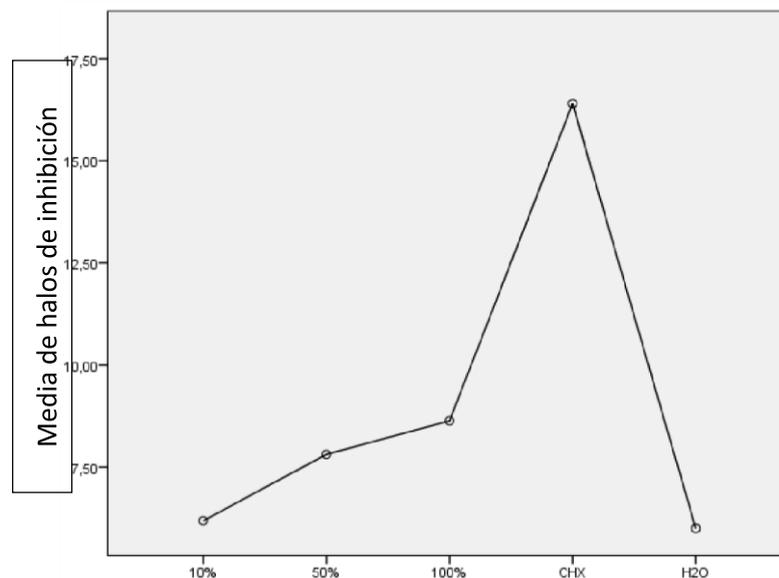
En la tabla N°1, se presentaron la estadística descriptiva de las 3 concentraciones del extracto acuoso y del control positivo que fue la clorhexidina. Como se muestra en esta tabla, los resultados más altos los tiene el extracto acuoso al 100%, que presenta una media de 8.63.

En la tabla N°2, se presentaron el contraste de los tres grupos del extracto de Orégano y el control positivo, en los cuales se comparó la efectividad inhibitoria de las tres concentraciones frente a la clorhexidina al 0.12%. La comparación dio como resultado que la diferencia más significativa se dio entre el extracto acuoso al 10% y la clorhexidina al 0.12%.

Tabla N° 1 Estadística descriptiva de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.*

	N°	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%			
					Límite		Mín.	Máx.
					inferior	superior		
Extr. Orégano 10%	14	6.18	0.16	0.04	6.09	6.28	6.02	6.52
Extr. Orégano 50%	14	7.81	0.54	0.14	7.50	8.12	7.02	8.61
Extr. Orégano 100%	14	8.63	0.43	0.11	8.39	8.88	8.05	9.24
CHX 0.12%	14	14.40	0.64	0.17	1.60	1.68	15.32	17.66
Agua destilada	14	6.00	0.00	0.00	6.00	6.00	6.00	6.00

Fuente: Ficha de observación



Extracto de orégano, CHX y H2O

Fuente: Datos de la tabla N° 1

Gráfico 1: Media de los Halos de inhibición según diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.*

El extracto acuoso de Orégano al 100% obtuvo mayor actividad antimicrobiana frente a los *Streptococos mutans*, obteniendo una media con respecto a su halo de inhibición de 8.63 mm. La clorhexidina al 0.12% obtuvo una media de 16.40, siendo esta mayor a la del extracto de orégano al 100%.

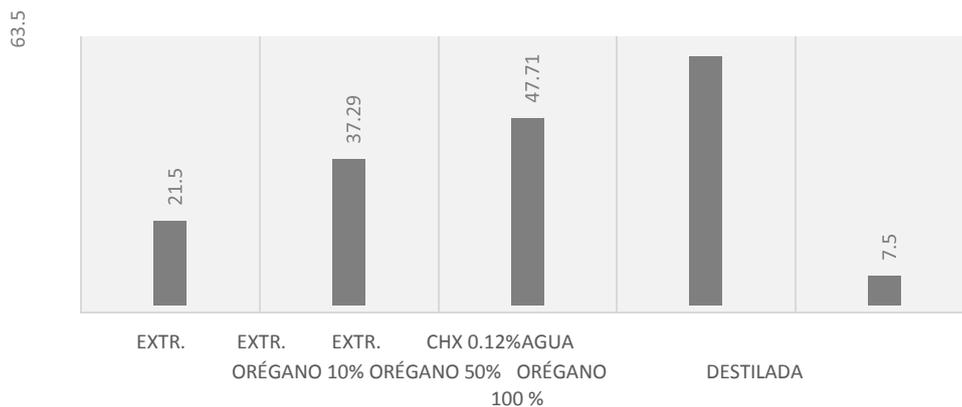
Tabla N° 2 Comparación de los tres grupos concentraciones del extracto acuoso de Orégano

PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS

RANGOS			
	TRATAMIENTOS	N	Rango promedio
ANTIMICROBIANA	10%	14	21.50
	50%	14	37.29
	100%	14	47.71
	CHX	14	63.50
	H2O	14	7.50
	Total	70	

Fuente: Ficha de observación

COMPARACIÓN DE LOS TRES GRUPO DE CONCENTRACION DEL EXTRACTO ACUOSO DE ORÉGANO



Fuente: Datos de la tabla N° 2

Grafico 2: Comparación de los tres grupos concentraciones del extracto acuoso de Orégano

Utilizando la prueba de Kruskal Wallis se observa que existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto de Oregano. (En la prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) el valor de $P=,000$ es decir es $P < 0.05$).

Prueba de Post hoc detallado en el anexo 7.

5.2 Análisis de resultados

En la presente investigación se tuvo como objetivo general determinar la actividad antibacteriana “in vitro” del extracto acuoso de orégano sobre los *Streptococcus mutans*. Los resultados demostraron que el extracto acuoso de orégano tiene actividad antibacteriana significativa frente a los *Streptococcus mutans* a partir de las concentraciones del 50% al 100% con medias de halos de inhibición de 7.81mm y 8.63mm respectivamente. Sin embargo estas fueron menores comparadas con la Clorhexidina al 0.12 que obtuvo una media de 14.40 mm.

El extracto de Oregano al 10% estadísticamente es igual al control negativo (agua destilada).

Comparando lo investigado por **Abdul BA, Hassan AM, Hassan AS. (2012)**, donde demostraron que el extracto acuoso de orégano tiene actividad inhibidora frente a todas a cepas de *Streptococcus mutans* a partir de la concentración de 20%; en nuestro estudio se demostró actividad inhibitoria significativa a partir de concentraciones del 50%, aun así la actividad inhibitoria demostrada fue menor a la clorhexidina al 0.12%.

Se realizó una comparación con algunos otros productos naturales donde sus objetivos era evaluar la actividad antimicrobiana de dichas plantas sobre los *Streptococcus mutans* y lo comparamos con nuestros resultados, así encontramos:

Ayala Reyes MB, (Chimbote, 2019). Encontró que el propóleo natural al 75% mostro un halo de inhibición promedio de 10 mm; siendo este efecto antimicrobiano mayor al encontrado en nuestro estudio utilizando el orégano.

Godoy Vásquez J, (Chimbote,2018) encontró que el aceite esencial de copaiba al 15% mostró actividad antimicrobiana frente al SM con un halo de inhibición promedio de 10.08; siendo este efecto antimicrobiano mayor al encontrado en nuestro estudio utilizando el orégano.

Estos estudios nos demuestran que si compráramos al extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* (orégano) con los productos naturales usados en otras investigaciones y que fueron tomadas en cuenta en esta investigación, el extracto acuoso de *Origanum vulgare L.* (orégano) tiene menor actividad antimicrobiana.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso de orégano si tiene actividad antimicrobiana sobre los *Streptococcus mutans*, donde la concentración al 100% fue la que presento mayor inhibición.
2. Las tres concentraciones que fueron investigadas, el extracto acuoso al 10%, 50% y 100%, presentan un efecto antimicrobiano sobre los *Streptococcus mutans*; donde la concentración al 10% fue la que obtuvo menor diámetro del halo de inhibición.
3. El grupo control que fue la clorhexidina al 0,12% tuvo una media de 14.40 mm. Las tres concentraciones a su vez mostraron diferencias estadísticamente diferentes entre ellas.

RECOMENDACIONES

- En la ejecución de trabajos de investigación relacionada a los productos naturales, se debe tomar en cuenta los beneficios ya descubiertos empíricamente, lo cual sería corroborado o descartado con estas investigaciones.
- Solicitar a la universidad las facilidades y medios necesarios la ejecución de futuros proyectos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Entérate sobre el avance de la alimentación saludable en el Perú [Internet]. El comercio (Lima). 2017 [citado 13 de octubre de 2017]. Disponible en: <https://goo.gl/BTJ6nN>
2. Lima Orgánica: "el mercado de comida saludable ha evolucionado favorablemente por la demanda del público" [Internet]. Gestión (Lima). 2017 [citado 13 de octubre de 2017]. Disponible en: <https://goo.gl/AbYJVy>
3. Peña A, Paco O. Medicina alternativa: intento de análisis [Internet]. An Fac Med Lima 2007; 68(1). Disponible en: <https://goo.gl/WqpTJ5>
4. El aceite de coco combate la caries dental [Internet]. BBC Mundo (Londres). 2012 [citado 13 de octubre de 2017]. Disponible en: <https://goo.gl/zjPWHZ>
5. Liébana U. Microbiología oral. 2 ed. España. McGraw-Hill; 2002.
6. Abdul BA, Hassan AM, Hassan AS. In Vitro Antimicrobial Activity of *Thymus Vulgaris*, *Origanum Vulgare* and *Rosmarinus Offcinalis* against dental caries pathogens [Internet]. ibn alhaitham journal for pure and Applied science. 2012 [citado 22 de octubre de 2017]; 2(35): 33-39. Disponible en: <https://goo.gl/EDqo5w>
7. Scandorieiro S, Camargo LC, Lancheros CAC, et al. Synergistic and Additive Effect of Oregano Essential Oil and Biological Silver Nanoparticles against Multidrug-Resistant Bacterial Strains [Internet]. Front. Microbiol. 2016 [citado 22 de octubre de 2017]; 7(760). Disponible en: <https://goo.gl/Mzu5n4>
8. Ayala Reyes MB. *Comparación de la efectividad antibacteriana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al streptococcus mutans, La Libertad, Trujillo, 2017*. [Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018.
9. Godoy Vásquez S. *Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de copaifera officinales (copaiba) sobre streptococcus mutans, Chimbote, 2017*. [Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018.
10. López Alvarado M. *Efectividad antibacteriana in vitro del gel de Burm. f. (aloe vera) y extracto hidroetanólico de Matricaria chamomilla (manzanilla) sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175*. [Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018.
11. Montenegro Pareja D. *Efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el streptococcus mutans, La Libertad, Trujillo, 2017*. [Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2019.

12. Coronel Alva J. *Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de Streptococcus Mutans ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de Lippia Alba (pampa orégano)*. [Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018.
13. Collantes Vargas M. *Efecto antibacteriano de tres concentraciones del extracto hidroetanólico de hojas de Bixa orellana L. (achiote) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 2517. 5*[Tesis Titular]. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2018.
14. Manual plantas medicinales: formación para el empleo. Madrid: Editorial CEP; 2010.
15. Real Academia Española. (2014). Diccionario de la lengua española (23.a ed.). Consultado en: <http://dle.rae.es/?id=I1bRNBK>
16. Medicina tradicional: definiciones [Internet]. OMS. [citado 04 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://goo.gl/8MKFCZ>
17. Origanum vulgare L. [Internet]. Kew science: Plants of the world online. [citado 12 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://goo.gl/wT3Pm6>
18. Arcila LC, Loarca PG, Lecona US, Gonzales ME. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. [Internet]. Scielo. 2004 [citado 14 de noviembre de 2017]; 54(1). Disponible en: <https://goo.gl/uJr4C8>
19. Palomer R Leonor. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. Rev. chil. pediatr. [Internet]. 2006 Feb [citado 2017 Nov 15] ; 77(1): 56-60. Disponible en: <https://goo.gl/gE9RoY>
20. Moromi H, Martinez Cadillo E, Ramos Perfecto D. Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Odontol. Sanmarquina 2009; 12(1): 25-28
21. Castro Arqueros V. Inhibición del crecimiento in vitro de Streptococcus mutans por Papaina y Sanitrend.[Tesis Titular]. Santiago: De Universidad de Chile; 2005.
22. Liébana, J., Castillo, A.M. & Rodríguez-Avial, C. 2002, "Género Streptococcus y Bacteria relacionadas." in Microbiología Oral. 112 ed. J. Liébana, 2a. Edición edn, McGraw-Hill-Interamericana de España, Madrid, pp. 325-344.<https://es.slideshare.net/hector8484/microbiologia-oral-53402954>
23. Ojeda GJ, Oviedo GE, Salas LA. Streptococcus mutans y caries dental. CES Odontol. vol.26 no.1 Medellín Jan. /June 2013
24. Mazzani M. Declaración de Helsinki. Revista colombiana de bioética. 2001; 6:1.

25. Alarcón P. Diagnóstico Microbiológico del Género Streptococcus. Laboratorio de Referencias Cocaceas Gran Positivas. Instituto de Salud Pública. Chile. 2011.
26. Modesto A., Drake D. R. Multiple exposures to chlorhexidine and xylitol: Adhesion and biofilm formation by streptococcus mutans. Current Microbiology 2006; 52(6), 418-23.

N°
ANEXO 1

**CARTA DE PRESENTACIÓN AL JEFE DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA Y
MICROBIOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ULADECH
CATÓLICA.**



CARGO

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

Chimbote, 28 de Octubre del 2017

CARTA N° 061-2017- DIR-EPOD-FCCS-ULADECH Católica

Señor:

Mg. Luis Alberto Sánchez Angulo
Jefe del laboratorio de Biología y Microbiología del Departamento de Química
ULADECH Católica.

Presente.-

A través del presente, reciban ustedes 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, el estudiante viene desarrollando la asignatura de Taller de Investigación, a través de un trabajo de investigación denominado "**Comparación In Vitro de la efectividad inhibitoria del aceite de coco con el extracto de orégano sobre los streptococcus mutans**".

Para ejecutar su investigación, el alumno ha seleccionado la Institución que Ud. Dirige, por lo cual, solicito brindarle las facilidades del caso a las **Sr. Jorge Ivan Vázquez Espeleta**; a fin de realizar el presente trabajo.

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

Atentamente;

X [Signature]
Mg. Luis Alberto Sánchez Angulo

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA
UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

[Signature]
Mg. C.D. Wilfredo Ramos Torres
DIRECTOR

ANEXO N°

2

INTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

	Extracto acuoso de <i>Origanum vulgare L.</i>			Clorhexidina 0.12%	Agua destilada
	al 10%	al 50%	al 100%		
Placa N° 1					
Placa N° 2					
Placa N° 3					
Placa N° 4					
Placa N° 5					
Placa N° 6					
Placa N° 7					
Placa N° 8					
Placa N° 9					
Placa N° 10					
Placa N° 11					
Placa N° 12					
Placa N° 13					
Placa N° 14					

Fuente: Flores Romero J. [Tesis Titular]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014.

ANEXO N°

3

INTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS (LLENADO)

	Extracto acuoso de <i>Origanum vulgare L.</i>			Clorhexidina 0.12%	Agua destilada
	al 10%	al 50%	al 100%		
Placa N° 1	6,01	7,83	8,14	15,97	6
Placa N° 2	6,13	7,55	8,66	16,75	6
Placa N° 3	6,5	8,62	8,65	16,76	6
Placa N° 4	6,08	7,35	8,16	17,65	6
Placa N° 5	6,22	8,12	9,11	16,74	6
Placa N° 6	6,01	7,06	8,27	15,67	6
Placa N° 7	7,75	9,54	9,65	16,91	6
Placa N° 8	6,01	7,96	8,29	15,31	6
Placa N° 9	6,01	7,07	8,06	16,8	6
Placa N° 10	6,18	7,3	8,57	16,78	6
Placa N° 11	6,14	7,62	8,39	15,9	6
Placa N° 12	6,01	7,63	9,09	16,31	6
Placa N° 13	6,33	8,39	9,18	15,57	6
Placa N° 14	6,53	8,31	8,95	16,64	6

ANEXO N°

4

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

1. **H₀**: No existe diferencias significativas entre las varianzas de **Actividad antimicrobiana**
H₁: Existen diferencias significativas entre las varianzas de **Actividad antimicrobiana**
2. Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 5\% = 0,05$
- 3.- Prueba estadística de Levene:

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
9,365	2	39	,000

- 4.- Valor de $P = 0,000 > 0.05$ entonces podemos decir existe diferencias significativas entre las varianzas de Actividad antimicrobiana
- 5.- Toma de decisiones: Se acepta hipótesis H₁ (**menos una varianza es diferente**).

ANEXO N°

N°
ANEXO 5

PRUEBA DE NORMALIDAD

1. Ho: La variable actividad antibacteriana de la población tienen una distribución normal

H1: La variable actividad antibacteriana de la población es distinta a una distribución normal

2.- Nivel de Significancia (alfa) $\alpha = 5\% = 0,05$

3.- Prueba estadística de Kolmogorov-smirnov:

PRUEBAS DE NORMALIDAD

	TRATAMIENTOS	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
ANTIMICROBIANA	10%	,156	14	,200*
	50%	,133	14	,200*
	100%	,149	14	,200*

4.- Valor de $P < 0.05$ de todos los sectores entonces aceptamos la hipótesis nula.

5.- Toma de decisiones: La Actividad antimicrobiana proviene de una distribución normal.

ANEXO 6**PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS**

1.- **H₀**: El promedio de La Actividad antimicrobiana en los grupos son iguales.

H₁: El promedio de La Actividad antimicrobiana en al menos 2 sectores es diferente.

2.- **Nivel de Significancia** (alfa) $\alpha = 5\% = 0,05$

3.- **Prueba estadística NO PARAMÉTRICA**: El test de Kruskal-Wallis

RANGOS			
	TRATAMIENTOS	N	Rango promedio
ANTIMICROBIANA	10%	14	21.50
	50%	14	37.29
	100%	14	47.71
	CHX	14	63.50
	H2O	14	7.50
	Total	70	

ESTADÍSTICOS DE CONTRASTE^{A,B}

	ANTIMICROBIANA
Chi-cuadrado	65,302
gl	4
Sig. asintót.	,000

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: TRATAMIENTOS

N°

4.- Valor de $P= 0,000 < 0.05$ entonces rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa.

5.- Toma de decisiones: El promedio de Actividad antimicrobiana al menos 1 es diferente.

ANEXO 7

PRUEBA DE POST HOC

Comparaciones múltiples

HSD Tukey

		Intervalo de confianza al 95%				
		Diferencia de				
(I) TRATAMIENTOS		medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
10%	50%	-1,62714*	0.16106	0.000	-2.0790	-1.1752
	100%	-2,45000*	0.16106	0.000	-2.9019	-1.9981
	CHX	-10,21643*	0.16106	0.000	-10.6683	-9.7645
	H2O	0.18429	0.16106	0.782	-0.2676	0.6362
50%	10%	1,62714*	0.16106	0.000	1.1752	2.0790
	100%	-,82286*	0.16106	0.000	-1.2748	-0.3710
	CHX	-8,58929*	0.16106	0.000	-9.0412	-8.1374
	H2O	1,81143*	0.16106	0.000	1.3595	2.2633
100%	10%	2,45000*	0.16106	0.000	1.9981	2.9019
	50%	,82286*	0.16106	0.000	0.3710	1.2748
	CHX	-7,76643*	0.16106	0.000	-8.2183	-7.3145
	H2O	2,63429*	0.16106	0.000	2.1824	3.0862
CHX	10%	10,21643*	0.16106	0.000	9.7645	10.6683
	50%	8,58929*	0.16106	0.000	8.1374	9.0412
	100%	7,76643*	0.16106	0.000	7.3145	8.2183
	H2O	10,40071*	0.16106	0.000	9.9488	10.8526
H2O	10%	-0.18429	0.16106	0.782	-0.6362	0.2676
	50%	-1,81143*	0.16106	0.000	-2.2633	-1.3595
	100%	-2,63429*	0.16106	0.000	-3.0862	-2.1824
	CHX	-10,40071*	0.16106	0.000	-10.8526	-9.9488

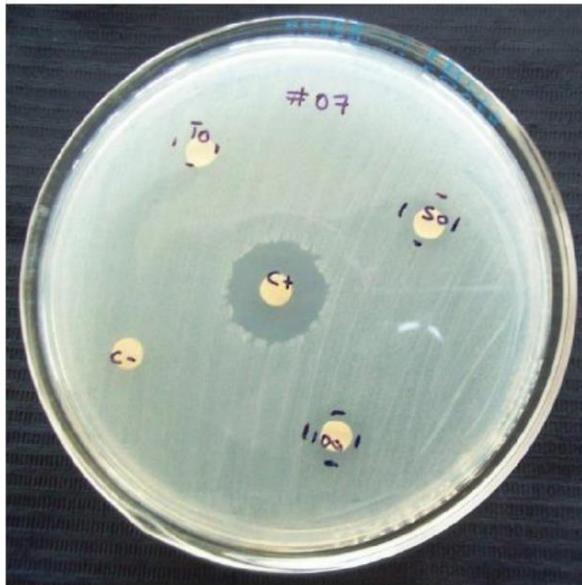
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

N°

ANEXO 8

EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS D ELA EJECUCIÓN

Fotografía donde se observa los resultados en una de las 14 placas Petri utilizadas.



N°

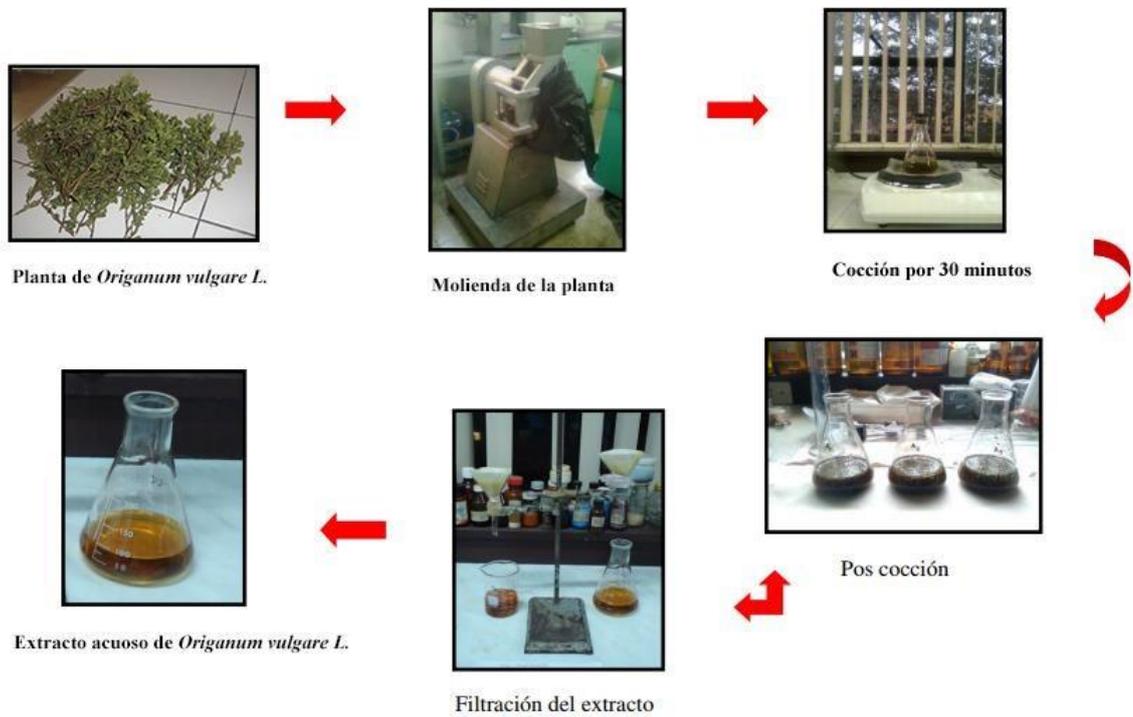
Planta de *Origanum vulgare L.*



Eliminación manual de pajas, piedras y otras impurezas en el Laboratorio de

Farmacia de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote - Sede Central

Preparación del extracto acuoso de *Origanum vulgare L.*



C. Plantas de *O. vulgare L.* seleccionadas

Dilución del extracto de *Origanum vulgare L.*



Reactivación de las cepas de *Streptococcus mutans* en placa.

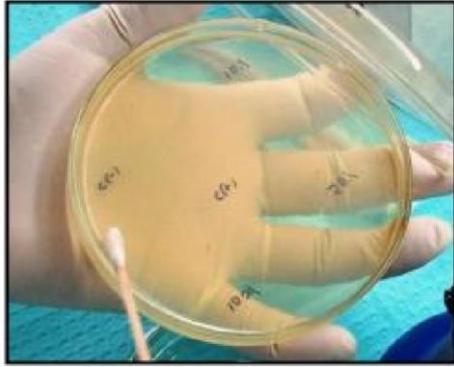


Seleccionaron y transferencia de colonias a medio de cultivo.

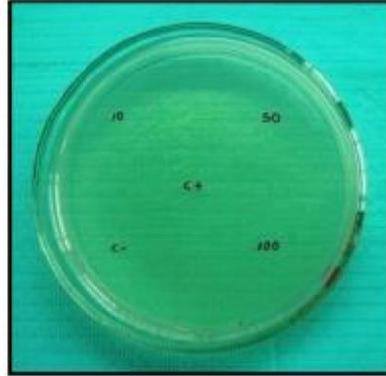


Sembrado de la cepas en placa dos placa petri

Placa N° 1



Placa N° 2



Inoculación de la muestra en discos de papel



Colocación cada uno de los discos sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril.



Formación de los halos de inhibición

