

---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL COLUTORIO A BASE  
DE ACEITE ESENCIAL DE *Lippia alba* (PAMPA  
ORÉGANO) FRENTE A CEPAS DE *Streptococcus mutans*  
ATCC 25175, Trujillo- 2019**

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

AUTOR

**CORONEL ALVA, REYLES**

**ORCID: 0000-0002-6646-0304**

ASESOR

**HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA**

**ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**TRUJILLO-PERÚ**

**2020**

## 1. Título de la tesis

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL COLUTORIO A BASE DE ACEITE  
ESENCIAL DE *Lippia alba* (PAMPA ORÉGANO) FRENTE A CEPAS DE  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019

## **2. Equipo de Trabajo**

### **AUTOR**

Coronel Alva, Reyles

ORCID: 0000-0002-6646-0304

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

### **ASESORA**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

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

### **JURADO**

Pairazamán García, Juan Luis

ORCID: 000-0001-822-8009

Morón Cabrera, Edwar Richard

ORCID: 000-0002-4666-8810

Córdova Salinas, Imer Duverli

ORCID: 000-0002-0678-0162

### 3. Hoja de firma del jurado y asesor

---

Mgtr. Pairazamán García, Juan Luis

**PRESIDENTE**

---

Mgtr. Morón Cabrera, Edwar Richard

**MIEMBRO**

---

Mgtr. Córdova Salinas, Imer Duverli

**MIEMBRO**

---

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita

**ASESORA**

#### **4. Hoja de agradecimiento**

Agradezco en primer lugar a dios, por haberme brindado salud y muchas fuerzas para salir adelante en cada obstáculo que se presentó durante mi formación académica.

Agradezco a mis padres Wilfredo Coronel y Hilda Alva por sus consejos que me brindaron para ser una buena persona y un buen hijo.

Agradezco a mis docentes Cesar Vásquez y Tammy Honores quienes me guiaron en cada momento con sus sabias enseñanzas durante mi formación académica.

## 5. Resumen

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del colutorio compuesto de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) a diferentes concentraciones frente a cepas de bacterias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en condiciones de laboratorio. Se elaboró un colutorio compuesto de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) a concentraciones de 10, 20 y 30%, se empleó 400 gramos de hojas verdes que fueron sometidos a un proceso de arrastre a vapor por hidrodestilación. La determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante la prueba de sensibilidad antibiótica de difusión por disco Kirby Bauer, para ello se realizó 10 repeticiones por cada concentración de 10, 20 y 30% con agar Müller Hinton y se cultivaron junto con las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC25175 en condiciones de anaerobiosis por 24 horas, luego se comparó los halos de inhibición con clorhexidina al 12%. Los resultados demostraron que los halos de inhibición bacteriana promedio para la concentración al 10% fue de 6.6 mm, para el 20% fue de 12.3 mm, para el 30% fue de 16.6 mm y para el grupo control con clorhexidina al 0.12% fue 22.6 mm. . Se concluyó que el colutorio compuesto de *Lippia alba* al 30% tiene mayor efecto antibacteriano que al 20% y al 10% sobre cepas de bacterias de *Streptococcus mutans* ATCC25175, sin embargo, Clorhexidina al 12% demostró tener un mayor efecto antibacteriano.

**Palabras claves:** Agente antibacteriano, colutorio, *Lippia alba*, *Streptococcus mutans*.

## Abstract

The present study was carried out with the objective of evaluating the antibacterial effect of the mouthwash composed of essential oil of *Lippia alba* (pampa oregano) at different concentrations against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 bacteria under laboratory conditions. A mouthwash composed of essential oil of *Lippia alba* (pampa oregano) was made at concentrations of 10, 20 and 30%, 400 grams of green leaves were used that were subjected to a process of steam dragging by hydrodistillation. Determination of the antibacterial effect was carried out using the Kirby Bauer disk diffusion antibiotic sensitivity test, for which 10 repetitions were performed for each concentration of 10, 20 and 30% with Müller Hinton agar and they were cultured together with the *Streptococcus mutans* strains ATCC25175 under anaerobic conditions for 24 hours, then the inhibition halos were compared with 12% chlorhexidine. The results showed that the average bacterial inhibition halos for the 10% concentration was 6.6 mm, for 20% it was 12.3 mm, for 30% it was 16.6 mm and for the control group with 0.12% chlorhexidine it was 22.6 mm. It was concluded that the 30% *Lippia alba* compound mouthwash has a greater antibacterial effect than 20% and 10% on strains of *Streptococcus mutans* bacteria ATCC25175, however, 12% Chlorhexidine proved to be better.

Key words: Antibacterial agent, *Lippia alba*, mouthwash, *Streptococcus mutans*

## 6. Contenidos

1. Título de la tesis .....	ii
2. Equipo de Trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor .....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria .....	v
5. Resumen y abstract .....	vi
6. contenidos.....	viii
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros .....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura .....	3
III. Hipótesis .....	23
IV. Metodología.....	24
4.1 Diseño de la investigación. ....	24
4.2 Población y muestra.....	24
4.3 Definición y operacionalización de variables .....	26
4.4 Técnicas e instrumento de recolección de datos .....	27
4.5 Plan de análisis.....	32
4.6 Matriz de consistencia .....	33
4.7 Principio éticos .....	34
V. Resultados .....	34
5.1 Resultados.....	35
5.2 Análisis de resultados .....	37
VI. Conclusiones.....	42
Aspectos complementarios .....	43
Referencias bibliográficas .....	44
Anexos .....	53



## 7. Índice de tablas y cuadros

**Tabla 1.** Resumen estadístico del efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo – 2019.....34

**Tabla 2.** Comparación del efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo 2019 .....35

## I. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud, en su último reporte indicó que, la caries dental, es considerada como un problema de salud pública de alta prevalencia e incidencia que afecta a todo tipo de pacientes, sin distinción de edad, sexo, raza, y estado económico. Según los investigadores, esta enfermedad está relacionada con el nivel educativo y tiene mayor frecuencia en individuos que presentan un alto consumo de alimentos ricos en sacarosa, además de una mala higiene bucal.<sup>1</sup>

*Streptococcus mutans*, es considerada como la bacteria más importante en la presencia de la caries dental, este microorganismo es un coco Gram positivo y fue aislado por primera vez por Clarke en 1924 en lesiones cariosas del esmalte dental, es una bacteria que puede vivir en un medio ácido y en un medio alcalino, gracias a sus formas mutantes. También es conocida como anaeróbica facultativa, ya que puede usar el oxígeno para su propio crecimiento.<sup>2</sup>

*Lippia alba*, es una planta que pertenece a la familia *Verbenaceae*, no es común, es perenne, son arbustos y es utilizado comúnmente en la medicina natural por sus efectos antifúngicos y antibacterianos, asimismo, es utilizado como sedante, para el tratamiento de la diabetes, antiespasmódica, entre otros.<sup>3</sup>

Por todo lo antes dicho, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 Trujillo, 2019. Los resultados de este estudio nos permitieron conocer si el pampa orégano en aceite presenta efectos antibacterianos en diferentes concentraciones, asimismo, este estudio nos servirá de base para la continuación de otras investigaciones a base de la misma planta. El diseño para este estudio fue experimental, transversal, prospectivo y analítico. Los resultados demostraron que los halos de inhibición bacteriana promedio para la concentración al 10% fue de 6.6 mm, para el 20% fue de 12.3 mm, para el 30% fue de 16.6 mm y para el grupo control con clorhexidina al 0.12% fue 22.6 mm. En conclusión, la clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que los colutorios compuestos de aceite esencial de *Lippia alba* al 10, 20 y 30% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## II. Revisión de la Literatura

### 2.1 Antecedentes

Coronel J.<sup>1</sup> (Chimbote, Perú, 2018), “Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano)”, en su estudio tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Lippia alba* en distintas concentraciones contra cepas de *Streptococcus mutans*. Extrajo aceite de *Lippia alba* por el método de hidrodestilación y lo diluyó en dimetilsulfóxido para obtener las siguientes concentraciones; 25%, 50%, 75% y al 100%. Las cepas de *Streptococcus mutans* se sembraron en caldo BHI y se incubó a 37°C por 48 horas para su posterior estandarización con el tubo Mc Farland  $1.5 \times 10^8$  bc.ml, luego realizó la prueba de sensibilidad antibiótica Kirby Bauer en placas con agar BHI y sembró cepas de *Streptococcus mutans* y se colocó discos Whatmann empapados con las diferentes concentraciones y lo llevó a incubar a 37° por 48 horas para las lecturas de los halos formados. Los resultados demostraron que la concentración al 100% tuvo un halo de inhibición de un diámetro de 24.4 mm, al 50% tuvo un halo de inhibición de 19.2 mm, y al 25% un halo de inhibición de 15.4 mm mayor que el grupo control con clorhexidina. Concluyó que el aceite a más concentración tiene mayor efecto inhibitorio y también que a una concentración del 25% tiene un efecto inhibitorio mayor que la clorhexidina.

Botelho M, et al.<sup>2</sup> (Brasil, 2017). “Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lippia sidoides*, carvacrol y timol contra los patógenos orales.” El objetivo de esta investigación fue evaluar la composición y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. sidoides*. Para lo cual se obtuvo el aceite esencial mediante hidrodestilación y se analizó por GC-MS. Se caracterizaron doce compuestos, que tenían como componentes principales timol (56,7%) y carvacrol (16,7%). La actividad antimicrobiana del aceite y los componentes principales se probó contra especies bacterianas cariogénicas del género *Streptococcus*, así como *Candida albicans*, utilizando los ensayos de dilución de caldo y difusión de disco. Se obtuvo como resultados que el aceite esencial y sus componentes principales, el timol y el carvacrol, mostraron una potente actividad antimicrobiana contra los organismos probados con concentraciones inhibitorias mínimas que varían de 0.625 a 10.0 mg / mL. Los microorganismos más sensibles fueron *C. albicans* y *Streptococcus mutans*. El aceite esencial de *L. sidoides* y sus componentes principales ejercen efectos antimicrobianos prometedores contra los patógenos orales y sugieren su probable utilidad para combatir el crecimiento microbiano oral.

Tofiño R, et al.<sup>4</sup> (Colombia, 2016). “Efecto de los aceites esenciales de *Lippia alba* y *Cymbopogon citratus* sobre las biopelículas de *Streptococcus mutans* y la citotoxicidad en las células CHO”. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de erradicación de las biopelículas de *Streptococcus mutans* y la toxicidad en las células eucariotas de los aceites esenciales de *Lippia alba* y *Cymbopogon citratus*. Para lo cual se emplearon aceites extraídos a partir del material vegetal mediante destilación al vapor y luego se determinó su composición química. Se empleó el ensayo MBEC de alto rendimiento (MBEC-HTP) (Innovotech, Edmonton, Alberta, Canadá) para determinar la concentración de erradicación de las biopelículas de la cepa ATCC 35668 de *S. mutans*. La citotoxicidad se evaluó en células CHO a través del ensayo de proliferación celular MTT. Se obtuvo como resultados que Los componentes principales en ambos aceites fueron Geraniol y Citral. Los aceites esenciales *L. alba* presentaron actividad de erradicación contra las biopelículas de *S. mutans* del 95.8% en concentración de 0.01mg / dL y los aceites esenciales de *C. citratus* mostraron dicha actividad de erradicación del 95.4% a concentraciones de 0.1, 0.01mg / dL y del 93.1% en el Concentración de 0.001mg / dL; ninguna de las concentraciones de ambos aceites esenciales mostró toxicidad en las células CHO durante 24 h. Se concluyó que los aceites esenciales *L. alba* y *C. citratus* mostraron actividad de erradicación contra las biopelículas de *S. mutans* y la

citotoxicidad nula, evidenciando la necesidad de realizar más estudios que puedan identificar sus componentes activos y para guiar un uso seguro en el tratamiento y prevención de la caries dental.

Almeida I, et al.<sup>5</sup> (Estados Unidos, 2015). “El efecto de los aceites esenciales y las fracciones bioactivas sobre *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*, un análisis confocal”. Realizaron este estudio con el objetivo de determinar que el aceite de *Lippia sidoides* y otras especies tienen una fuerte actividad antimicrobiana sobre las biopelículas formadas por *Streptococcus mutans* y *C. albicans*. El aceite esencial se obtuvo de las hojas de *Lippia sidoides* por la técnica de hidrodestilación, en la que emplearon diclorometano en la fase acuosa, y se secó con sulfato de anhídrido de sodio para eliminar impurezas de agua, luego se filtró y se evaporó el disolvente para así tener aceite esencialmente puro y se almacenó este producto en un frasco ámbar para su conservación. Después se prepararon las cepas de *S. mutans* y *C. albicans* para la preparación de las biopelículas sobre un portaobjetos sumergido en 12 placas Petri con cultivo y se les colocó aceite esencial de *Lippia sidoides* y de otras especies de plantas naturales para posteriormente ver su actividad antimicrobiana sobre la biopelícula. Los resultados demostraron que existió una reducción significativa en el bio volumen de los polisacáridos y las bacterias

extracelulares para el aceite *L. sidoides*, lo que indica que esta especie altera la integridad de la biopelícula y pueden haber creado cierta porosidad provocando una estructura debilitada que afecta la dinámica de la biopelícula.

Freires I, et al.<sup>6</sup> (Brasil, 2015). “Actividad antibacteriana de aceites esenciales y sus constituyentes aislados contra bacterias cariogénicas: una revisión sistemática”. El objetivo de esta revisión sistemática fue discutir la actividad antibacteriana de las OE y sus componentes aislados en vista de una aplicabilidad potencial en nuevas formulaciones dentales. Para lo cual se realizaron búsquedas sistemáticas en siete bases de datos para ensayos clínicos, estudios *in situ*, *in vivo* e *in vitro* que aborden el tema publicado hasta la fecha. Se obtuvo como resultados que la mayor parte del conocimiento en la literatura se basa en estudios *in vitro* que evalúan los efectos de las EO en estreptococos relacionados con caries (principalmente *Streptococcus mutans*) y lactobacilos, y en un número limitado de ensayos clínicos. Las especies más prometedoras con potencial antibacteriano contra las bacterias cariogénicas son: *Achillea ligustica*, *Baccharis dracunculifolia*, *Croton cajucara*, *Cryptomeria japonica*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Lippia sidoides*, *Ocimum americanum* y *Rosmarinus officinalis*. En algunos



casos, los principales compuestos fitoquímicos determinan las propiedades biológicas de las OE. El mentol y el eugenol se consideraron compuestos sobresalientes que demuestran un potencial antibacteriano. Se concluyó que solo el enjuague de *Lippia sidoides* al 1% ha mostrado efectos antimicrobianos contra los patógenos orales.

Lobo P, et al.<sup>7</sup> (Brasil, 2014). “La eficacia de tres formulaciones de *Lippia sidoides* Cham aceite esencial en la reducción de *Streptococcus mutans* salival en niños con caries: un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado”. El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficacia de tres formulaciones de *Lippia sidoides* Cham. aceite esencial (LSO) en la reducción de *Streptococcus mutans* salivales en niños con caries. Para lo cual se empleó una población de 81 voluntarios, de entre 6 y 12 años, ambos sexos, con caries, asignados aleatoriamente a uno de los cinco grupos diferentes. Para lo cual cada grupo recibió tratamiento tópico con pasta dental LSO al 1,4%, gel LSO al 1,4%, enjuague bucal LSO al 0,8%, gel de clorhexidina al 1% o enjuague bucal con clorhexidina al 0,12%. Se colocó un volumen de 5 ml de cada gel dentro de bandejas desechables, y se aplicó durante 1 minuto, cada 24 h, durante 5 días consecutivos. Los grupos de enjuague bucal utilizaron un volumen de 5 ml de enjuague bucal dentro de jeringas desechables. En el grupo de pasta de dientes, los niños se cepillaron

los dientes durante 1 minuto, una vez al día durante 5 días. Se recogió saliva antes y después del tratamiento. Las colonias de EM se contaron, aislaron y confirmaron mediante pruebas bioquímicas. Se obtuvo como resultados que la clorhexidina redujo significativamente los niveles de EM después de 5 días de tratamiento, la pasta de dientes LSO redujo los niveles de MS después de 5 días de tratamiento, y los niveles de MS permanecieron bajos y no volvieron a la línea de base durante el análisis posterior. Se concluyó, la pasta de dientes LSO demostró la reducción de MS en la saliva más duradera, mientras que otras formulaciones de LSO no redujeron efectivamente los niveles de MS en niños con caries dental.

Sette P, et al.<sup>8</sup> (Brasil, 2014) “Actividad antibacteriana y cribado fitoquímico de extractos de *Lippia alba* (Mill). NE marrón”. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano de *Lippia alba* frente a *Streptococcus mutans*. El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en una muestra de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus aureus* y *Lactobacillus casei*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos de infusión y decocción de las hojas de pampa orégano. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Se siguió la lógica del porcentaje de inhibición (PI), un  $PI > 90\%$  se consideró como muy fuerte

(+++); 90% > PI > 1% se consideró fuerte (+), PI <1% de inhibición muy bajo (---). Los resultados indicaron que para *S. mutans* se obtuvo un efecto antibacteriano muy fuerte (+++) tanto para infusión como decocción y el grupo control con clorhexidina obtuvo sólo un efecto fuerte (+). En conclusión, los extractos de las hojas de *Lippia alba* en infusión y decocción presentaron mayor efecto antibacteriano de clorhexidina al 0.12% frente a *S. mutans* ATCC 25175.

Carvalho L, et al.<sup>3</sup> (Brasil, 2012) “Actividad antimicrobiana de aceites esenciales contra *Streptococcus mutans* y sus efectos antiproliferativos”, en su estudio tuvieron como objetivo evaluar la actividad anti proliferativa de los aceites esenciales de distintas plantas naturales entre ellas *Lippia alba* y *Lippia sidoides*. El aceite se obtuvo mediante la técnica de hidrodestilación. La bacteria que se cultivó fue *Streptococcus mutans* en condiciones de anaerobiosis a 37°C por 48 horas, que fueron estandarizados según el inóculo bacteriano  $1 \times 10^6$  UFC/mL e hicieron el ensayo antimicrobiano se realizó con 96 placas Petri con medio de cultivo BHI y discos empapados con aceite esencial de las especies de *Lippia*, además usaron como control negativo usaron propilenglicol 6,25% y como control positivo clorhexidina al 0,12%. Los resultados demostraron que el aceite de *Lippia alba* al 100% tuvo un halo de inhibición de 12.5 mm a diferencia de *Lippia Sidoides* que

tuvo con halo de inhibición mayor de 62.5 mm. Se concluyó que las diferencias en los efectos antiproliferativos de las especies se debe al medio en que se encuentran cultivadas, y la composición química de su principio activo.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1. Caries dental**

La caries dental es un importante problema de salud pública que afecta a muchos países del mundo. Se caracteriza por la desmineralización de los tejidos duros de los dientes y la pérdida de dientes.<sup>9</sup>

Esta patología y otras enfermedades periodontales están asociadas con bacterias acidogénicas y acidúricas que se adhieren a la superficie del diente como una biopelícula (placa dental) estructurada y funcionalmente organizada. El procedimiento más eficaz para la prevención de la caries es la eliminación de biofilms mediante cepillado y exfoliación.<sup>9</sup> Sin embargo, la mayoría de las personas no logran mantener un nivel de control suficiente a través de la extracción mecánica solamente. Por lo tanto, el uso de productos químicos como medida complementaria también es necesario y se ha demostrado que es de gran valor con respecto a la disminución de la biología de la superficie del diente.<sup>9</sup>

#### **2.2.1.1. Definición**

La caries dental, es una enfermedad crónica, de alta prevalencia e incidencia, se considera un proceso infeccioso y contagioso, de etiología multifactorial, el cual es caracterizado por la destrucción del esmalte de las piezas dentarias.<sup>10</sup>

Es una patología que puede progresar lentamente o agresivamente con el tiempo, y se ve reflejado como una opacidad en el esmalte dental, pudiendo evolucionar a grandes cavidades que comprometen la dentina y pulpa dentaria, hasta la destrucción total del diente.<sup>10</sup>

#### **2.2.1.2. Prevalencia**

A pesar de los avances en políticas públicas hasta el momento, la caries dental sigue siendo la enfermedad infecciosa oral más prevalente y costosa en todo el mundo, lo que representa un problema de salud pública mundial que deben ser manejados por las autoridades y los profesionales dentales.<sup>11</sup>

La caries dental afecta directamente a todos los grupos de edad en todo el mundo, especialmente en los países en desarrollo. Como enfermedad oral multifactorial, los factores intrínsecos (susceptibilidad del huésped: edad, inmunidad y comportamiento) y extrínsecos (tiempo, dieta y microbiota) influyen significativamente en el desarrollo de la caries.<sup>11</sup>

La prevalencia de la caries dental, es un indicador de la salud bucal de los pacientes, ya que ésta afecta a una gran parte de nuestra comunidad, pudiendo generar el desarrollo de otras enfermedades como las enfermedades periodontales, maloclusiones, alteraciones pulpares, entre otros. Un elevado porcentaje del 81.85% de individuos jóvenes presentan caries dental, al menos en una pieza dentaria.<sup>11</sup>

### **2.2.1.3. Etiología**

La caries es una patología de causa multifactorial que introduce una relación entre la saliva, los dientes y la micro flora oral como aspectos internos relacionados al huésped, y la dieta como factor externo. La enfermedad es una forma singular de infección en la cual se acumulan cepas específicas de bacterias sobre la superficie del esmalte, donde elaboran productos ácidos y proteolíticos que desmineralizan la superficie y digieren su matriz orgánica. Una vez que ha tenido lugar la penetración del esmalte, el proceso patológico evoluciona a través de la dentina hacia la pulpa. Si el proceso no se detiene, el diente resulta totalmente destruido. La evolución dentro del diente puede ser interrumpida eliminando mecánicamente el tejido dentario infectado y sustituyéndolo por un material sintético adecuado que restaure la forma y la función normales del diente.<sup>12</sup>

### **2.2.1.4. Factores**

**Huésped:** cuando hay una predisposición por parte del huésped debido a factores hereditarios, edad, factores endocrinos, anomalías estructurales dentales, surcos y fisuras de las piezas dentarias, y cantidad, calidad de la saliva.<sup>13</sup>

**Microflora:** dentro de ellas están las bacterias protectoras y otras patógenas. La caries dental se desarrolla en el esmalte, en las que la

microbiota encuentra un ambiente apropiado para su proliferación. Las principales bacterias responsables de este proceso son el *S. mutans*, el cual se encuentra asociado al desarrollo inicial de la caries, y el *Lactobacillus acidophilus*, el cual es responsable de metabolizar los azúcares de la cavidad bucal y producir ácidos desmineralizantes.<sup>14</sup>

**La dieta:** se refiere a los alimentos con alto contenido en azúcares, los cuales aceleran la actividad bacteriana.<sup>15</sup>

**El tiempo:** A mayor tiempo de exposición de la pieza dentaria a los ácidos producidos por las bacterias, existe un mayor riesgo de caries.<sup>16</sup>

#### **2.2.1.5. Microorganismos relacionados con la caries**

La boca es un ecosistema donde residen aproximadamente entre 500 a 700 especies de microorganismos comensales, los cuales colonizan las superficies dentarias conformando la placa bacteriana, además, colonizan la mucosa de la cavidad bucal, dentro de las cuales se encuentra el género *Streptococcus*.<sup>17</sup>

Los *Streptococcus mutans* y los lactobacilos son bacterias orales predominantemente aisladas de caries inicial y avanzada, respectivamente.<sup>15</sup> Hay varios factores predisponentes que conducen a una gran acumulación de microflora oral, así como a las bacterias cariogénicas



y las que causan la caries dental. Estos factores incluyen un alto consumo de azúcar y la dieta glutinosa (bocadillos) de los niños, una higiene bucal deficiente debido al deterioro del potencial físico y la xerostomía de los ancianos y pacientes de cáncer sometidos a quimioterapia o radioterapia. Los productos ácidos derivados de los carbohidratos fermentables mediante el proceso de catabolismo de la microflora oral, especialmente las bacterias cariogénicas, aumentan la desmineralización de los dientes, lo que lleva al desarrollo de caries dental.<sup>15</sup> Por lo tanto, una de las estrategias efectivas en la promoción de la salud oral es controlar la acumulación de microbios (biofilm / placa) en las superficies duras y blandas de la boca mediante limpieza natural (masticación, etc.), limpieza mecánica (cepillado y uso de hilo dental) y placa química. Procedimientos de control (selladores de fisuras, suplementos de fluoruro, sustitución de azúcar y suplementos antimicrobianos).<sup>15</sup>

Sin embargo, se han informado varios efectos adversos que incluyen tinción en los dientes, sabor desagradable e inducción de una cepa resistente a los antimicrobianos después de la aplicación prolongada de algunos agentes antimicrobianos.<sup>15</sup>

### **2.2.2 *Streptococcus mutans***

El género *S. mutans*, es un coco Gram positivo, no es móvil, es un productor de ácidos y cambian el pH salival de 7 a 4.2 en 24 horas, también, es considerado como un fermentador de glucosa, lactosa, entre otros. Esta bacteria se ha sub clasificado en diferentes tipos según sus propiedades inmunológicas, biológica y genéticas. Los *S. mutans*, presentan serotipos c, e, f y k; residen en la cavidad bucal humana, y se adhieren sobre la superficie dental sana y lesiones cariosas.<sup>14</sup>

#### **2.2.2.1. Clasificación**

Según su composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular se clasifican en 8 serotipos:

*S. mutans*: c (Predominante), e, f y k.

*S. sobrinus*: d y g.

*S. cricetus*: a.

*S. rattus*: b.

*S. ferus*: c.

*S. macacae*: c.

*S. downei*: h.<sup>14</sup>

Según su virulencia, sobreviven en la sangre durante mayor tiempo, gracias a su baja antigenicidad.<sup>14</sup>

### **2.2.2.2 Adhesión de *Streptococcus mutans* y desarrollo de la caries dental**

Algunos expertos indican que, dichas bacterias pueden adherirse en la cavidad bucal de los niños y producirse la lesión cariosa al erupcionar la primera pieza dental alrededor de los 6 meses de edad del infante. Sin embargo, la adhesión y colonización de *S. mutans* puede aparecer antes de la erupción de las piezas dentarias, ya que *S. mutans* y *sobrinus*, tienen la capacidad de adherirse en la superficie de la mucosa oral, por lo cual, hay un aumento de riesgo caries, haciendo que aparezca en edades tempranas.<sup>15</sup>

### **2.2.3. ATCC**

Organización norteamericana no gubernamental sin fines de lucro que se ocupa de la preservación de las muestras de cultivos celulares y microbiológicos y de la distribución de los cultivos a los centros y laboratorios de investigación en las comunidades académica, científica y médica.<sup>16</sup>

#### **2.2.4 Aceites Esenciales**

Las hierbas culinarias, especialmente las que tienen propiedades medicinales (antiinflamatorias, antimicrobianas) se han convertido en opciones de interés, aunque su seguridad, biodisponibilidad e interacciones farmacocinéticas aún no se han investigado exhaustivamente. Los aceites esenciales (OE) han despertado la atención entre los agentes bioactivos naturales con una actividad antimicrobiana prometedora.<sup>17</sup> Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles producidos por plantas aromáticas como metabolitos secundarios, como un mecanismo de protección contra depredadores, microorganismos o adversidades climáticas.<sup>17</sup> Entre los 100,000 metabolitos secundarios conocidos, los aceites esenciales representan más de 3000, de los cuales aproximadamente 300 tienen interés comercial y son utilizados por las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica.<sup>13</sup> Las diversas estructuras químicas de los aceites esenciales abarcan dos grupos con distintos orígenes biosintéticos: terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) y terpenoides (isoprenoides), y otro grupo de compuestos alifáticos y aromáticos (por ejemplo, aldehídos, fenoles, entre otros), todos caracterizados por bajo peso molecular.<sup>13</sup> Los monoterpenos son los compuestos principales encontrados en los aceites esenciales y se ha encontrado que muestran una potente actividad antibacteriana contra los microorganismos relacionados con la caries.<sup>17</sup>

### **2.2.5 *Lippia alba* (Pampa orégano)**

Pampa orégano es conocida por su nombre científico como *Lippia alba*, pertenece a la familia de las *Verbenaceae*, presentan 70 géneros y 2000 especies, crece en regiones tropicales de América Central, del Sur y África tropical, puede llegar a obtener hasta 12 metros de altura, sus flores son de color púrpura o blancas, presenta un aroma dulce, las hojas son de color verde oscuro.<sup>18</sup>

Esta planta, es conocida como una planta aromática, cultivada en los jardines de muchas personas, es una planta con propiedades medicinales, además, es muy utilizada por los criadores de abejas por su alto contenido de néctar.<sup>18,19</sup>

#### **2.2.5.1 Composición**

La composición química de los aceites esenciales de pampa orégano, es muy variable, sin embargo, son tres los componentes que están presentes y son responsables de la actividad farmacológica, todo ello en función a su concentración, citral–mirceno, citral–limoneno y carvona–limoneno. Los estudios indican que, la composición puede variar con relación al lugar, por lo cual, algunos expertos aislaron citral, geraniol, trans-β–cariofileno, carvona, limoneno y biciclosesquifelandreno.<sup>19,20</sup>

### 2.2.5.2 Extracción del aceite esencial

La extracción del aceite esencial, se realiza por el método de “hidrodestilación”.<sup>20</sup> La cual consiste en el siguiente procedimiento:

Se seleccionan las hojas que estén en buenas condiciones y se desechan aquellas que tengan ataques de hongos y estén decoloradas o maltratadas.<sup>20,21</sup>

Luego las hojas de *Lippia alba* se lavan con agua de caño y en seguida se desinfectan con hipoclorito de sodio al 0.5%. Posteriormente se realiza un enjuague de la planta con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.<sup>22</sup>

Luego se arma el equipo de destilación, sometiendo las muestras a una corriente de vapor de agua sobrecalentada, arrastrando la esencia que posteriormente por acción del refrigerante, será condensada. El destilado se separa tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, para lo cual se utiliza una pera de separación de vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Finalmente se filtrará, y se guardan los aceites en frascos de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura entre 4°C a 8°C, hasta su utilización.<sup>23,24</sup>

### **2.2.5.3 Propiedades medicinales**

Es utilizada para los trastornos gastrointestinales, antiespasmódicos, cólicos hepáticos, expectorante, para el control de la fiebre y sudoración, además, posee propiedades antisépticas y astringente.<sup>25</sup>

### **2.2.5.4 Propiedad antibacteriana**

Diversos estudios, han demostrado que *Lippia alba*, presenta actividad antibacteriana frente a diversos estudios, como los extractos acuosos, etanólicos, extractos clorofórmicos, aceites esenciales, frente a *H. pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *S. aureus*, *E. coli*, entre otros.<sup>26,27</sup>

Los productos naturales, como compuestos puros o extractos estandarizados de plantas, brindan oportunidades como nuevos medicamentos debido a su diversidad química (Cos,2006). Investigaciones anteriores han evidenciado la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Lippia alba* (L. alba) y *Cymbopogon citratus* (C. citratus) en *S. mutans*. Los aceites esenciales de *C. citratus* tienen actividad antimicrobiana y erradicación de las biopelículas sobre *S. mutans* y *Candida spp.*<sup>28</sup>

### **III. Hipótesis**

El colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) al 30% presenta efecto antibacteriano frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.



## **IV. Metodología**

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

Experimental, porque el investigador asignó un factor de estudio y lo controló para fines de la investigación.<sup>29</sup>

Transversal, porque la investigación se centró en analizar el nivel de las variables en un momento dado de tiempo.<sup>29</sup>

Prospectivo, porque se registró la información según ocurrieron los fenómenos.<sup>29</sup>

Analítico, porque el estudio se centró en una relación causa-efecto.<sup>29</sup>

### **4.2. Población y muestra**

#### **Población**

Estuvo conformada por la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 251752.

Unidad muestral:

- Placas petri.

#### **Criterios de selección**

#### **Criterios de inclusión:**

- Placas petri con colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 251752

**Criterios de exclusión:**

- Placas Petri contaminadas

**Muestra:**

El tamaño de muestra para el presente estudio es:

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

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\beta = 0.20$

$S = 0.8$  ( $X_1 - X_2$ ) es un valor asumido por no haber estudios previos

Luego Reemplazando obtenemos:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2(0.8)^2}{(0.8)^2}$$

$n = 10$  placas

Es decir, se necesitaron aproximadamente 10 placas petri para cada grupo de tratamiento, en un total de 50 placas.

#### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	<b>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICIÓN OPERACIONAL</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>VALOR</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>
<b>Efecto antibacteriano sobre <i>S. mutans</i> ATCC 25175</b>	Conjunto de compuestos que tienen la capacidad de eliminar o reducir la proliferación de microorganismos. <sup>30</sup>	Medición del efecto antibacteriano por medio del método de Kirby Bauer.	Diámetro del halo de inhibición	mm	Cuantitativa	Razón
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICIÓN OPERACIONAL</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>VALOR</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>
<b>Colutorio a base de <i>Lippia alba</i></b>	Es una forma farmacéutica tipo solución acuosa viscosa usada para el tratamiento tópico de afecciones bucales. <sup>31</sup>	Preparado de colutorio de las hojas de <i>Lippia alba</i> en diferentes concentraciones.	Concentración del colutorio	10% 20% 30%	Cualitativa	Ordinal

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

**Técnica:** observación microbiológica.

**Instrumento:** El instrumento de medición para este estudio fue un vernier: el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Numero de Modelo 500-157-30.

Los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio.

#### **Procedimientos:**

##### **Recolección e identificación taxonómica**

La especie de *Lippia alba* “pampa orégano” se recolectó del jardín botánico de la Universidad Nacional de Trujillo, del distrito de Trujillo, provincia de Trujillo, región La Libertad. Luego la especie se identificada en el *Herbarium Truxillense*. (Anexo 1)

##### **Extracción del aceite esencial**

La extracción del aceite esencial, se realizó por el método de arrastre de vapor de agua “hidrodestilación”.<sup>22,23</sup>

Se seleccionó las hojas que estaban en buenas condiciones y se desecharon aquellas que tuvieron ataques de hongos y decoloradas o maltratadas.

Luego las hojas de *Lippia alba* se lavaron con agua destilada y en seguida se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%. Posteriormente se realizó un enjuague de la planta con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.

Luego se armó el equipo de hidrodestilación, sometiendo las muestras a una corriente de vapor de agua sobrecalentada, arrastrando la esencia que posteriormente por acción del refrigerante, se condensó. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, para lo cual se utilizó una pera de separación de vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sulfato de sodio anhidro). Finalmente se filtró, y se guardó los aceites en frascos de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura entre 4°C a 8°C, hasta la realización del análisis microbiológico.

### **Preparación de las diferentes concentraciones de los aceites esenciales**

Se prepararon las concentraciones según la siguiente tabla:

<b>Volumen de aceite</b>	<b>Volumen de Tween</b>	<b>Volumen final</b>	<b>Concentración (%)</b>
1,0 mL	9,0 mL	10 ml	10
2,0 mL	8,0 mL	10 mL	20
3,0 mL	7,0 mL	10 mL	30

Luego, se colocaron cada una de las concentraciones en frascos de vidrio de color ámbar estéril, para protegerlas de la luz, llevándolas posteriormente a refrigeración a 4°C, hasta la realización del análisis microbiológico.

### **Reactivación de la cepa de *S. mutans* ATCC 25175**

Para este estudio se utilizó un cultivo liofilizado de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 25 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI), luego se incubó a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubará a 37°C por 24 – 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Streptococcus* para realizar coloración Gram.

A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior utilización.<sup>24</sup>

### **Preparación de colutorios compuesto de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Se prepararon colutorios empleando aceite esencial de pampa orégano, para lo cual se realizaron tres formulaciones a concentraciones de 10, 20 y 30 %.

## **Evaluación del efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer**

La evaluación del efecto antibacteriano del colutorio preparado en base al aceite esencial de pampa orégano sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se realizará mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar.

Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

### **Estandarización del inóculo de *S. mutans* ATCC 25175**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37° C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se diluyó en caldo BHI hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland ( $1.5 \times 10^8$  ufc/mL)

### **Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la

placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

**Preparación de los discos con las diferentes concentraciones de colutorios a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano).**

Se prepararon discos de papel filtro Whatman número 3 estériles, los cuales fueron embebidos con 30 uL de cada una de las concentraciones de 10, 20 y 30% respectivamente.

Luego, con una pinza estéril, los discos fueron colocados sobre las placas de Petri con Müller Hinton sembradas con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se empleará como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo solución salina fisiológica.

**Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida durante, a 37°C durante 24 y 48 horas en micro anaerobiosis utilizando jarra Gaspak y con el método de la vela.

**Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación 24 a 48 horas se examinó cada placa y se midió los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento



alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó Vernier digital, abarcando el diámetro del halo.

Se realizaron 10 repeticiones de cada concentración.

Se empleó como control positivo Gluconato de Clorhexidina al 0,12 % y como control Solución Salina Fisiológica estéril.

#### **4.5. Plan de análisis**

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencia de una entrada con sus valores absolutos, promedios, desviación estándar y gráficos.

Los resultados se procesaron en cuadros mediante el análisis de varianza (ANOVA), luego una prueba de comparaciones múltiples utilizando la prueba de Duncan, ambas pruebas con un nivel de significancia del 5%.

#### 4.6. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	POBLACIÓN
¿Cuál es el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencia de <i>Lippia alba</i> (pampa orégano) a las concentraciones de 10,20 y 30% frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b>            Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencia de <i>Lippia alba</i> (pampa orégano) a las concentraciones de 10,20 y 30% frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p><b>OBJETIVO ESPECÍFICOS</b>            Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencia de <i>Lippia alba</i> (pampa orégano) a las concentraciones de 10 % frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencia de <i>Lippia alba</i> (pampa orégano) a las concentraciones de 20 % frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencia de <i>Lippia alba</i> (pampa orégano) a las concentraciones de 30 % frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p>	El colutorio a base de aceite esencial de <i>Lippia alba</i> (Pampa orégano) al 30% presenta mayor efecto antibacteriano frente a la cepa de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.	<p>Efecto antibacteriano</p> <p>Colutorio a base de aceite de <i>Lippia alba</i></p>	<p>Tipo de la investigación: Cuantitativo</p> <p>Nivel de la investigación: Explicativo</p> <p>Diseño: Experimental, transversal y prospectivo.</p>	<p>La población estuvo conformada por cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>La muestra estuvo conformada por 50 placas petri.</p>

#### **4.7. Principios éticos**

Esta investigación se basó en el Código de Ética de la Universidad ULADECH, respetando los principios éticos de biodiversidad, autonomía, beneficencia no maleficencia, justicia, y cuidado del medio ambiente, para lo cual se respetó el cuidado de las plantas utilizadas, por encima de los fines científicos, para ello se tomaron medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios. Además, al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121° C y 1 Bar de presión para ser inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.<sup>30</sup>

## V. Resultados

### 5.1. Resultados

**Tabla 1.** Resumen estadístico del efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo - 2019

Grupo de tratamiento	N	Promedio	Desviación estándar	P
<i>Lippia alba</i> 10%	10	6.6	0.70	
<i>Lippia alba</i> 20%	10	12.3	0.48	
<i>Lippia alba</i> 30%	10	16.6	0.52	0.001
Clorhexidina 0.12%	10	22.6	3.03	
Solución salina	10	0	0	

**Fuente:** Datos propios obtenidos de la medición\*\*

**Prueba:** Anova

**Interpretación:** se observa que el halo promedio más grande se obtuvo con Clorhexidina 0.12% (22.6mm), luego le sigue el obtenido con *Lippia alba* al 30% y 20% (16.6 mm y 12.3 mm).

Se observa que existen diferencias muy altamente significativas entre los efectos antibacterianos de los tratamientos ( $p < 0.001$ ).

**Tabla 2.** Comparación del efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano) frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trujillo 2019

Grupos de Tratamiento.	N	Sub conjunto para $\alpha = 0.05$				
		1	2	3	4	5
Solución salina	10	0				
<i>Lippia alba</i> 10%	10		6.6			
<i>Lippia alba</i> 10%	10			12.3		
<i>Lippia alba</i> 10%	10				16.6	
Clorhexidina 0.12%	10					22.6

**Fuente:** Datos propios obtenidos de la medición

**Prueba:** de Duncan

**Interpretación:** Se observa que los efectos antibacterianos son distintos con cada tratamiento probado; aquí se observa que el mejor efecto antibacteriano se obtuvo con Clorhexidina 0.12%, seguido de las concentraciones de *Lippia alba* al 30%, 20% y 10%. Obviamente el control negativo no tuvo crecimiento de halo.

## 5.2. Análisis de resultados

Al comparar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) a las concentraciones de 10%, 20% y 30% frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, este estudio demostró que el grupo control positivo con clorhexidina al 0.12% presentó mayor efecto antibacteriano que las demás concentraciones de los grupos experimentales. Este resultado se pudo dar debido a que la clorhexidina es considerada como un potente antibacteriano ya que su mecanismo de acción ha demostrado que su absorción ocurre por difusión pasiva a través de las membranas celulares bacterianas. Asimismo, a bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana y una inhibición de enzimas del espacio periplásmico, y a concentraciones elevadas origina la precipitación de proteínas y ácidos nucleicos.<sup>32</sup> Sin embargo, este colutorio además de inhibir el crecimiento de *S. mutans*, presenta efectos adversos en la cavidad bucal, como la tinción de piezas dentarias, restauraciones e interfiere en la capacidad de la lengua en degustar los alimentos.<sup>33</sup> Estos resultados difieren del estudio de Coronel J.<sup>1</sup>, quien demostró que las concentraciones del aceite esencial de *Lippia alba* al 25%, al 50%, 75% y 100% presentaron mayor efecto que la clorhexidina al 0.12% sobre *S. mutans*. Asimismo, el estudio de Sette P, et al.<sup>8</sup>, demostraron que los extractos de infusión y decocción de las hojas de *Lippia alba* presentaron mayor efecto antibacteriano que la clorhexidina al

0.12% frente a *S. mutans*. Estos resultados se pudieron dar debido a que los aceites esenciales de *L. alba* contienen gran efecto antibacteriano gracias a sus componentes como el timol, carvacrol como lo indica Botelho M, et al.<sup>2</sup> en su estudio ya que demostraron que dichos componentes del aceite esencial de las hojas de pampa orégano presentaron efectos antibacterianos frente a *S. mutans*. Asimismo, estos aceites esenciales también contienen geraniol y citral los cuales son corroborados por el estudio de Tofiño R, et al.<sup>4</sup>, los cuales demostraron que estos componentes del aceite esencial de *L. alba* tienen gran actividad antibacteriana en la erradicación de la biopelícula de *S. mutans* en un 95.8% en una concentración del 0.01 mg/dL.

Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) a las concentraciones de 10%, frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se demostró que esta concentración no presentó efecto antibacteriano ya que según la escala de Duraffourd, existe efecto antibacteriano a partir de un halo de inhibición mayor a 8 mm,<sup>34</sup> y este estudio en una concentración al 10% obtuvo un halo inhibitorio de 6.6 mm. Estos resultados se pudieron dar debido a que dicha concentración no presentó suficientes componentes activos para actuar frente a *S. mutans*. Por otro lado, el estudio de Freires I, et al.<sup>6</sup>, en una revisión sistemática de diversos estudios in vitro sobre esta especie de planta, llegó a la conclusión de que el colutorio de pampa orégano al 1% mostró efectos antibacterianos sobre *S. mutans*, estos resultados se pudieron

dar debido a que se debe tener presente que los principios activos dependen de factores genéticos, agronómicos y ambientales de las plantas,<sup>35</sup> ya que la especie *L. alba* se caracteriza por la variabilidad en la composición química de sus aceites esenciales, los cuales varían, como se ha presentado aquí, según la parte de la planta empleada en la destilación, el estado de desarrollo, la ubicación geográfica, la características del suelo, clima y otras condiciones locales.<sup>25</sup>

Evaluar el efecto antibacteriano del colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) a las concentraciones de 20% y 30%, frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se demostró que según la escala de Duraffourd, ambas concentraciones se mostraron sensibles y muy sensibles ya que obtuvieron halos de inhibición de 12.3 mm y 16.6 mm consecutivamente. Estos resultados se pudieron dar debido a que existen estudios que han demostrado que pampa orégano presenta actividad antibacteriana frente a *S. mutans*, tal como lo describe Almeida I, et al.<sup>5</sup> en su estudio, indicando que el aceite esencial de pampa orégano altera la integridad de la biopelícula debilitando la dinámica de *S. mutans*, el cual pudo darse debido a que el aceite esencial de esta planta, presenta principios activos como timol y carvacrol, antes mencionados, los cuales dañan la membrana exterior de las bacterias e incrementan la permeabilidad de la membrana citoplasmática que causa pérdidas de ATP, fuga de iones y lisis celular.<sup>35</sup> Asimismo, el estudio de Lobo P, et al.<sup>7</sup>, y Carvalho, et al.<sup>3</sup>,



demonstraron en sus estudios que el aceite esencial de Pampa orégano presentó efecto antibacteriano frente a *S. mutans* gracias a un componente antes mencionado como el timol el cual es un isómero óptico del carvacrol y ambas sustancias parecen hacer que la membrana bacteriana sea más permeable.<sup>3</sup> Estos resultados también se pudieron dar debido a que el efecto puede estar relacionada a la presencia de citral, el cual es un monoterpeno por la combinación de dos isómeros nerales y geraniales, los cuales tienen una fuerte actividad antibacteriana en bacterias Gram positivas, además, la carvona que también es un monoterpeno, se encuentra como principal componente activo de varios aceites esenciales como *Lippia alba* y es uno de los agentes antimicrobianos más eficaces, y presenta un mecanismo de actividad antibacteriana que implica la desestabilización de la estructura de los fosfolípidos y la interacción con las proteínas de la membrana, y actúa como un intercambiador de protones reduciendo el gradiente de pH a través de la membrana.<sup>24</sup>

Por otro lado, los aceites esenciales de *Lippia alba* tienen la capacidad de inhibir significativamente un sistema quorum sensing basado en la reducción de la producción de violaceína, mecanismo por el cual la propia bacteria produce autoinductores que regulan la expresión genética colectiva, de esta forma las nuevas generaciones de bacterias obtendrían alteraciones perjudiciales a nivel de genoma, lo que dificultaría la absorción de nutrientes causando la muerte celular, además los alcaloides presentes

actuarían a nivel de la capa de peptidoglicano desnaturalizándola y permitiendo la salida del contenido interno, lo que desencadena con el transcurso de las horas una incapacidad para replicarse hasta llegar a la muerte celular.<sup>25</sup>

## VI. Conclusiones

- El colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) al 30%, presentó mayor efecto inhibitorio del crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC25175TM a comparación de las concentraciones de 10% y 20%.
- El control negativo Clorhexidina al 0.12%, presentó mayor efecto antibacteriano comparado con el colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* a diferentes concentraciones 10%, 20% y 30%.
- Según la escala de Duraffourd, el colutorio a base de aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) al 30%, presentó actividad antibacteriana muy sensible (++) frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175TM.

### **Aspectos complementarios**

- Se recomienda ampliar los estudios sobre el uso terapéutico del aceite esencial de *Lippia alba*, sobre todo el componente principal en donde podría radicar el efecto presentado, así como métodos de extracción y evaluaciones en demás bacterias de interés Clínico Odontológico.

## Referencias bibliográficas

1. Coronel J, Actividad inhibitoria del crecimiento de la cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM por acción de aceite esencial de *Lippia alba* (Pampa orégano). [internet]. Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018.
2. Botelho MA, Nogueira NAP, Bastos GM, Fonseca SGC, Lemos TLG, Matos FJA et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Braz J Med Biol Res* (internet). 2017 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 40(3): 349-356. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17334532>
3. Carvalho L, Fernandes V, Fernandes S, Guilherme M, Tasca A, Carvlho J, Sartoratto A. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects. *Evid Based Complement Alternat Med* (internet). 2012 (consultado el 1 de noviembre del 2019); 2012: 751435. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3368214/>
4. Tofiño-Rivera, Ortega-Cuadros, Galvis-Pareja D, Jiménez-Rios H, Merini LJ, Martínez-Pabón MC. Effect of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* essential oils on biofilms of *Streptococcus mutans* and cytotoxicity in CHO cells. *J Ethnopharmacol* (internet). 2016(consultado el 2 de noviembre del 2019); 194: 749-754. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27765606>

5. Almeida I, Bueno B, Gamarra L, Teixeira M, Sartoratto A, Figueira G, Matía S, Luiz P. The Effect of Essential Oils and Bioactive Fractions on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* Biofilms: A Confocal Analysis. *Evid Based Complement Alternat Med* (internet). 2015 (consultado el 1 de noviembre del 2019); 871316. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4363662/>
6. Freires IA, Denny C, Benso B, de Alencar SM, Rosalen PL. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. *Rev. Molecules* (internet). 2015 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 20(4):7329–7358. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25911964>
7. Lobo PL, Fonteles CS, Marques LA, Jamaru FV, Fonseca SG, de Carvalho CB, de Moraes ME. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: a randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine* (internet). 2014 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 21(9):1043-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24863037>
8. Sette P, Rego S, Macedo M, Batista S, Rocha A, Oliveira T, et al. Antibacterial activity and phytochemical screening of extracts of *Lippia alba* (Mill). *NE Brown. Jour. Acad.* [Online] 2014 [Cited sept 10; 2020];

8(29): 2783-2787. Available in:

<https://core.ac.uk/download/pdf/84720965.pdf>

9. Hernández F. La caries dental y su interrelación con algunos factores sociales. *Rec Med E* (internet). 2014 (consultado el 24 de septiembre del 2019); 36 (3). Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1684-18242014000300010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242014000300010)

10. Carrasco M, Orejuela F. Consecuencias clínicas de caries dental no tratada en preescolares y escolares de instituciones educativas públicas. *Rev. Estomatol* (internet). 2018 (consultado el 24 de septiembre del 2019); 28 (4). Disponible:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1019-43552018000400002](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552018000400002)

11. Pariona E. Experiencia y prevalencia de caries dental basada en los informes del internado odontológico social de la provincial de Morropon, Región Piura-Perú, del año 2015. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad peruana Cayetano Heredia: 2016.

12. Lee Y. Diagnosis and Prevention Strategies for Dental Caries. *J Lifestyle Med* (internet). 2013 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 3(2): 107–109. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390741/>

13. Ceinos R, France M, Cucchi C, Lupi L. Hierarchizing caries risk factors among first-year university students in Nice (France): a cross-sectional study. BMC Oral Health (internet). 2017 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 17: 159. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5740936/>
14. Pedro Núñez. Bioquímica de la caries dental. Rev Haban Cienc Méd. 2010; 9 (2) Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2010000200004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004)
15. Más M, Gómez M, García O. La dieta y su relevancia en la caries dental y la enfermedad periodontal. AMC. 2005;9 (1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552005000100015](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000100015)
16. Cisneros G, Hernández Y. La educación para la salud bucal en edades tempranas de la vida. MEDISAN. 2011; 15 (10) Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192011001000013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192011001000013)
17. Giacaman R, Muñoz C, Gonzales E, Cerda P. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil Oral (internet). 2013 (consultado el 09 de noviembre del 2019) 6(2); 71-74. Disponible en:



[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0719-01072013000200004](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072013000200004)

18. Jamies F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of *Streptococcus mutans*: Research Experiences. Univ Odontol. (internet) 2014 (consultado el 22 de octubre del 2019); 33(71): 65-73. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/286511061\\_Identificacion\\_y\\_caracterizacion\\_microbiologica\\_fenotipica\\_y\\_genotipica\\_del\\_Streptococcus\\_mutans\\_experiencias\\_de\\_investigacion\\_Microbiological\\_Phenotypic\\_and\\_Genotypic\\_Characterization\\_of\\_Streptococcus](https://www.researchgate.net/publication/286511061_Identificacion_y_caracterizacion_microbiologica_fenotipica_y_genotipica_del_Streptococcus_mutans_experiencias_de_investigacion_Microbiological_Phenotypic_and_Genotypic_Characterization_of_Streptococcus)
19. Castro P. Tovar J, Jaramillo L. Adhesion of *Streptococcus mutans* to salivary proteins in caries-free and caries-susceptible individuals. Acta Odontol Latinoam (internet). 2006 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 19(2):59-66. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17645212>
20. Wu L, et al. The global catalogue of microorganisms 10K type strain sequencing project: closing the genomic gaps for the validly published prokaryotic and fungi species. Gigascience (internet). 2018 (consultado el 22 de octubre del 2019); 7(5) disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29718202>

21. Pino J, Ortega A, Rosado A, Rodríguez M. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) n. e. Brown. Rev. Cub. Farm (internet).1996 (consultado el 29 de octubre del 2019); 30(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75151996000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100007)
22. Henao R, Martínez J, Pacheco G, Marín J. Actividad bactericida de extractos acuosos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown contra *Helicobacter pylori*. Rev Col Gastroenterol (internet). 2011 (consultado el 09 de noviembre del 2019) 2 (26) Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99572011000200002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572011000200002)
23. Linde G, Colauto N. Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas (internet), 2016 (consultado el 09 de noviembre del 2019); 18 (1), Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n1/1516-0572-rbpm-18-1-0191.pdf>
24. Porfírio E, Melo H, Pereira A, et al. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activity of *Lippia alba* Essential Oil, Citral, and Carvone against *Staphylococcus aureus*. Scientific WorldJournal. 2017; (consultado el 29 de octubre del 2019); <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5560023/>

25. Olivero J, Barreto-Maya A, Bertel-Sevilla A, Stashenko EE. Composition, anti-quorum sensing and antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*. *Braz J Microbiol* (internet). 2014(consultado el 29 de octubre del 2019); 45(3):759–767.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4204956/>
26. Gomes AF, Almeida MP, Leite MF, Schwaiger S, Stuppner H, Halabalaki M, Amaral JG, David JM. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. *Food Chem* (internet). 2019 (consultado el 29 de octubre del 2019); 273:186-193.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30292367>
27. Braum E, Alves E, Abreu M, Nascimento J, Fonseca N, Pinheiro M. Biomedical properties and potentiality of *Lippia microphylla* Cham. and its essential oils. *J Intercult Ethnopharmacol* (internet). 2015 (consultado el 2 de octubre del 2019); 4(3): 256–263. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4579491/>
28. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014.
29. Kimy J, Hoon D. Inhibitory effect on *Streptococcus mutans* and mechanical properties of the chitosan containing composite resin. *Restor Dent Endod* (internet). 2013 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 38 (1): 36–42. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3591584/>

30. Dagli N, Said R, Barouid K. Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *J Int Soc Prev Community Dent* (internet). 2015 (consultado el 2 de noviembre del 2019); 5(5): 335–340. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4606594/>
31. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 001 (Internet). [citado 22 enero 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7455/codigo-de-eticaparalainvestigacionv001.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
32. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé E, Jemenaio I, Medel M, et al. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Rev. Chil. Infectol.* [Internet] 2017 [Citado el 13 de oct. 2020]; 34(2): 156-174. Disponible en; <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v34n2/art10.pdf>
33. Nahak M, Tedjasulaksana R, Sumerti N. Ability difference of Beluntas Leaf (*Pluchea indica* L) ethanol extract and avocado leaf (*Persea americana* Mill) ethanol extract in Inhibiting caries-causing *Streptococcus mutans* Bacteria Growth. *Bali. Med. J.* 2017; 6(3): 387-390.
34. Morillo J, Balseca M. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro. *Rev. Odontol. Univ. Centr. Ecuador.* [Internet] 2018 [Citado el 13 de

octubre 2020]; 20(2). Disponible en:

<http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1470>

35. Delgadillo L, Bañuelos R, Delgadillo O, Silva M, Gallegos P. Composición química y efecto antibacteriano in vitro de extractos de *larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* y *ruta graveolens*. Chemical composition and antibacterian effect in vitro of extracts of *larrea tridentata*, *origanum vulgare*, *artemisa ludoviciana* and *ruta graveolens*. *Nova Scientia*. [Internet] 2017 [Citado el 13 de agosto 2020]; 9(2): 274-290. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ns/v9n19/2007-0705-ns-9-19-00273.pdf>

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

**Herbarium Truxillense (HUT)**  
Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú

Constancia N° 005 – 2019- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Asterales
- Orden: Lamiales
- Familia: Verbenaceae
- Género: *Lippia*
- Especie: *L. alba* (Mill.) N.E. Br. Ex Britton & P. Wilson
- Nombre común: "pampa orégano"

Muestra alcanzada a este despacho por REYLES CORONEL ALVA, identificado con DNI: 45907840, con domicilio legal en Covicorti Mz. N Lte. 10-A- Trujillo; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote- Sede Trujillo, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Actividad antibacteriana de un colutorio compuesto de aceite esencial de *Lippia alba* "pampa orégano" frente a *Streptococcus mutans* ATCC® 25175™"

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 25 de enero del 2019

  
Dr. JOSE MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT



## ANEXO 2

**COMPRA DE LA BACTERIA**



**Gen Lab del Perú S.A.C**  
 Jr. Capta Yupanqui N° 2434  
 Lima - Lima - Peru  
 Central Telefónica  
 (01-1) 203-7500, (01-1) 203-7501  
 Email: ventas@genlabperu.com  
 Web Site: www.genlabperu.com

**RUC N°: 20501262260**  
**FACTURA ELECTRONICA**  
**F001-001689**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 12/10/2018  
 Fecha Vcto : 12/10/2018  
 Cliente : UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE  
 Dirección : JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO  
 CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru  
 RUC : 20319956043

Orden Compra: COTEX-18-031479  
 Guía de Remisión :  
 N° Pedido : 020718  
 Tipo Movimiento : ANTICIPOS

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unid.	Dcto	Sub-Total
HC066-A	KWIK-STIK™ Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	309.74	0.00	309.74

TRESIENTOS SESENTA Y CINCO CON 48/100 SOLES

Anticipo	0.00
Op. Gravada S/	309.74
IGV 18%	55.75
<b>Importe Total S/</b>	<b>365.49</b>



Representación impresa de la Factura Electrónica  
 Consulte: <http://cpa.genlabperu.com>

**Observaciones de SUNAT :**  
 La Factura numero F001-001689, ha sido aceptada

Después de Venido el plazo de cancelación, se recargará el interes legal correspondiente  
 Sírvanse Realizar el Depósito Respectivo a las Siguietes Ctas Bancarias:  
 BCP Soles 193-1440807-0-84      BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

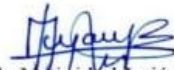


## ANEXO 3

### CONTANCIA

Yo, Manuela Natividad Lujan Velásquez, Biólogo – Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 2132.

Mediante la presente dejo constancia de estar colaborando con el alumno Reyes Coronel Alva estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote “ULADECH”, en la ejecución de la parte microbiológica planteada en el proyecto de investigación titulado: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL COLUTORIO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE *Lippia alba* (PAMPA ORÉGANO) FRENTE A CEPA DE *streptococcus mutans* ATCC 25175**. El mencionado proyecto se desarrollara en el laboratorio de Inmunología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo.



Dr. Manuela Natividad Luján Velásquez  
Responsable del Laboratorio de inmunología  
Universidad Nacional de Trujillo.

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

## ANEXO 4



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO  
FACULTADA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

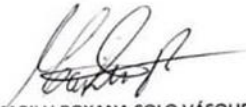
### CONSTANCIA DE COLABORACION

Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VASQUEZ**, docente de la cátedra de farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con código UNT 5727 y acreditada como Docente Investigadora por CONCYTEC con número de registro REGINA: N° 1582.

Dejo constar mi colaboración con el alumno **Reyles Coronel Alva** en las actividades de acondicionamiento de la muestra vegetal, preparación del colutorio a base de aceite esencial y sus concentraciones de ensayo, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. Asimismo, las concentraciones de ensayo preparadas, serán utilizadas para el desarrollo de la tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL COLUTORIO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE *Lippia alba* (PAMPA ORÉGANO) FRENTE A CEPA DE *streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Atentamente,



  
Dra. **MARILU ROXANA SOLO VÁSQUEZ**  
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Laboratorio de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

## ANEXO 5

### PROCESAMIENTO DE COLUTORIO DE *Lippia alba* (PAMPA ORÉGANO) REALIZADO EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNT

#### SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN



Se lavaron las hojas de la Planta *Lippia alba*. (PAMPA ORÉGANO) y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%



#### SECADO

Secado a temperatura ambiente por 24 horas y en estufa a 40°C de hojas de la planta  
*Lippia alba* (pampa orégano)

#### PREPARACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Lippia alba*



Para la preparación de colutorio a concentraciones 10% 20% y 30% se utilizó como materiales, aceite esencial de *Lippia alba*, Tween, alcohol de 96, luego se puso las concentraciones de aceite esencial en frascos de color ámbar para así evitar la descomposición por la luz.

## INOCULACIÓN DE LAS PLACAS



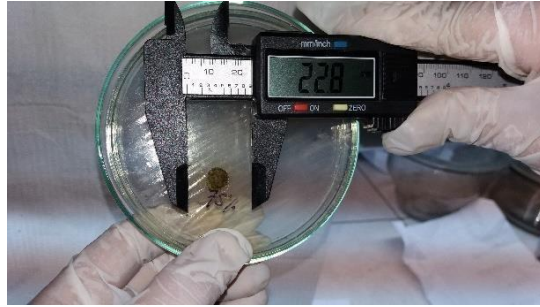
Se utilizó un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

## PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE PAPEL FILTRO WHATMAN NÚMERO 3 ESTÉRILES



Preparación de los discos de papel filtro Whatman número 3 estériles, embebidos con 50  $\mu$ l de cada una de las concentraciones de 10% ,20% y 30% de colutorio de *Lippia alba* (pampa orégano)

## LECTURA DE RESULTADOS



Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Lippia alba* (pampa orégano)



HOJA DE DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio **titulado EFECTO ANTIBACTERIANO DEL COLUTORIO A BASE DE ACEITE ESENCIAL DE *LIPPIA ALBA* (PAMPA ORÉGANO) FRENTE A CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS 25175, TRUJILLO-2019**

Asimismo, declaro no tener conflicto de intereses institucionales, dada la representación de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote sede Trujillo, a través de sus miembros.



---

CORONEL ALVA REYLES  
DNI N° 45907840