

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO****FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD****CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA**

**“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS GRISEB* (MUÑA) SOBRE  
MICROORGANISMOS PREVALENTES EN PATOLOGÍAS  
PERIAPICALES CRÓNICAS DE ORIGEN ENDODÓNTICO UNA –  
PUNO 2016”**

**TESIS**

PRESENTADO POR:

- **DÁNKA QUISPE HUMPIRI**
- **JHONNY MAMANI ASCENCIO**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

**CIRUJANO DENTISTA**

PROMOCION 2015-II

**PUNO - PERÚ**

**2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA**

“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS  
MOLLIS GRISEB* (MUÑA) SOBRE MICROORGANISMOS PREVALENTES EN  
PATOLOGÍAS PERIAPICALES CRÓNICAS DE ORIGEN ENDODÓNTICO UNA –  
PUNO 2016”

**TESIS**

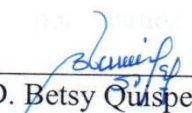
Presentado por:


Bach. DÁNKA QUISPE HUMPIRI  
Bach. JHONNY MAMANI ASCENCIO

Para optar el Título de:

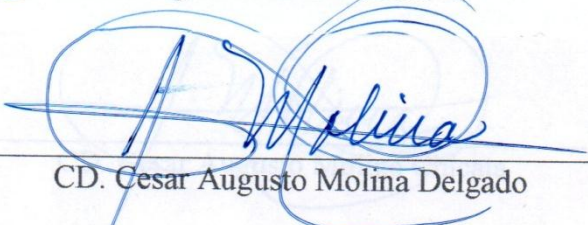
**CIRUJANO DENTISTA**

**SUSTENTADA EL 29 DE DICIEMBRE DEL 2016**

PRESIDENTE :   
CD. Betsy Quispe Quispe

PRIMER MIEMBRO :   
CD. Nelly Beatriz Quispe Maquera

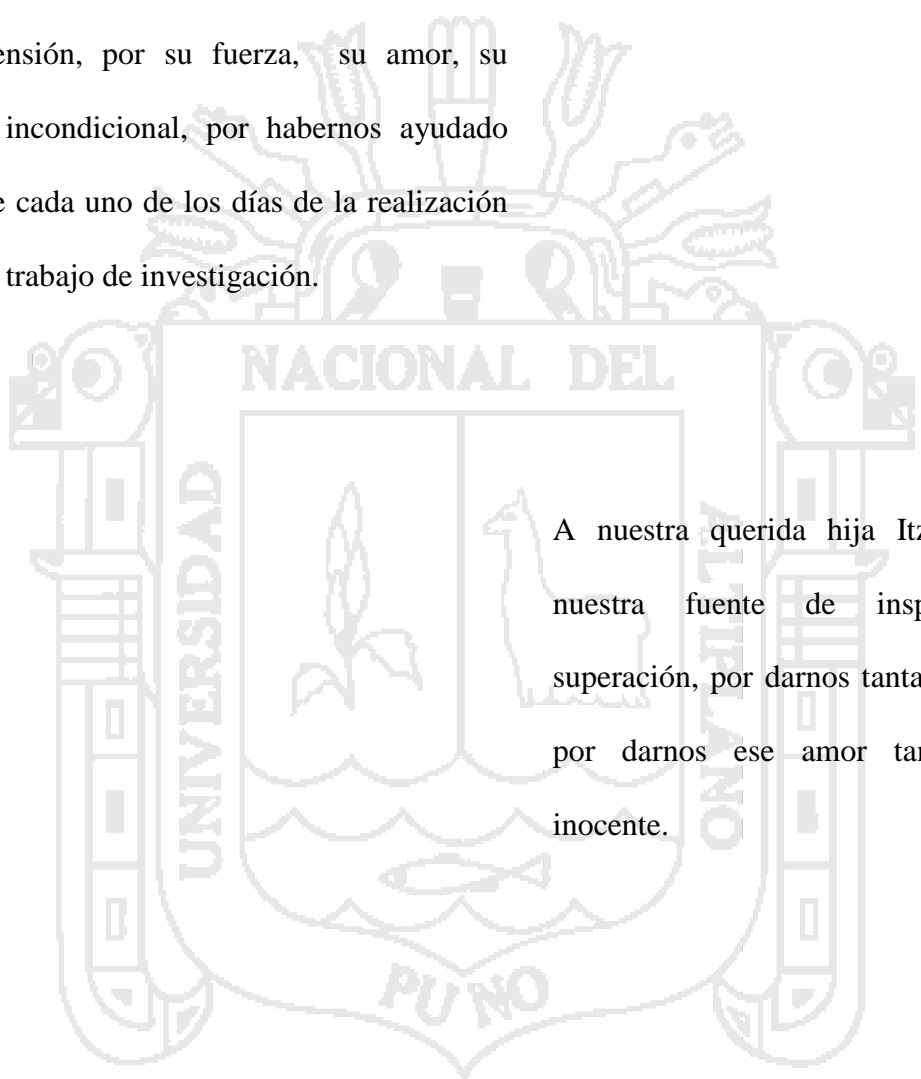
SEGUNDO MIEMBRO :   
CD. Milagros Molina Chicata

DIRECTOR/ASESOR :   
CD. Cesar Augusto Molina Delgado

Área: Medicina y Patología estomatológica  
Tema: Fitoterapia; productos naturales de uso en odontología

## DEDICATORIA

A nuestros padres por su paciencia y comprensión, por su fuerza, su amor, su apoyo incondicional, por habernos ayudado durante cada uno de los días de la realización de este trabajo de investigación.



A nuestra querida hija Itzel por ser nuestra fuente de inspiración y superación, por darnos tantas alegrías y por darnos ese amor tan tierno e inocente.

## AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano – Puno por permitirnos cumplir un gran anhelo ser profesionales útiles al servicio de la nación.
- A la facultad de Ciencias de la Salud y a la plana de docentes que nos brindaron sus conocimientos formando profesionales de la mejor manera posible.
- A nuestro docente CD. Cesar Augusto Molina Delgado por su dirección y orientación para realizar el presente trabajo de investigación.
- A nuestra docente CD. Milagros Molina Chicata por su colaboración con nuestro proyecto de investigación.
- A nuestra docente CD. Betsy Quispe Quispe por brindarnos sus conocimientos y por su gran apoyo moral.
- A nuestra docente CD. Beatriz Quispe Maquera por su paciencia y colaboración con nuestro proyecto de investigación.
- A nuestros familiares por su apoyo incondicional.

**INDICE GENERAL****PÁGINA****CAPITULO I**

<b>1.1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>13</b>
-------------------------------	-----------

**CAPITULO II****2.1. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

2.1.1. JUSTIFICACIÓN.....	15
2.1.2. ANTECEDENTES.....	17
2.1.3. MARCO TEÓRICO.....	20
2.1.3.1. Características generales de las lesiones periapicales.....	20
2.1.3.2. Microbiología endodóntica de las lesiones periapicales.....	25
2.1.3.2.1. Flora microbiana involucrada en las lesiones periapicales.....	25
2.1.3.2.2. Presencia y rol de las bacterias en el desarrollo de las lesiones periapicales.....	26
2.1.3.2.3. Microorganismos prevalentes en patologías periapicales Crónicas.....	29
a) <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	29
b) <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	31
c) <i>Cándida Albicans</i> .....	34
2.1.3.3. Plantas medicinales.....	36
2.1.3.3.1. <i>Minthostachys Mollis Griseb (Muña)</i> .....	37
2.1.3.3.2. Aceites esenciales.....	39
2.1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	45
2.1.5. HIPÓTESIS.....	45

**CAPITULO III****3.1. MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1.1. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO.....	46
3.1.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	46
3.1.3. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.....	47
3.1.4. MÉTODOS.....	48
3.1.4.1. Método para la obtención el aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) mediante arrastre de vapor... ..	48
3.1.4.2. Método de recolección y cultivo de muestra de conducto radicular.....	48
3.1.4.3. Metodología para la identificación de <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	50
3.1.4.4. Método para la identificación de <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	52
3.1.4.5. Método para la identificación de <i>Cándida Albicans</i> .....	55
3.1.4.6. Preparación de los discos de sensibilidad.....	56
3.1.4.7. Prueba de susceptibilidad microbiana.....	56
3.1.4.8. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).....	57
3.1.4.9. Recolección de datos.....	57

**CAPITULO IV**

<b>4.1. RESULTADOS.....</b>	<b>60</b>
<b>4.2. DISCUSIÓN.....</b>	<b>73</b>
	5

**CAPITULO V**

**CONCLUSIONES**..... 74

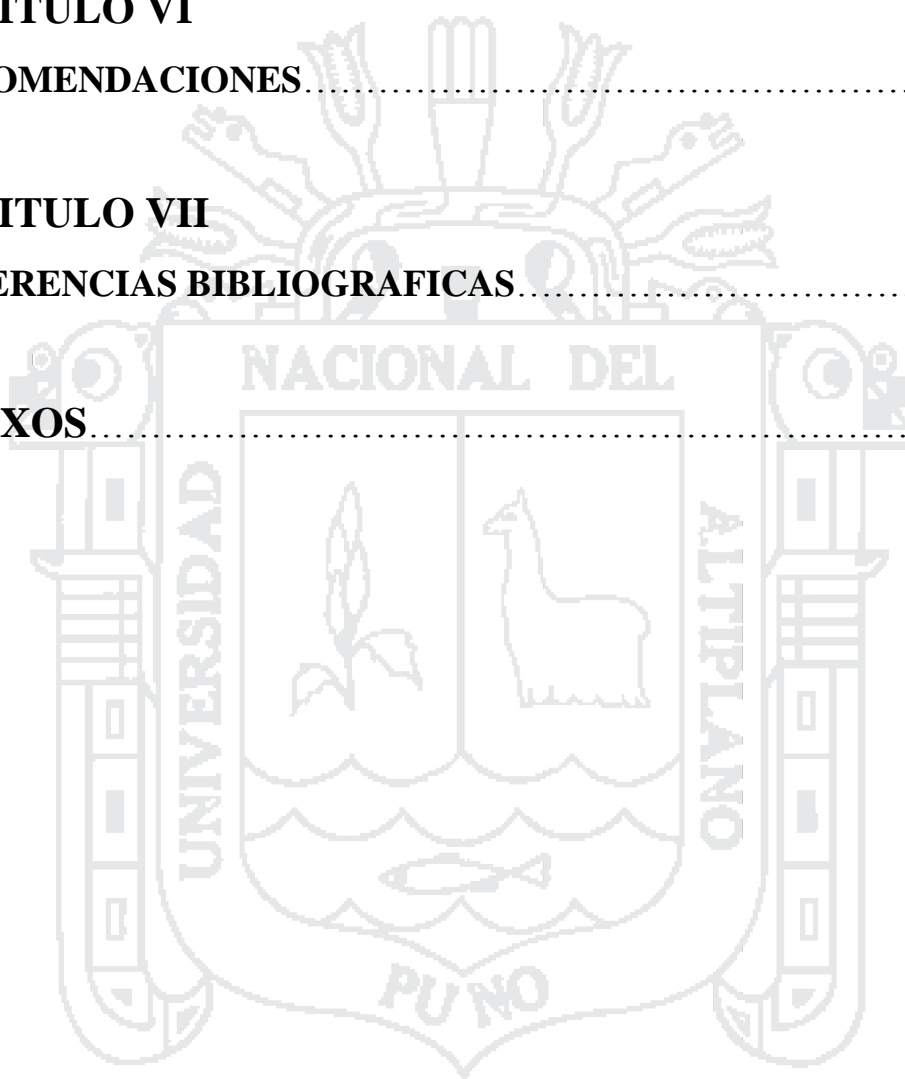
**CAPITULO VI**

**RECOMENDACIONES**..... 75

**CAPITULO VII**

**REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**..... 76

**ANEXOS**..... 79



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Vías de acceso al sector apical.....	27
<b>Figura 2.</b> Tinción de Gram: Cocos Gram positivo .....	31
<b>Figura 3.</b> Microfotografía, tomada con un microscopio electrónico de barrido.....	32





## INDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Análisis estadísticos descriptivos de la acción del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre el <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	58
<b>Tabla 2.</b> Análisis de la varianza (ANOVA) unifactorial de la acción del aceite de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	59
<b>Tabla 3.</b> Prueba POST HOC a través de HSD TUKEY, diferencias significativas entre los grupos de aceites esenciales de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) y sus efectos sobre el <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	60
<b>Tabla 4.</b> Subconjuntos de homogeneidad HSD TUKEY basados en las medias de los aceites esenciales de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> utilizados en la inhibición del <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	61
<b>Tabla 5.</b> Análisis estadísticos descriptivos de la acción de aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre el <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	63
<b>Tabla 6.</b> Análisis de la varianza (ANOVA) unifactorial de la acción del aceite de esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	64
<b>Tabla 7.</b> Prueba POST HOC a través de HSD TUKEY (comparaciones múltiples) diferencias significativas entre los grupos de aceites esenciales de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) y sus efectos sobre <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	65
<b>Tabla 8.</b> Subconjuntos de homogeneidad HSD TUKEY basados en las medias de los aceites esenciales de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) utilizados en la inhibición del <i>Enterococcus Faecalis</i> .....	66
<b>Tabla 9.</b> Análisis estadísticos descriptivos de la acción del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre <i>Cándida Albicans</i> .....	68



**Tabla 10.** Análisis de la varianza (ANOVA) unifactorial de la acción del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) a diferentes concentraciones y del Paramonoclorofenol Alcanforado sobre *Cándida Albicans*.....69

**Tabla 11.** Prueba POST HOC a través de HSD TUKEY (comparaciones múltiples) diferencias significativas entre los grupos de aceites esenciales de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) y sus efectos sobre la *Cándida Albicans*.....70

**Tabla 12.** Subconjuntos de homogeneidad HSD TUKEY basados en las medias de los aceites esenciales de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) utilizados en la inhibición de la *Cándida Albicans*..... 71



## INDICE DE ACRÓNIMOS

- UV = Ultravioleta
- QS = Quorum sensing
- MIC = Mínima concentración inhibitoria
- MBC = Mínima concentración bactericida
- KI = Yoduro de potasio
- ATCC = American type culture collection rockville EU
- PMN = Polimorfonucleares
- PAA = Periodontitis apical aguda
- PAC = Periodontitis apical crónica
- AAA = Absceso apical agudo
- AAC = Absceso apical crónico
- LPS = Lipopolisacáridos
- EDTA = Ácido etilendiaminotetraacético
- NAOCL = Hipoclorito de sodio
- CHX = Clorhexidina
- $Ca(OH)_2$  = hidróxido de calcio
- IRL = Imagen radiolucida
- PH = Potencial de Hidrogeno
- $NH_4^+$  = Amonio
- CCCC = Carbonilo cianhídrico m- clorofenilhidrazona
- $CO_2$  = Dióxido de carbono
- SAP = Aspartil proteasas
- Ig = Inmunoglobulinas
- $H_2O$  = Agua
- $CaCO_3$  = Carbonato de calcio
- PMNF = Paramonoclorofenol
- ANOVA = Análisis de varianza
- POST HOC = Por lo tanto se debe a esto
- HSD TUKEY = Diferencia honestamente significativa

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) frente a cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*, microorganismos de alta prevalencia en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Se evaluó la susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o Kirby-Bauer. Se utilizaron 120 placas Petri con agar Muller-Hinton; 40 por cada especie, donde se sembraron las cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans* y se colocaron los discos con el aceite esencial de muña al 100% y en dilución etanólica al 75%, 50 % y 25%. Las placas se incubaron a 37°C en estufa, se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 12 horas utilizando una regla de Vernier. Se recolectaron los datos en la ficha matriz de recolección. Concluyéndose que el aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña), presentó una gran actividad inhibitoria sobre las muestras de microorganismos en estudio: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* y *Cándida Albicans*, esta actividad inhibitoria fue mayor a la del Paramonoclorofenol Alcanforado.

Palabras claves: Muña, Aceite, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Cándida*.

**ABSTRACT**

The objective of the present investigation was to determine the in vitro inhibitory effect of the essential oil of *Minthostachis mollis griseb* (muña) against strains of *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Cándida Albicans*, microorganisms of high prevalence in chronic periapical pathologies of endodontic origin. The susceptibility was evaluated using the disc diffusion method or Kirby-Bauer. 120 Petri dishes with Muller-Hinton 40 agar per species were used where the strains of *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Cándida Albicans* were planted and the discs were placed with the 100% essential oil and at 75% ethanolic dilution, , 50% and 25%. Plates were incubated at 37 ° C in an oven, plates were evaluated by measuring the inhibition halo of each disk at 12 hours using a Vernier rule. Data were collected on the collection matrix. It was concluded that *minthostachys mollis griseb* (muña) oil had a high inhibitory activity on the samples of microorganisms under study: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* and *Candida Albicans*, this inhibitory activity was higher than that of Paramonochlorophenol Alcanforado.

Key words: Muña, Oil, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Cándida*.

## CAPITULO I

### 1.1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad un gran porcentaje de los tratamientos que se realizan en la odontología son las terapias de conductos, que van desde el tratamiento de dientes vitales infectados, hasta el tratamiento de dientes necróticos; en donde la infección ha alcanzado tejidos perirradiculares, los tratamientos de conductos se realizan mediante la aplicación de diferentes procedimientos para su tratamiento, cuyo objetivo principal es la eliminación completa de los agentes biológicos, y sus subproductos causantes de la infección por medio de distintas técnicas (instrumentación, medicación intracanal y obturación).

El proceso evolutivo de las infecciones de los conductos radiculares posee numerosos estudios a lo largo del tiempo. Y es así que a mediados del siglo XX, los diferentes estudios realizados ya describían a algunos microorganismos aerobios y anaerobios facultativos como los de mayor prevalencia en las infecciones de conductos radiculares.

Recientemente se desarrollaron nuevas técnicas de cultivo e identificación de microorganismos, los cuales han realizado considerables progresos con respecto a la etiopatogénesis de las infecciones endodónticas, demostrando la naturaleza polimicrobiana de ésta, así como la prevalencia de microorganismos. Actualmente las investigaciones de los conductos radiculares con patologías periapicales crónicas refieren la prevalencia de microorganismos anaerobios estrictos, microorganismos facultativos, los cuales en un gran porcentaje son: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* y *Cándida Albicans* responsables de la sintomatología persistente. A si mismo se viene investigando numerosas opciones alternativas a los antibióticos tradicionales, tal es el caso del uso de plantas con propiedades medicinales aplicadas a diversas áreas de la medicina, como una opción alternativa, claro está que su uso no se remonta estrictamente a esta época sino que viene desde hace siglos atrás, puesto que nuestros antepasados hacían uso de estas plantas para aliviar diversas dolencias que los aquejaban, esto es un motivo más para revalorar estos recursos en beneficio de nuestra población.

La "Muña" es una planta oriunda de la sierra del Perú que tiene múltiples usos: Para tratar malestares gastrointestinales, para repeler insectos de los cultivos, proteger las cosechas de la putrefacción, en tratamiento de tumores, inflamaciones, asma, halitosis, entre otros.

En el presente estudio se investiga la efectividad inhibitoria invitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña), a distintas concentraciones, frente a microorganismos relacionados con patologías periapicales crónicas de origen endodóntico; siendo éste un estudio pionero en la región, para lo cual las ciencias básicas se integran para obtener los conocimientos deseados a partir de esta investigación.



## CAPITULO II

### 2.1. REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### 2.1.1. JUSTIFICACIÓN

La patología pulpar y periapical son enfermedades inflamatorias de etiología microbiana, los microorganismos y sus productos desempeñan un papel relevante en la inducción, la progresión y la perpetuación de tales patologías;<sup>1</sup> las bacterias presentes en la pulpa dental necrótica y en los tejidos radiculares infectados, son un número reducido de especies a comparación con la flora oral total, esto es debido a que existen condiciones especiales, de tal manera que ciertas bacterias sean más patógenas que otras en dichas zonas.<sup>2,3</sup>

Más de 150 especies microbianas se han aislado de canales infectados, generalmente en infecciones mixtas que consisten en cuatro a siete diversas especies y con predominio de bacterias anaerobias facultativas,<sup>4</sup> que es el tipo de microflora responsable de la alteración a nivel periapical, entre los que se destacan *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis*, entre otros.<sup>5</sup> Asimismo tenemos casos de presencia de hongos como la *Cándida Albicans* en la pulpa dental infectada y en túbulos dentinarios de pacientes sanos.<sup>6</sup>

El objetivo principal de la endodoncia es devolver al diente la normalidad clínica y ausentar los signos y síntomas patológicos, que permanecen en el sistema intracanal otorgando un óptimo estado para su obturación y consecuentemente, la reparación de los tejidos periapicales.<sup>7</sup> Para cumplir este objetivo existen sustancias químicas que eliminan e inhiben el crecimiento bacteriano y la liberación de sus toxinas, dentro de estas sustancias tenemos a irrigantes, detergentes, quelantes y medicamentos intraconductos, dentro de este último grupo destaca la presencia del paramonoclorofenol alcanforado<sup>8</sup>

A pesar de todos los alcances que ofrece la endodoncia todavía hay casos en que ocurren infecciones persistentes post tratamiento endodóntico; estudios demostraron que ciertas bacterias penetran profundamente en los túbulos dentinarios del conducto radicular que hace muy difícil su eliminación a la hora de la instrumentación biomecánica, desinfección con los irrigantes antisépticos o colocación de medicamento intracanal.<sup>6</sup>

En diversos trabajos de investigación que se realizan en la actualidad en diversas partes del mundo, se destaca que cada vez se está dando mayor importancia al estudio de las plantas medicinales como una alternativa al tratamiento de diversas patologías, y las afecciones



bucodentales no son la excepción. El Perú es considerado el tercer país con mayor diversidad del planeta, ha efectuado importantes aportes de especies y variedades para el mundo gracias a los diversos pisos ecológicos y microclimas que presenta, contando con 84 zonas de vida de las 103 conocidas donde habría 50 mil especies de las que 2,000 han sido utilizadas con fines curativos.<sup>9</sup>

Estudios realizados demuestran que *Minthostachys Mollis Griseb* “muña”, planta medicinal que crece en nuestra sierra, tiene una marcada efectividad sobre microorganismos orales<sup>9</sup>; planteándonos con esos resultados la posibilidad de que dicha sustancia sea efectiva en la eliminación de microorganismos prevalentes en las patologías periapicales de origen endodóntico y con antecedentes de resistencia al tratamiento normal, constituyéndose en el motivo del presente trabajo de investigación.



## 2.1.2. ANTECEDENTES

### Antecedentes internacionales

- **Aigaje A. (2016) Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas Gingivalis* estudio in vitro.**

El propósito de esta investigación fue determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* frente a la *Porphyromonas Gingivalis* que es uno de los principales periodontopatógenos. Se elaboró un aceite esencial utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, obteniendo 10ml luego del procedimiento, el mismo que fue diluido para obtener tres concentraciones al 25%, 50% y 100%, se utilizó Clorhexidina al 0,12% y Ampicilina de 10ug como control positivo y agua como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro, se obtuvo los siguientes resultados: la efectividad antibacteriana en la concentración al 25% obtuvo un halo promedio de 11,2 mm, al 50% la efectividad alcanzó un halo promedio de 9,6 mm y al 100% logró un halo promedio de 13,6 mm siendo esta concentración la más efectiva. Los controles positivos estuvieron en un rango de muy sensibles y sumamente sensibles y el control negativo no obtuvo efectividad.<sup>10</sup>

- **Pellegrini M.C. y Col. (2014) Detección anti- quórum y la actividad antimicrobiana de las especies aromáticas de América del Sur**

La detección de quórum (QS) es un mecanismo de comunicación bacteriana que depende de la densidad de población. La interrupción de QS es un ejemplo de un efecto antipatógeno. Investigamos el anti-QS y las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales de Argentina: *Salvia Officinalis*, *Mollis Minthostachys*, *Satureja Odora*, *Schinus Molle*, *Floribunda Lepechinia* y *Artemisia Annu*. La actividad anti-QS se determinó midiendo la producción de violaceína en *Chromobacterium Violaceum* a través de espectrofotometría UV-visible y la mínima concentración inhibitoria QS se calculó. La actividad antimicrobiana se determinó utilizando *Escherichia Coli*, *Listeria Innocua* y *Staphylococcus Aureus* como indicadores de la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC) se determinaron mediante la realización del ensayo de microdilución en caldo. *Minthostachys Mollis* mostró estadísticamente significativas propiedades de inhibición de QS. Este aceite esencial reduce la producción de pigmentos en un 90% cuando se aplicó a una concentración subletal (/ v 0,02% v). Por

el contrario, la mayor actividad bacteriostática y bactericida se exhibía por el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* es un buen candidato para el desarrollo de productos anti-QS con una potencial aplicación en el control de enfermedades bacterianas mediadas por QS. Como esta estrategia interfiere con la expresión de rasgos patógenos en lugar de matar el microorganismo o impedir el crecimiento microbiano, que evita el problema de la resistencia<sup>11</sup>.

### **Antecedentes Nacionales**

- **Alaba W., Jiménez C. (2014) Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212.**

El objetivo de la presente investigación fue determinar y comparar el efecto inhibitorio in vitro del KI al 2% y el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus Faecalis*. Se evaluó la susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o Kirby-Bauer. Se utilizaron 7 placas Petri con agar Muller-Hinton donde se sembraron las cepas del *E. faecalis* y se colocaron los discos con el KI al 2 % o con el aceite esencial de muña al 100% y en dilución etanólica al 50 %. Las placas se incubaron a 37°C en estufa, se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 24, 48 y 72 horas utilizando una regla milimetrada. A las 24 horas todos los discos produjeron un halo de inhibición, donde el mayor registrado fue el del aceite esencial al 100%, y el de menor promedio fue el del KI al 2 %; los halos disminuyeron de tamaño en la lectura a las 72 horas. Por lo cual se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 100% posee mayor actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento del *Enterococcus Faecalis* que el KI al 2% y la dilución etanólica de aceite esencial al 50%.<sup>12</sup>

- **Azaña I. (2010) Efectividad in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* Griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico.**

El objetivo de la presente investigación fue determinar la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* Griseb (Muña) tanto cuantitativamente como cualitativamente, mediante el método de difusión en agar con disco, frente a tres cepas de bacterias prevalentes de patogénesis periapical crónica: *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 25586, *Prevotella Melaninogénica* ATCC 25845, *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 y

muestras de conducto radicular con Periodontitis Apical Crónica. Se obtuvo el aceite esencial de principios activos totales de las hojas secas, talluelos y flores de la planta mediante arrastre por vapor de agua. Posteriormente, el aceite se diluyó en alcohol etílico al 70° en las concentraciones de 25% y 50%. Estas diluciones, junto a la dilución pura, fueron comparadas con Paramonoclorofenol alcanforado como control positivo y con alcohol etílico al 70°, como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvieron los siguientes resultados: el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) puro y en sus diluciones presentó efectividad antibacteriana tanto cuantitativamente como cualitativamente mayor al alcohol etílico al 70° y menor al Paramonoclorofenol alcanforado frente a las muestras bacterianas en estudio.<sup>13</sup>

#### Antecedente Local

- **Molina M.(2007) Estudio in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (Muña) comparado con la amoxicilina frente a la placa supragingival, en la clínica odontológica UNA Puno 2007.**

La investigación tuvo por objetivo determinar in vitro el efecto antibacteriano del aceite esencial la *Minthostachys Mollis Griseb* (Muña), comparado con la amoxicilina, frente a bacterias de la placa supragingival. La población para este estudio fue de 36 muestras. La técnica incluyó el uso de fichas de observación estructuradas mediante las cuales se registró la medición del halo de inhibición de la amoxicilina y el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb*, cuyos indicadores estadísticos a las 24 horas se observó 22.133mm para amoxicilina y 23.75mm para *Minthostachys Mollis Griseb* y a las 48 horas 21.777 mm para amoxicilina y 21.61 mm para *Minthostachys Mollis Griseb*. Por lo cual se concluyó que el efecto antibacteriano de la *Minthostachys Mollis Griseb* es positivo y en menor grado que la amoxicilina frente a bacterias de la placa supragingival a las 24 y 48 horas.<sup>14</sup>

### 2.1.3. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.3.1. Características Generales De Las Lesiones Periapicales

##### - Espacio Periapical

La región periapical tiene una casi ilimitada fuente de células indiferenciadas, que pueden participar en el proceso inflamatorio, así como también en el proceso reparativo.<sup>13</sup>

Los tejidos periapicales son también ricos en suplemento sanguíneo colateral y drenaje linfático, esto lo diferencia de los tejidos pulpares. También estas características le permiten, a los tejidos periapicales, contrarrestar los elementos destructivos relacionados con los irritantes de los conductos y de la inflamación resultante.<sup>13</sup>

##### - Patogénesis de las lesiones periapicales

Las lesiones periapicales pueden ser consideradas lesiones infecciosas endógenas multifactoriales, con el huésped que juega un rol significativo en el proceso inflamatorio. El egreso de microorganismos, sus derivados, y los tejidos alterados de los canales radiculares hacia los tejidos perirradiculares pueden iniciar la formación y/o perpetuación de estas lesiones.<sup>13</sup> Dependiendo de la fase de desarrollo, una evaluación de estas lesiones revela numerosas células inflamatorias como neutrófilos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, células mastoides, basófilos, y eosinófilos. Una interacción entre los irritantes exógenos y estas células defensivas del hospedador, pueden producir una expulsión de varios mediadores químicos endógenos como neuropéptidos, péptidos fibrinolíticos, péptidos, quininas, fragmentos del complemento, aminas vasoactivas, enzimas lisosomales, citoquinas y mediadores de reacciones inmunológicas. Una de las características más relevantes del desarrollo de las lesiones periapicales es la resorción ósea, aunque el proceso patogénico aún no ha sido muy bien establecido.<sup>13</sup>

##### - Clasificación de las Lesiones Periapicales

Las lesiones periapicales de origen pulpar son clasificadas sobre la base de descubrimientos clínicos e histopatológicos. Esta selección comprende periodontitis apical aguda, periodontitis apical crónica, absceso apical agudo y absceso apical crónico.<sup>13</sup>

Las lesiones agudas son aquellas que presentan dolor y los signos más serios, y las lesiones crónicas son aquellas que no tienen sintomatología relevante. Es evidente que en el tratamiento de estas lesiones, el factor más importante es la medicación antibacteriana.<sup>13</sup>

**a) Periodontitis Apical Aguda (Sintomática).**- Es una inflamación circunscrita del ligamento periodontal en la región apical. Las principales causas son irritantes que se difunden desde una pulpa inflamada o necrótica, la salida de irritantes como bacterias, toxinas bacterianas, medicamentos desinfectantes, residuos empujados hacia los tejidos periapicales o irritación física de los tejidos periodontales puede ocasionar periodontitis apical sintomática.<sup>15</sup> La sensibilidad a la percusión es la principal característica clínica, el dolor varía desde la hipersensibilidad leve hasta el dolor intenso. La liberación de los mediadores de la inflamación ocasiona degradación del ligamento periodontal y resorción del hueso alveolar.<sup>15</sup>

**b) Periodontitis Apical Crónica (Asintomática).**- Puede ir precedida de periodontitis apical sintomática o absceso apical. Sin embargo, la lesión a menudo se desarrolla y crece sin signos y síntomas subjetivos. El tratamiento inadecuado de conductos radiculares también origina el desarrollo de estas lesiones. En general, una pulpa necrótica gradualmente libera agentes nocivos de escasa patogenicidad o en concentraciones bajas que dan origen al desarrollo de una periodontitis apical asintomática (PAC). Por lo general se acompaña de una resorción ósea perirradicular que es visible en las radiografías.<sup>15</sup>

El paciente por lo general no refiere dolor importante y las pruebas revelan dolor mínimo o nulo a la percusión. No obstante, si la Periodontitis apical asintomática perfora la lámina cortical del hueso, la palpación de los tejidos superpuestos ocasionará malestar. El diente asociado tiene una pulpa necrótica y por tanto no responderá estímulos eléctricos o térmicos.<sup>16</sup>

A la periodontitis apical crónica se le asocia a:

- **Granuloma perirradicular:** Desde el punto de vista histológica consta predominantemente de tejido inflamatorio de granulación con capilares pequeños, fibroblastos, múltiples fibras de tejido conectivo. Este tejido reemplaza al ligamento periodontal.<sup>15</sup>



- **Quiste perirradicular:** Histológicamente es una cavidad central, revestida de epitelio escamoso estratificado. La luz del quiste contiene un líquido pálido eosinófilo y en ocasiones algunos residuos celulares.<sup>15</sup>
  
- c) **Absceso Apical.-** Es una concentración circunscrita de pus en una cavidad formada por la desintegración de los tejidos. Según el grado de formación y excreción de exudado, la intensidad del dolor y la presencia o ausencia de signos y síntomas generales, los abscesos pueden dividirse en:<sup>15,16</sup>
  - **Absceso apical sintomático:** Es un proceso inflamatorio en los tejidos perirradiculares de los dientes, que se acompaña de la formación de exudado dentro de la lesión. Una causa frecuente es una afluencia rápida de microorganismos o sus productos, desde el sistema de conductos radiculares. El paciente puede o no mostrar tumefacción que puede ser localizada o difusa. Al exámen clínico el diente revela diversos grados de sensibilidad a la percusión y a la palpación. No existe reacción al frío, el calor o los estímulos eléctricos, ya que la pulpa del diente afectado esta necrosada.<sup>15,16</sup>

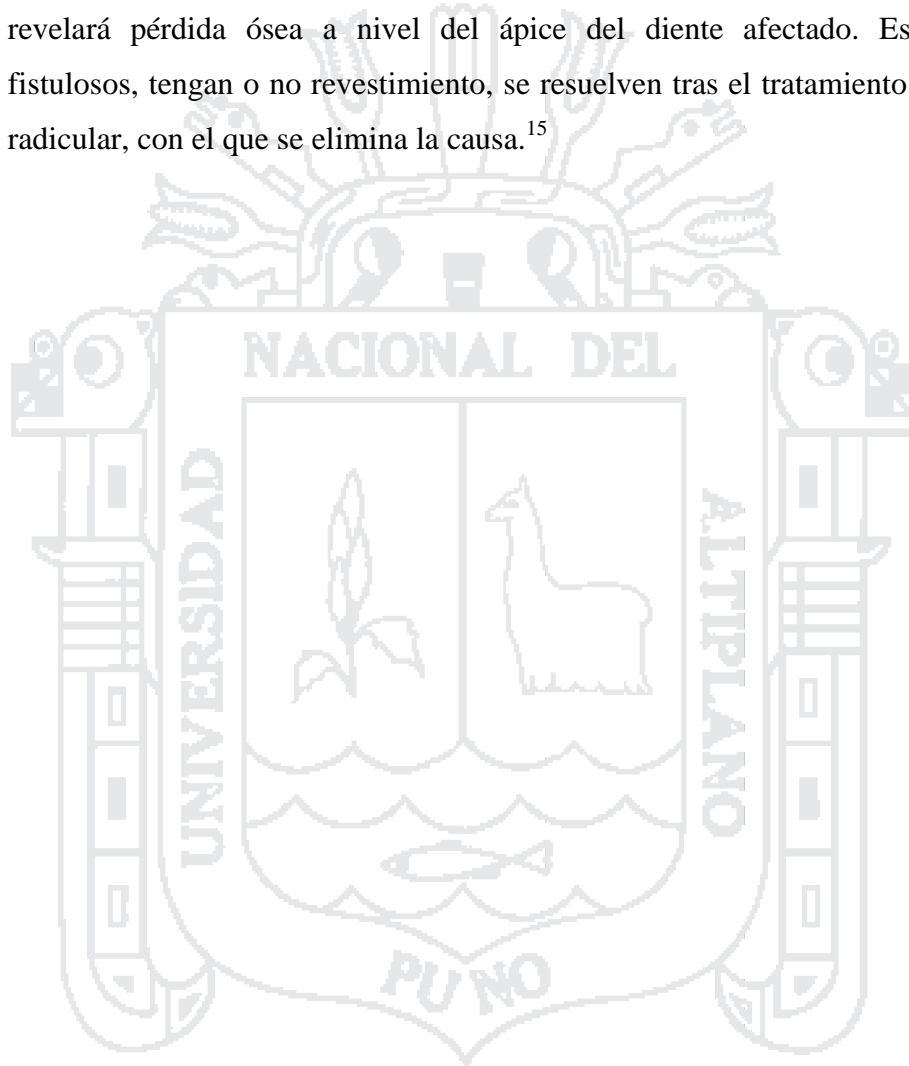
La diseminación de la respuesta inflamatoria hacia el hueso esponjoso ocasiona resorción ósea apical. Debido a la presión causada por la acumulación de exudado dentro de los tejidos limitantes, el dolor es intenso. Con mayor frecuencia la tumefacción permanece localizada, aunque puede tornarse difusa y diseminarse de forma amplia (celulitis).<sup>17</sup>

El lugar del área de la tumefacción es determinado por la relación del ápice del diente afectado con las inserciones musculares. El proceso de supuración busca líneas de menor resistencia, y con el tiempo perfora la placa cortical. Cuando llega a los tejidos blandos, la presión sobre el periostio se libera, y por lo general se reducen los síntomas.<sup>15,16</sup>
  
  - **Absceso apical asintomático:** Está relacionado con la salida gradual de irritantes del sistema de conductos radiculares hacia los tejidos perirradiculares y la formación de un exudado. Se asocia con un trayecto fistuloso que drena en forma continua o intermitente. Esto se manifiesta como un estoma sobre la mucosa bucal o, en ocasiones, sobre la piel de la cara. El exudado también puede drenar a través



del surco gingival del diente afectado, imitando una lesión periodontal con “bolsa”.<sup>15</sup>

- Si se obstruye el trayecto de la fístula, se producirá diversos grados de dolor. Al examen clínico se presentará sensibilidad a la percusión y a la palpación, dependiendo si la fístula está abierta y drenando o cerrada. Las pruebas de vitalidad son negativas, debido a que las pulpas están necrosadas. Al examen radiográfico revelará pérdida ósea a nivel del ápice del diente afectado. Estos trayectos fistulosos, tengan o no revestimiento, se resuelven tras el tratamiento del conducto radicular, con el que se elimina la causa.<sup>15</sup>



**Cuadro n°1. CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES PERIAPICALES<sup>13</sup>**

	<b>Periodontitis apical aguda(PAA)</b>	<b>Periodontitis apical crónica (PAC)</b>	<b>Absceso apical agudo (AAA)</b>	<b>Absceso apical crónico (AAC)</b>
<b>ETIOLOGIA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causado por la primera extensión de la inflamación en los tejidos periapicales.</li> <li>• Pulpitis irreversible o necrosis pulpar.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consecuencia de necrosis pulpar y generalmente se presenta como una continuación de la PAA.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resulta cuando egresa un número grande de bacterias a través del ápice y provoca una respuesta inflamatoria severa.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generalmente asociado una PAC.</li> <li>• Este absceso ha perforado a través de la mucosa o incluso la piel como una fístula.</li> </ul>
<b>SIGNOS Y SINTOMAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor de leve a severo a diversos estímulos como: frío, caliente, masticación.</li> <li>• Existe una respuesta positiva a pruebas de la palpación.</li> <li>• Radiográficamente existe un ligero ensanchamiento del espacio periodontal.</li> <li>• Generalmente normal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generalmente asintomático o con una molestia mínima.</li> <li>• Respuesta negativa a estímulos provocados.</li> <li>• Un ligero dolor a la prueba de percusión.</li> <li>• Radiográficamente es imposible diagnosticar un quiste.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor moderado a severo.</li> <li>• Existen manifestaciones sistémicas: temperatura, tumefacción,</li> <li>• Siempre responde a la percusión y palpación.</li> <li>• Radiográficamente hay un ensanchamiento del espacio periodontal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generalmente asintomática, debido a la liberación de la presión establecida por la fístula.</li> <li>• El resto de las características clínicas y radiográficas son similares a los de PAC.</li> </ul>
<b>CARACTERÍSTICAS HISTOLOGICAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia de PMN y macrófagos.</li> <li>• Existen áreas pequeñas de necrosis de licuefacción y resorción ósea radicular.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Clasificado en quistes y granulomas.</li> <li>• El granuloma consiste en tejido granulomatoso infiltrado por células inflamatorias.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tejidos con necrosis por licuefacción.</li> <li>• Exudado purulento.</li> <li>• Se observa tejido granulomatoso que rodea la lesión.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Características histopatológicas similares a las de PAC.</li> <li>• A veces existen células epiteliales que rodean el tracto fistuloso.</li> </ul>
<b>TRATAMIENTO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La remoción de los irritantes locales, el alivio de la oclusión o cualquier terapéutica convencional es conveniente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La remoción de los irritantes locales y la terapéutica convencional son útiles.</li> <li>• El uso de CaOH<sub>2</sub> también.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La remoción de irritantes, el drenaje, la terapia rutinaria y la medicación antibiótica, son útiles en estos casos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un tratamiento endodóntico es apropiado ya que siempre alivia los síntomas.</li> </ul>

### 2.1.3.2. Microbiología endodóntica de las lesiones periapicales

#### 2.1.3.2.1. Flora microbiana involucrada en las lesiones periapicales

Las diferentes características de los elementos constituyentes de la cavidad bucal favorecen a la aparición de microsistemas bacterianos. Los tejidos duros dentarios tienen la propiedad de actuar como barreras mecánicas que impiden la invasión microbiana hacia la pulpa y es así; que las enfermedades pulpares y periapicales, puede ser resultado de la presencia de bacterias y otros microorganismos, causantes del fracaso endodónticos a pesar del tratamiento. La pulpa se ve comprometida cuando los microorganismos invaden los túbulillos dentinarios, suceso que ocurre si la zona dentinaria queda expuesta en la cavidad bucal, ocasionada por caries dental, tratamientos de operatoria dental mal realizados a procesos periodontales, fisuras de esmalte o dentina y traumatismo.<sup>18</sup>

- Características para que los microorganismos puedan sobrevivir en los conductos radiculares:
  - El ambiente de los conductos radiculares, tiene que permitir la supervivencia crecimiento y desarrollo del microorganismo.
  - El microorganismo debe estar localizado a nivel de las redes dentarias; de tal manera que, sus factores de patogenicidad puedan llegar a tejidos que rodean al diente.
  - Debe poseer factores de virulencia.
  - Tiene que presentar en un número propicio para originar y mantener la lesión perirradicular.<sup>18</sup>

En los estadios tempranos de la infección, la cantidad de oxígeno en los canales radiculares es amplia debido a que proviene de la microcirculación de la sangre y de la cavidad expuesta, esto podría explicar la prevalencia de las bacterias facultativas. A medida que el tiempo pasa, el potencial de oxidoreducción baja en los canales, debido a la necrosis de los tejidos y el consumo del oxígeno por las bacterias facultativas. Este ambiente es ideal para los anaerobios estrictos.<sup>19</sup>

### 2.1.3.2.2. Presencia y rol de las bacterias en el desarrollo de las lesiones periapicales

En nuestros días, ha sido ampliamente demostrado que las bacterias y sus productos patogénicos, juegan un rol importantísimo en el desarrollo y el mantenimiento de las lesiones pulpares y periapicales. También se sabe que las infecciones de los canales radiculares y los tejidos periapicales son polimicrobianos y que tienen una predominancia de microorganismos anaerobios.<sup>20</sup>

- Invasión bacteriana a la cámara pulpar y los canales radiculares

Cuando agentes irritantes o microorganismos que se originan del contenido de los conductos radiculares llegan a la zona periapical, ya sea a través del foramen apical principal, o a través de conductos laterales, producen sucesos inflamatorios que afectan los tejidos del periápice.<sup>21</sup>

- Los agentes irritantes pueden tener distintas vías de acceso al sector apical como son:<sup>21</sup>

- **Por vía de la Pulpa Radicular:** Debido a un sin número de agentes irritantes principalmente la caries, la pulpa puede verse afectada. Los productos de la degeneración de la pulpa; ante un estímulo irritante se diseminan por los conductos radiculares y llegan al tejido periapical, en el cual desata una serie de reacciones inflamatorias en el tejido del periápice que tuvieron origen endodóntico. El foramen apical, es el principal medio de comunicación por el cual microorganismos y sus productos de desecho pueden llegar a diseminarse por los tejidos del periápice, ocasionando una inflamación local que conduce a la reabsorción del hueso y de la raíz. En resumen mediante la vía de la pulpa radicular distintos agentes irritantes en especial microorganismos pueden llegar al sector apical.<sup>21</sup>

- **Por vía Periodontal:** Existen vías de comunicación entre el periodonto y la pulpa a través del foramen apical y de los canales laterales, lo que permite el paso de agentes nocivos de una zona a la otra cuando alguno de los dos, o ambos, se encuentran alterados. También pueden ocurrir procesos degenerativos en los dientes, o incluso tratamientos periodontales como raspados radiculares pueden ocasionar la migración de bacterias a la zona apical o incluso puede ocasionar la exposición de los túbulos dentinarios. La estrecha relación que existe entre el periodonto y la pulpa dificulta en muchas ocasiones el diagnóstico diferencial de las lesiones que tienen lugar en ambos.<sup>21</sup>

- **Por vía Endógena:** Distintos factores endógenos son vías para que agentes nocivos lleguen al sector apical como son los traumatismos, ya que en caso de un accidente pueden migrar bacterias u otros factores y ocasionar inflamaciones de los tejidos periapicales, además también se conoce que la compresión que originan los quistes en el tejido periapical al igual que los tumores pueden producir gran daño a los tejidos periapicales.<sup>21</sup>

- **Por vía Sanguínea:** En esta vía los microorganismos se diseminan a través del torrente sanguíneo hacia la pulpa de un diente que no está infectado pero que presenta una inflamación pulpar.<sup>21</sup>

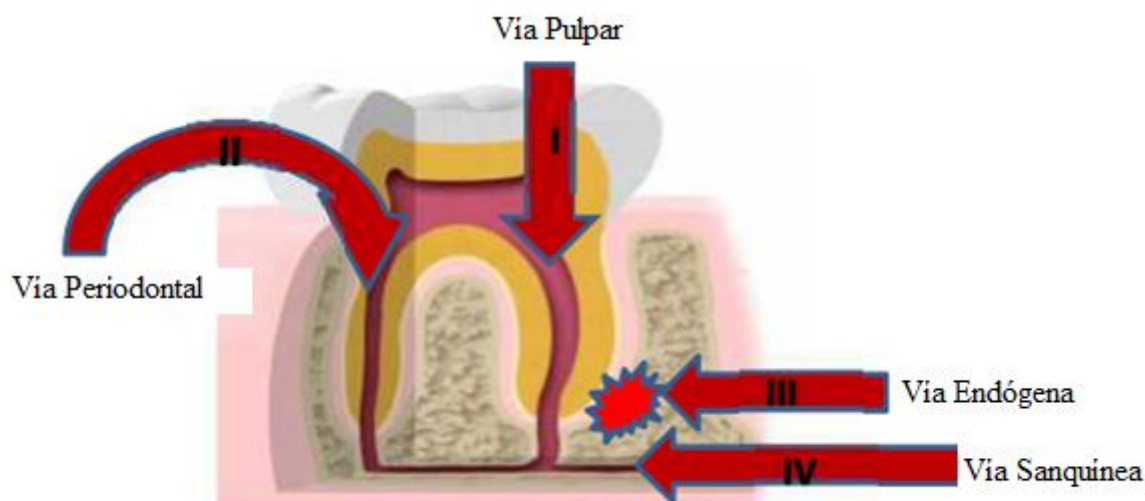


Figura 1. Vías de acceso al sector apical. (I) Por vía pulpar (II) Por vía periodontal (III) Por vía endógena (IV) Por vía sanguínea.<sup>21</sup>

- Patogenicidad de la flora microbiana de canales radiculares y tejidos periapicales infectados

La sola presencia de bacterias en los canales radiculares o en los tejidos periapicales, no implica que se vaya a producir una infección. Esto dependerá de la interacción de los siguientes factores: número de células bacterianas, virulencia de las bacterias, duración de la agresión y la resistencia del hospedador.<sup>13</sup>

Los componentes estructurales que son considerados como factores de virulencia son: lipopolisacáridos (LPS), cápsula, peptidoglicano, fimbrias, lipoproteínas y ácidos lipoproteicos. Las bacterias Gramnegativas contienen LPS en su estructura y son causantes

de actividades biológicas tales como: inducción febril, reacción de Shwartzman, actividad adyuvante y citotoxicidad.<sup>13</sup>

Las enzimas que son consideradas como factores de virulencia y que provienen de bacterias aisladas de conducto radiculares y tejidos periapicales infectados son: colagenasa, hialuronidasa, condroitinsulfatasa, ácido fosfatasa, fibrinolisisina, hemolisina, coagulasa y otras proteasas. Existen muchos productos del metabolismo de las especies bacterianas que están involucradas en su patogenicidad. Ácidos grasos de cadena corta, amoniaco, compuestos sulfurados, indol, poliaminas, etc. Las bacterias tienen que atravesar muchas fases para producir una infección. Estos son: adherencia, colonización, invasión, sobrevivencia y daño tisular.<sup>13</sup>

- Diseminación de bacterias a través de los canales radiculares hacia los tejidos periapicales y otros tejidos

Una infección endodóntica de larga duración puede permitir que las bacterias se propaguen por todo el sistema de los canales radiculares, incluyendo canales accesorios, deltas apicales e istmos. Esto provoca que el tratamiento de estas infecciones sea difícil. La acumulación de las bacterias en los túbulos dentinales, a veces no permite el ingreso de células de defensa al sitio de la infección.<sup>13</sup>

En algunos casos las alteraciones periapicales agudas y la instrumentación de los canales radiculares infectados, pueden hacer llegar bacterias al torrente sanguíneo y provocar una bacteremia. Los microorganismos que ingresan y circulan en el torrente sanguíneo son usualmente eliminados por el sistema retículo endotelial en pocos minutos (bacteremia transitoria), y como regla general estos no conllevan a síntomas clínicos mayores sino solo a pequeñas elevaciones de temperatura. Si las bacterias encuentran condiciones favorables, puede ser que produzcan una infección secundaria.<sup>13</sup>

#### **2.1.3.2.3. Microorganismos Prevalentes en Patologías Periapicales Crónicas**

Los nuevos conceptos de resistencia bacteriana en endodoncia están mostrando el importante papel del *Enterococcus faecalis* y de la *Cándida albicans*. Cuando analizada la microbiota de canales radiculares con infecciones persistentes, los *Enterococcus* fueron encontrados con mayor frecuencia. El hidróxido de calcio puede ser ineficiente contra ese



grupo de bacterias, por eso se ha sugerido el uso de antibióticos como la tetraciclina para tratar infecciones persistentes relacionadas a esta bacteria. Sin embargo, la vancomicina y la eritromicina también son efectivas contra estos microorganismos a pesar de que ya están surgiendo *Enterococcus* vancomicino-resistentes.<sup>22</sup>

#### a) *Enterococcus faecalis*

##### • Taxonomía y características generales de *Enterococcus faecalis*

La especie *Enterococcus* engloba un conjunto de especies semejantes al *Streptococcus* y cuyo hábitad suele ser el aparato gastrointestinal y genitourinario. La más aislada en clínica son *E. faecalis* (80-90%) y *E. faecium* (5%), fue introducida en la taxonomía a mediados de los años 80's. Con anterioridad los *Enterococcus* pertenecían a la especie *Streptococcus*.<sup>13</sup> Los *Enterococcus* se agrupan en pares o cadenas cortas.<sup>23</sup> Según su clasificación, son cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, inmóviles y catalasa negativos.<sup>13</sup>

*Enterococcus Faecalis* normalmente coloniza el sistema digestivo (intestino), formando una gran parte de la flora aerobia. Son oportunistas clásicos, con frecuencia, se cultivan *enterococos* en infecciones nosocomiales. Entre las infecciones causadas frecuentemente por *Enterococcus Faecalis*, destacan las infecciones urinarias e infecciones de heridas abdominales. También han sido implicados en infecciones de endodoncia.<sup>13</sup> Una característica importante *Enterococcus Faecalis*, que permite diferenciarlo de los *Streptococcus*, es por ejemplo, la capacidad de crecer a 45° C en presencia de NaCl al 6,5% o bilis al 40%, así como a un pH de 9.<sup>13,23</sup> A menudo, *Enterococcus Faecalis* es resistente a numerosos antibióticos como penicilinas, cefalosporinas de diferentes generaciones. En general, es sensible a aminopenicilinas, acilureidopenicilinas, piperacilina y carbapenems.<sup>13</sup>

##### • Factores de Patogenicidad

*Enterococcus Faecalis* puede ser encontrado en el tejido pulpar dentario necrótico y está directamente relacionado al fracaso en endodoncia. Presenta resistencia a sustancias irrigadoras y medicamentos intracanales. Bastante relacionado a infecciones persistentes, es decir, está más relacionado a casos asintomáticos que en casos de sintomatología clínica.<sup>13,24</sup>



Autores como Pinheiro, colaboradores, Siqueira y Rocas (2004) investigaron la identificación de microorganismos existentes en los canales de tratamiento endodóntico fallidos, *Enterococcus Faecalis* fue la especie más aislada (45% y 77% respectivamente).<sup>25</sup> Pero también hay estudios que demuestran lo contrario, y nos dan a conocer que el *Enterococcus Faecalis* también se pueden encontrar en infecciones endodónticas primarias. Ferrari, y Bombana Cai, investigaron la presencia de microorganismos: el género *Enterococcus*, *Enterobacterias* y levaduras en infecciones endodónticas primarias. Entre los diversos microorganismos encontrados, *Enterococcus Faecalis* estuvo presente en todas las etapas de evaluación que demuestra su resistencia a la preparación de la raíz y a la medicación intracanal.<sup>13</sup>

La capacidad de adhesión, el crecimiento y el poder de invasión en los tejidos son características pertinentes para *Enterococcus Faecalis*. Estudios *in vitro* han demostrado la capacidad de invasión de los túbulos dentinarios por *Enterococcus Faecalis* y su resistencia a los antibióticos, el efecto antimicrobianos de hidróxido de calcio y los cambios de pH.<sup>13</sup> Love evaluó la capacidad de crecimiento y penetración intratubular de tres microorganismos: *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans* y *E. faecalis*. Para evaluar la penetración intratubular de esos microorganismos se utilizó seis dientes unirradiculares humanos, que se cortaron en dirección longitudinal produciendo dos muestras con cemento intacto. Suero humano y el colágeno tipo 1 se insertaron en los medios durante el experimento. El autor consideró que la invasión intratubular fue significativa para los tres microorganismos. La inserción de colágeno en el medio inhibe completamente la penetración de *S. mutans* y *S. Gordonii* descendió, pero no impidió la penetración de *Enterococcus Faecalis*. Además Evans y colaboradores, encontraron que el mecanismo de la bomba de protones que se encuentran en la membrana citoplasmática de *Enterococcus Faecalis* sería la razón de su resistencia a los cambios en el pH. Para ello, usaron un inhibidor de este mecanismo, el carbonilo cianídrico clorofenilhidrazona (CCCC) y puso las bacterias en contacto con hidróxido de calcio con pH 11,1. Hubo una disminución de células viables después de estos períodos.

La capacidad de sobrevivir al sistema de defensa innata del hospedero y competir con otras bacterias constituye importantes factores de virulencia de esta bacteria. También son estudiados los factores de patogenicidad del *Enterococcus Faecalis* como son: sexo feromonas, ácido lipoteico, producción de superóxido extracelular, gelatinasa, hialuronidasa, y citolisina (hemolisina).<sup>13</sup>

## b) *Staphylococcus Aureus*

- **Taxonomía**

Los miembros del género *Staphylococcus* y *Micrococcus* son catalasa positiva y hasta hace poco formaban parte de la familia *Micrococaceae* junto a los géneros *Planococcus* y *Stomacoccus*. Estudios genéticos han demostrado que *Staphylococcus* y *Micrococcus* no están relacionados. Los *estafilococos* son cocos Gram positivos, catalasa positivos y el diamino ácido en el peptidoglicano es la L-lisina. El género *Staphylococcus* posee alrededor de 30 especies, de las cuales destacaremos *S. aureus*, *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*.<sup>23</sup>

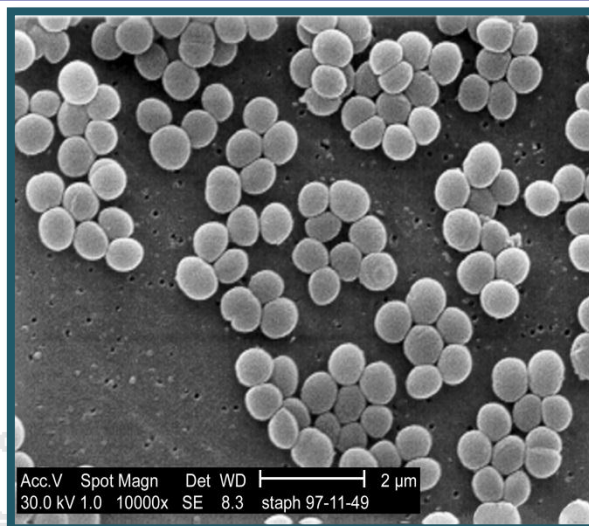
- **Características generales**

Los *Estaphylococcus*, son cocos gram positivos de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, con agrupación irregular que semejan racimos de uvas como consecuencia de su división irregular en los tres planos de espacio. Si bien se trata de microorganismos inmóviles y no esporulados, figuran entre los microbios no esporulados más resistentes. Estos gérmenes pueden tolerar bastante bien la desecación, el calor, las altas concentraciones salinas e incluso algunos antisépticos.<sup>27</sup>

Los *Estafilococos* son microorganismos aerobios facultativos catalasa-positivos. Aunque en los exámenes microscópicos del material de cultivo no se visualiza una capsula, se cree que in vivo puede presentar esta estructura estos microorganismos se desarrollan bien en diferentes medios de cultivo con una amplia variación térmica, fermentan azúcares con producción de ácido láctico pero no de gas.<sup>26</sup>

**Figura 2. Tinción de Gram: Cocos Gram positivo, agrupados en racimos irregulares.**<sup>27</sup>





*Figura 3. Microfotografía, tomada con un microscopio electrónico de barrido. Se observa morfología de coco, carencia de flagelo y asociación en racimos.*<sup>27</sup>

- **Factores de Patogenicidad**

Cualquier enfermedad infecciosa es el resultado de la interacción entre el microorganismo causal y el huésped. Primero analizaremos los factores de patogenicidad con que cuenta *S. Aureus*. Estos pueden ser divididos en tres grupos:

- *Enzimas:*

- Catalasa: podría funcionar inactivando algunos sistemas de ingestión de los PMN.
- Coagulasas: tanto la coagulasa libre como el llamado “clumping factor” actúan cubriendo a la célula de fibrina y por tanto haciéndola más resistente a la opsonización y fagocitosis.
- Estafiloquinasas: degradan la fibrina y contribuyen a la invasión de tejidos vecinos.
- Hialuronidasa: hidroliza la matriz intracelular de mucopolisacáridos de los tejidos y por tanto contribuye a la diseminación a tejidos adyacentes.
- Lipasas: las cepas de *S. aureus* productoras de forunculosis crónica son potentes productoras de lipasas que ayudan al microorganismo a diseminarse por los tejidos cutáneo y subcutáneo.
- Fosfolipasa C: esta enzima está asociada con cepas recuperadas de pacientes con distrés respiratorio del adulto y coagulación intravascular diseminada. Aparentemente los tejidos afectados por esta enzima se vuelven más susceptibles al daño y destrucción por componentes bioactivos del complemento y sus productos durante su activación.<sup>23</sup>

- Toxinas: *S. aureus* puede producir toxinas de acción general como las hemolíticas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) y la leucocidina, y también toxinas especializadas como las exfoliatinas, toxina del shock tóxico y enterotoxinas. Las hemolisinas son importantes toxinas citolíticas sobre una variedad de células.
- $\alpha$  hemolisina o  $\alpha$  toxina: tiene efecto letal sobre una variedad de membranas celulares eucariotas, incluyendo la de PMN.
- $\beta$  hemolisina: es una esfingomielinasa activa sobre diferentes células: leucocitos, eritrocitos, fibroblastos.
- $\gamma$  y  $\delta$  hemolisinas: se encuentran en algunas cepas de *S. aureus* y lisan una variedad de células diferentes.
- Leucocidina: es una exotoxina con efecto tóxico directo sobre las membranas de los PMN humanos, causando degranulación del citoplasma, hinchamiento celular y lisis. El modo de acción de esta toxina comprende la formación de poros que alteran la permeabilidad celular para el potasio y otros cationes. Una inyección de esta toxina en modelos animales produce una disminución severa del número de leucocitos.
- Exfoliatinas o toxinas epidermolíticas: son producidas por algunas cepas de *S. aureus* y consisten en dos proteínas, bioquímica e inmunológicamente diferentes, pero con funciones biológicas similares. La exfoliatina A es un producto de genes cromosómicos, termoestable y es inactivada por el EDTA, mientras la exfoliatina B es de origen plasmídico, es inactivada por el calor y estable frente al EDTA. Ambas tienen actividad proteolítica, actúan como superantígenos y disuelven la matriz mucopolisacárida.<sup>23</sup>

**Cuadro 2.** Determinantes de la patogenicidad de *S.aureus*<sup>23</sup>

Determinantes de la patogenicidad	Propiedades
Componentes de la Pared Celular <ul style="list-style-type: none"> <li>• Peptidoglicano</li> <li>• Ácidos teitóicos</li> <li>• Proteína A</li> <li>• Cápsula mucoide</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación del complemento</li> <li>• Antifagocítica</li> <li>• Antifagocítica</li> <li>• Adherencia</li> </ul>
Enzimas <ul style="list-style-type: none"> <li>• Coagulasa</li> <li>• Estafiloquinasas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formación del absceso</li> <li>• Destrucción del coágulo</li> <li>• Invasión hística</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hialuronidasa</li> <li>• Lipasas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonización</li> </ul>
<p>Toxinas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemolisinas</li> <li>• Leucocidina</li> <li>• Toxina exfoliativa</li> <li>• Toxina de shock tóxico</li> <li>• Enterotoxinas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rotura de la membrana celular</li> <li>• Alteración de la permeabilidad celular de fagocitos</li> <li>• Epidermólisis</li> <li>• Shock</li> <li>• Intoxicación alimentaria</li> </ul>

c) *Cándida Albicans*

- **Taxonomía**

Los microorganismos involucrados como agentes etiológicos de la Candidiasis, se encuentran actualmente clasificados taxonómicamente de la siguiente forma: <sup>28</sup>

<b>Reino:</b>	Hongo
<b>División:</b>	<i>Deuteromycota</i>
<b>Clase:</b>	<i>Blastomycetes</i>
<b>Familia:</b>	<i>Cryptococcaceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Cándida</i>
<b>Especies</b>	<i>Albicans</i>

El Género *Cándida* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular.<sup>28</sup>

Solamente una docena de las especies pertenecientes al género *Cándida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C, y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr (pseudotropicalis)*, *C. krusei*, *C. guillermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanvides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.<sup>28</sup>



- **Características Generales**

Las especies cándida crecen como células de levaduras típicas de 4-6 micras redondas u ovaladas con gemación en la mayoría de las condiciones y en casi toda las temperaturas, crecen en condiciones de anaerobiosis en medios de cultivo a pH con rango entre 2,5 y 7,5 y la temperatura oscila entre 20° y 38°, el crecimiento de colonias se puede detectar entre 48 y 72 horas después de la siembra.<sup>29</sup>

Los microorganismos del genero cándida son oportunistas se encuentran como comensal en la cavidad oral, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre. Las colonias de esta especie se observan macroscópicamente: color crema cerosa, húmedas, redondas. Y microscópicamente son blastosporas redondas ovoides.<sup>28,29</sup>

- **Factores de Patogenicidad**

La *Cándida Albicans* tiene varios factores de virulencia para colonizar al hospedero y ocasionar daños de forma directa al activar, resistir o desviar los mecanismos de defensa del mismo. Esto atributos que contribuyen a la patogénesis de *Candida albicans* incluye la morfogénesis, anición entre las células levaduras unicelulares y las formas de crecimiento filamentosas), las enzimas secretadas aspartil proteasas (SAP) y fosfolipasas y las biomoléculas de reconocimiento del hospedero (adhesinas), que le permiten iniciar el proceso de formación de biopelículas. Así mismo, el cambio de fenotipo se acompaña por alteraciones en la expresión de antígenos, morfología colonial afinidades de *Cándida Albicans* a los tejidos.<sup>29</sup>

Especies de *Cándida* pueden también bloquear la actividad de neutrófilos polimorfo nucleares llegando a producir radicales libres y desgranulación, además puede causar la muerte de monócitos. Este hongo también es capaz de evadir células de defensa del huésped a través de la producción de proteinasas que degradan factores del complemento causando cambios en la permeabilidad vascular y en las inmunoglobulinas IgG, IgA, también ocurre estimulación de la síntesis de citocinas pro-inflamatorias, estimulando macrófagos, células endoteliales y fibroblastos.<sup>22</sup>

- **Cándida Albicans en lesiones periapicales**

La *Cándida albicans*, dentro de la amplia variedad de hongos presentes en la microbiota oral, es la más común, siendo que los conductos radiculares también son un local de colonización de estos hongos. Su participación ya fue demostrada en infecciones endodónticas, teniendo participación como organismo oportunista en infecciones perirradiculares. La adaptabilidad a variados ambientes así como la adhesión a varios tipos de superficies, producción de enzimas hidrolíticas (proteinasas, fosfolipasas, aminopeptidasas, glucosaminidasas, hialuronidasa), formación de biopelícula y la inmunomodulación de la defensa del huésped son los principales mecanismos que justifican la patogenicidad de estos hongos. La *Cándida albicans* también tiene capacidad de congregarse a bacterias bucales como *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium* e *Enterococcus faecalis* formando comunidades mixtas extremadamente dañosas a la cavidad oral.<sup>22</sup>

### 2.1.3.3. Plantas medicinales

El empleo de plantas como tratamiento de diversos males (Fitoterapia), se registra desde tiempos muy remotos, basándose en creencias populares y conocimientos tradicionales, transmitidos de generación en generación. A pesar de los avances en la producción de la medicina moderna, las plantas medicinales no han perdido su importancia. Por el contrario el desarrollo de los medicamentos modernos ha sido resultado de las formas cada vez más complejas de aprovechar las plantas medicinales y su producción sigue dependiendo en gran parte del uso de plantas como materia prima por lo tanto hoy en día, muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente, en base a la extracción de sus principios activos, con diversas actividades biológicas. Así tenemos por ejemplo que una de las sustancias más comunes la aspirina se saca de la corteza del sauce.<sup>30</sup>

El valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química (principio activo) que produce un efecto fisiológico. Mucho de los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados. Por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sáptgeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas.<sup>13</sup>



### 2.1.3.3.1. *Minthostachys Mollis* Griseb (Muña)

- **Taxonomia**

**Dominio:** Eukarya

**Reino:** Vegetal

**Sub reino:** Embryophyta

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Sub clase:** Methachlamydeae

**Orden:** Tubiflorae

**Familia:** Lamiaceae (Labiatae)

**Género:** *Minthostachys*

**Especie:** *mollis*

**Nombre común:** “Muña”

#### 2.1.3.3.1.1. Descripción general de *Minthostachys mollis* (muña)

La muña es una planta arbustiva leñosa oriunda del Perú su nombre científico es *Minthostachys mollis*. Es una especie cuyo cultivo es muy difundido en las regiones andinas, especialmente en Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno siendo muy empleada por las comunidades nativas y campesinados de Sudamérica. Además es conocida como peperina en Argentina y orégano en Colombia, encontrándose también en Venezuela, Brasil, Ecuador y Bolivia, habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymara tiene 2 nombres: “Coa” y “Huaycha”. Debido a sus características semejantes al póleo y orégano, los españoles la denominaban poleo silvestre. Otros nombres comunes con los que se le conoce a esta planta son: "Muña negra", "Polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon", "Orcco-muña".<sup>31</sup>

Alcanza una altura de 1.50 m., desarrollándose en forma difusa y muy ramificada, crece en lugares cercanos a acequias, manantiales sin tener grandes requerimientos de agua. Se desarrolla en suelos arenosos, ricos en materia orgánica, bien drenados, con buena retención de humedad, con un pH entre 5 - 8 y un clima con elevada luminosidad, florece en época de lluvia, se multiplica por semilla y por codo. Así como es una planta

hemiscriptófila que durante la época más fría del invierno y seco desaparecen sus órganos aéreos para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera.<sup>31</sup>

#### **2.1.3.3.1.2. Características Botánicas de *Minthostachys mollis* (muña)**

Es una planta arbustiva, leñosa, frondosa en la parte superior, de aspecto general glauco, erecta y pubescente, su tallo es ramificado desde la base. La hoja es el elemento vegetativo simple ligeramente aserrado, carece de estípulas, cortamente pedunculares de filotaxia opuesta. Su peciolo mide entre 4 y 6 mm de largo, pubescente acanalada en la parte superior y convexo en la parte inferior, es aquí donde se deposita la mayor cantidad de aceite, que al estrujarlos dejan sentir su aroma característico.<sup>31</sup>

#### **2.1.3.3.1.3. Principales moléculas con acción bactericida presentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)<sup>31</sup>**

- *Pulegona*

Uno de los componentes más importantes del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y también de muchos aceites, pero es mejor conocido por pulegium poleo (*Mentha*). Es altamente tóxico en grandes cantidades, daña el hígado y puede provocar el aborto. Su toxicidad probablemente explica algunos de los efectos del aceite de *Minthostachys mollis* contra las plagas y parásitos. La sustancia también se usa en perfumería y saborizantes.<sup>31</sup>

- *Carvacrol*

Se han encontrado para ser componentes dominantes en una menor proporción de los estudios de los aceites de *Minthostachys mollis*. Carvacrol también se encuentra en varias hierbas conocidos como el orégano (*Origanum vulgare*), la ajedrea de verano (*Satureja hortensis*) o tomillo (*Thymus serpyllum*), y es sobre todo un valor para sazonar.<sup>31</sup>

- *Linalol*

Empleado como condimento y como insecticida, linalol es más conocido de cilantro (*Coriandrum sativum*) de la familia Apiaceae. A menudo es uno de los componentes menores del aceite de *Minthostachys mollis*.<sup>31</sup>

- *Timol*

Como su nombre lo sugiere, esta sustancia es bien conocida de los aceites de distintas especies de tomillo. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. A veces se encuentra como un componente menor en el aceite de *Minthostachys mollis*.<sup>31</sup>

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

La medicina popular no podía dejar de beneficiarse con tantas virtudes curativas y alimenticias. Se sabe que es una especie de múltiples aplicaciones, muchas de las cuales permanecen aún en el misterio. Los médicos de una sociedad ágrafa como la Inca, los galenos amautas, se las llevaron por lo visto consigo; su empleo como infusión o mate (hojas y flores) es imprescindible para aliviar malestares estomacales, flatulencias, afecciones diarreicas, vómitos y afecciones reumáticas, además posee propiedades sedantes y hemostáticas. En casos de soroche o mal de altura ayuda a liberar los bronquios y disipar el mareo, estimula la prevención de la mayoría de problemas respiratorios y ayuda a descongestionar las vías respiratorias, es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas.<sup>31</sup> Asimismo ayuda a eliminar los parásitos intestinales. También se emplea como saborizante y aromatizante en la elaboración de licores y bebidas amargas.<sup>31</sup>

Los indígenas del Perú la emplearon como resolutiva de tumores y sus hojas mezcladas con chilca eran recomendadas en fracturas de huesos. Es así como las hojas de muña contribuyen en la curación de fracturas, luxaciones y tumores ocasionados por golpe. Actualmente también los hueseros logran recuperaciones asombrosas aplicando su aceite esencial en luxaciones y frotaciones antirreumáticas.<sup>31</sup>

Sus poderosas propiedades bactericidas han sido útiles, durante milenios, para conservar la papa contra las plagas en la germinación de sus semillas y también, durante su almacenamiento porque tiene un fuerte efecto repelente sobre los "gusanos de tierra" que devoran los tubérculos, tallos, hojas y es antimoho; de igual manera protege al maíz, col y cebolla.<sup>31</sup> En algunos lugares de Colombia la emplean en el campo pecuario para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos y ganado, además para curar sarna en equinos y camélidos. Es recomendable como repelente contra las pulgas y podría igualmente utilizarse para el control del gorgojo del frijol, también para la fumigación de insectos molestos como zancudos y moscas.<sup>31</sup>

#### **2.1.3.3.2. Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son productos volátiles de naturaleza compleja, elaborados por ciertos vegetales a los que confieren un aroma agradable. Oficialmente, se denominan aceites esenciales a los productos que se pueden obtener por arrastre con corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio de ciertos frutos.<sup>31</sup>

Los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente aunque algunos solidifican a baja temperatura como, por ejemplo, la esencia de anís. La mayoría son prácticamente transparentes, incoloros o ligeramente coloreados (amarillentos) con excepciones como la esencia de manzanilla, que contiene camazuleno de un intenso color azul. Algunos aceites esenciales son inflamables. Generalmente, son menos densos que el agua aunque también hay excepciones como las esencias de clavo y de canela, que son más densas. Los aceites esenciales suelen ser insolubles en agua. Los aceites esenciales son lipófilos y solubles en disolventes orgánicos apolares (hexano, eter etílico, etc.). La solubilidad en alcohol es variable y suelen ser solubles en alcoholes de alta graduación. Se oxidan con facilidad y polimerizan dando productos resinosos.<sup>31</sup>

#### **a) Localización del aceite esencial en las plantas**

Se producen y se almacenan en células glandulares, que tapizan el interior de las hojas y tallos, en pelos glandulares de las plantas o en otras células especializadas. Pueden estar ubicados en diferentes partes de la planta; por ejemplo, en las coníferas esta en todo el tejido; en la rosa solo en el pétalo; en el comino en las semillas; en el clavo de olor en el brote o yema; en la lima en los frutos, en la lima en los pelos glandulares de las ramas y hojas.<sup>31</sup>

#### **b) Composición química de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales son generalmente mezclas complejas de varias sustancias (a veces más de 200) que a su vez pueden tener estructuras muy diversas. Respecto a la formación y evolución de los aceites esenciales en las plantas es necesario tener en cuenta algunos aspectos externos, que pueden afectar la composición química de las esencias de manera cualitativa y cuantitativa, entre ellos, se pueden destacar los siguientes:

- Condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, pluviosidad.
- Labores culturales: uso de fertilizantes, abonos y pesticidas.
- Parte y estado de desarrollo fenológico de la planta.
- Época de recolección.

- Modo de almacenamiento y manejo del material vegetal: fresco, seco, fermentado, tratamiento post cosecha.
- Modo de obtención del aceite: destilación o expresión.
- **Los compuestos presentes en los aceites esenciales se pueden clasificar en: terpenoides y no terpenoides.**
- **Terpenoides:** Los compuestos terpénicos proceden de la condensación del isopreno (C5) y pueden tener o no oxígeno. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos: monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15), que pueden ser aromáticos o alifáticos. Los que poseen oxígeno son terpenos funcionalizados con función alcohol, fenol, aldehído, cetona, éter, éster o peróxido.<sup>31</sup>
- **No terpenoides:**
  - Sustancias volátiles alifáticas.
  - Sustancias volátiles aromáticas.
  - Sustancias con estructura C6 – C1.
  - Sustancias con estructura C6 – C3.
  - Derivados cumarínicos.

Las sustancias C6-C1 y C6-C3 son sustancias volátiles de bajo peso molecular, generalmente oxigenadas con funciones alcohol, fenol, ácido o éter.<sup>31</sup>

Sustancias nitrogenadas: son poco frecuentes. Hay aminas alifáticas volátiles (metilamina, etilamina, etc.) que tienen olor a pescado y derivados del indol que tiene olor fecal (heces).<sup>31</sup>

Sustancias con azufre: son todavía menos frecuentes que las sustancias nitrogenadas. Ciertas especies contienen isotiocianatos ( $R-N=C=S$ ) y otras contienen sulfuros ( $R-S-R$ ) o disulfuros ( $R-S-S-R$ ).<sup>31</sup>

### c) **Propiedades biológicas de los aceites esenciales**

Desde la antigüedad, las especies aromáticas y sus aceites esenciales se han empleado en preparaciones culinarias no sólo como agentes saborizantes y aromatizantes, sino también como conservantes naturales inhibiendo el deterioro oxidativo y los daños causados por

bacterias, hongos u otros microorganismos; de esta manera, actualmente, las industrias de alimentos y cosméticos han disminuido el uso de conservantes sintéticos, reemplazándolos por sustancias de origen natural, por tal motivo, el conocimiento de las actividades antimicrobianas, antioxidantes y citotóxicas son importantes para la aplicación de los aceites esenciales en las diferentes industrias.

Las acciones farmacológicas son muy variadas tanto en su utilización por vía tópica como por vía interna. Las acciones más frecuentes son:

- **Antisépticos:** Frente a microorganismos gram positivos y gram negativos e incluso frente a hongos productores de micosis y ciertas levaduras. El poder antiséptico es variable según las características estructurales de los componentes del aceite esencial, en cual puede tener:<sup>31</sup>
  - Elevado poder antiséptico: aceites que poseen componentes con un grupo fenol.
  - Poder antiséptico medio: aceites que poseen componentes con función alcohol.
  - Bajo poder antiséptico: aceites que poseen componentes con función cetona.
- **Antiespasmódicos:** Disminuyen los espasmos gastrointestinales y aumentan las secreciones gástricas, por lo que se usan sobre el aparato digestivo como eupécticos (facilitan la eliminación de gases), digestivos, estomacales, colagogos (facilitan la salida de bilis de la vesícula biliar al duodeno) y coleréticos (facilitan la secreción de bilis por parte de las células hepáticas). Suelen aumentar las ganas de comer (aperitivos) porque aumentan las secreciones salivares y gástricas.<sup>31</sup>
- **Sedantes:** Algunos componentes de los aceites esenciales tienen acciones sedantes en estados de nerviosismo o ansiedad.<sup>31</sup>
- **Acción irritante:** Algunas esencias aplicadas por vía tópica tienen un efecto rubefaciente, es decir, aumentan la circulación capilar y epidérmica y producen un enrojecimiento. Otros aceites son cicatrizantes y vulnerarios. Aplicados por vía interna actúan sobre el árbol bronquial, fluidificando las secreciones respiratorias y facilitando su eliminación, y son por tanto expectorantes; también pueden actuar sobre el aparato renal



ejerciendo una acción diurética que generalmente no suele aprovecharse porque, como efecto indeseable, suelen producir hematuria (emisión de orina con sangre).<sup>31</sup>

- **Analgésicos:** Ciertas esencias aplicadas por vía tópica presentan una acción analgésica frente a dolores musculares, dolores en las articulaciones, etc. También surten un efecto antiinflamatorio.<sup>31</sup>

#### d) **Actividad Antimicrobiana De Los Aceites Esenciales**

Los aceites esenciales, compuestos extraídos de varios tipos de plantas y usados para preservar alimentos y bebidas, tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de microorganismos. En su estudio Walton y col. demostró que el extracto destilado del ajo tiene efectos bactericidas y bacteriostáticos. Se conoce de la actividad antimicrobiana de varias especies vegetales en forma de extractos o hierbas aromáticas en los alimentos, inhiben la formación vegetativa de esporas, detienen el crecimiento de elementos patógenos y levaduras.<sup>13</sup>

#### e) **Mecanismo De Acción Del Aceite Esencial Sobre Los Microorganismos**

Este mecanismo de acción hacia los microorganismos es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado. El modo de acción de los aceites esenciales también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos. Kakrani y col. establecieron, *in vitro*, la actividad antimicrobiana, antiparasitaria y antimicótica de los aceites esenciales de *Agliodoratissima*. Las investigaciones plantean que los aceites esenciales interferirían la fase del metabolismo intermedio de los microorganismos inactivando enzimas de reacción.<sup>13</sup>

#### f) **Extracción del aceite esencial**

Para obtener la fracción cromática del material vegetal, a lo largo de los años, se usaron diferentes procesos. Motle en su estudio consideraba los siguientes métodos:

- Extracción por expresión
- Extracción por solución
- Con grasas sólidas y frías
- Con grasas líquidas y calientes



- Con solventes volátiles
- Extracción por destilación
- Extracción por destilación con agua caliente
- Extracción por arrastre de vapor

❖ ***Extracción por destilación al arrastre de vapor***

Esta técnica resulta una de las más simples y económicas para obtener el aceite esencial de este tipo de planta y en general para cualquier otro. Las ventajas de este método son su simplicidad, bajo costo y el hecho de poder maniobrar grandes volúmenes de materia prima.<sup>13</sup>

Este método se fundamenta en que los aceites esenciales son arrastrados por la corriente de vapor de agua que se genera en la fuente de vapor, luego esta mezcla (vapor de agua y aceite) es condensada mediante su paso por un refrigerante de vidrio, para luego separar el aceite del agua por simple diferencia de densidades. La destilación es una operación farmacéutica que tiene por finalidad separar los principios volátiles (contenidos en una mezcla compleja) de los que no lo son. El equipo de destilación está compuesto por un sistema de destilación de doble balón, en el cual solo uno de los balones que contiene agua, es sometido al calor directo; mientras que el segundo balón que contiene la planta licuada recibe los vapores de agua, para luego liberar el vapor mixto (agua-aceite esencial) hacia el condensador.

## 2.1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

### 2.1.4.1. Objetivo General

- Determinar el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) frente a microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico UNA – PUNO 2016.

### 2.1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) puro y en diluciones del 75%, 50% y 25% frente al crecimiento bacteriano de la cepa *Staphylococcus aureus*.
- Establecer el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) puro y en diluciones del 75%, 50% y 25% frente al crecimiento bacteriano de la cepa *Enterococcus Faecalis*.
- Establecer el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) puro y en diluciones del 75%, 50% y 25% frente al crecimiento de *Cándida albicans*.

## 2.1.5. HIPÓTESIS.

- Hi: El aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) tiene efectividad inhibitoria in vitro frente a cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*.
- Ho: El aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) no tiene efectividad inhibitoria in vitro frente a cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*.
- H<sub>a</sub>: El aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) tiene efectividad inhibitoria in vitro frente a alguna cepa de *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* ó *Cándida Albicans*.

## CAPITULO III

### 3.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1.1. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO

- **Experimental** debido a que se contó con un grupo control positivo representado por los discos de papel filtro embebidos con Paramonoclorofenol alcanforado, un grupo control negativo representado por discos de papel filtro embebidos en alcohol etílico al 70°; y un grupo experimental representado por discos de papel filtro embebidos con el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) en concentraciones al 100%, 75%, 50% y 25%.
- **In vitro** porque el estudio se realizó en unos medios de cultivo que sirven para el desarrollo de los microorganismos, y se manejó todo en un laboratorio.
- **Prospectivo** debido a que la recolección de los datos se realizó conforme la ocurrencia de los hechos.
- **Transversal** debido a que las variables fueron observadas en un solo momento de acuerdo a los objetivos de la investigación.

#### 3.1.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

- **Población:** Especies del género: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*, causantes de lesiones periapicales de origen endodóntico.
- **Muestra:** Especies del género: *Staphylococcus Aureus*, *Enterococcus Faecalis* y *Cándida Albicans*, con una reproducibilidad de 40 repeticiones por especie haciendo un total de 120 muestreos.

3.1.3. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	VALOR
Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (Muña a)	Capacidad del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> (Muña). Consistente en inhibir el crecimiento de microorganismos que se desarrollan en un medio dado.	Cuantitativamente	Diámetro de halo de inhibición (Medido en mm)	cuantitativa razón	0 – 30 mm
	Dilución del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> en alcohol etílico		Concentración del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis Griseb</i> “muña” puro	Cualitativa ordinal	Aceite puro
			Concentración del 100% de aceite esencial de <i>Mithostchys Mollis Griseb</i> “muña” en solución de alcohol al 70° en proporción 4:1	Cualitativa ordinal	Aceite al 75%
			Concentración del 100% de aceite esencial de <i>Minthostchys Mollis</i> “muña” en solución de alcohol al 70° en proporción 1:1	Cualitativa ordinal	Aceite al 50%
			Concentración del 100% de aceite esencial de <i>Minthostchys Mollis Griseb</i> “muña” en solución de alcohol al 70° en porción 1:4	Cualitativa ordinal	Aceite al 25%
Microorganismos prevalentes en patologías peri apicales crónicas	Especies que desempeñan un papel preponderante en el desarrollo de la patología endodontica a nivel periapical	Cepas estándares en <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Enterococcus Faecalis</i> y <i>Cándida Albicans</i> .	Crecimiento bacteriano de la cepa	Cualitativa Nominal	Si No

### 3.1.4. MÉTODOS

#### 3.1.4.1. Método para la obtención el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* Griseb (muña) mediante extracción etanólica.

##### 3.1.4.1.1. Primera Etapa:

###### a) Recolección del material vegetal

Procedimiento:

- Se procedió a la recolección de la muña en horas de la mañana en el distrito de Jayllihuaya, ubicado a 10 Km de la ciudad de Puno.
- Se cortó los tallos con tijeras de podar, los que fueron colocados en bolsas.

##### 3.1.4.1.2. Segunda Etapa:

###### a) Extracción por arrastre de vapor del aceite esencial

Procedimiento:

- La muña se transportó al laboratorio, se depuró la muestra limitándose a flores, talluelos y hojas frescas, enseguida se procedió a depositar el material orgánico en la cámara de contención de materia prima del equipo de extracción de aceite esencial. La obtención del aceite esencial se efectuó con el método por arrastre de vapor de agua, que es el más recomendable por no usar ningún solvente. La cantidad total que entró en el equipo de destilación fue de 2.5 kg. de materia prima. Después de la condensación, el destilado de aceite esencial de *Minthostachys Mollis* Griseb (Muña) se recibió en un depósito estéril y cerrado, mientras que el agua continuó su camino en el equipo para su posterior transformación en vapor. El aceite se separó y se depositó en un frasco ámbar estéril y se dejó refrigerar.

#### 3.1.4.2. Método de recolección y cultivo de muestra de conducto radicular

##### a) Pasos previos:

Se prepararon los medios de transporte y de cultivo (caldo tioglicolato)

**b) Procedimiento:****- Selección de muestra**

Los pacientes que recibieron terapia endodóntica presentaron piezas dentarias con diagnóstico de Periodontitis apical crónica. Se seleccionó piezas dentarias sin tratamiento endodóntico previo: determinado clínicamente por presencia de una lesión cariosa, cambio de coloración y respuesta negativa a las pruebas de vitalidad pulpar al frío y al calor, existió presencia de lesión periapical, que fue determinado por presencia de una imagen radiolúcida perirradicular en la radiografía periapical.

**- Aislamiento y apertura cameral:**

Luego de realizar el diagnóstico se procedió a realizar el aislamiento absoluto de la pieza dentaria con dique de goma y uso de clamps; con la subsiguiente desinfección de la misma (corona clínica y campo quirúrgico) por medio de la acción bactericida del etanol 70° para así evitar falsos positivos.

Después se procedió a realizar la apertura cameral con el uso de fresa redonda mediana de grano grueso, y a desinfectar la porción coronal de la cámara pulpar con etanol 70°, previo aislamiento de ésta por medio de una bolilla de algodón.

**- Toma de muestra**

- Se empleó 2 ml. de suero fisiológico al 9% como solución irrigadora en la cámara pulpar y en el canal radicular por considerarla inocua para los microorganismos presentes.

- Se realizó un leve debridamiento por 30 segundos con una lima Kerr #10 y así se pudo conseguir una máxima suspensión de bacterias en el medio.

- Luego se insertó puntas de papel seco y estéril dentro del conducto radicular por un espacio de 3 segundos.

- La muestra que se obtuvo se colocó inmediatamente dentro de viales conteniendo el medio de transporte (caldo de tioglicolato) y se transportó la muestra al laboratorio para su cultivo en medio agar Schaedler. Este paso se realizó en un tiempo no mayor de 15 minutos.

### 3.1.4.3. Metodología para la identificación de *Staphylococcus Aureus*

La presente técnica para la detección de *Staphylococcus Aureus*, se realizó de acuerdo a los siguientes procedimientos:

#### a. *Cultivar en agar sangre.*

- Preparación del Agar Base

Se suspendió 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Se dejó reposar 5 minutos y se mezcló perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Luego se calentó con agitación frecuente y se puso a hervir 1 minuto. Se dejó enfriar a 45-50°C.

- Preparación de la placa de Agar Sangre:

A temperatura de 45 -50°C se agregó 5% de sangre desfibrinada, se homogenizó y se distribuyó en las placas.

- Siembra

Se realizó por inoculación directa del material en estudio, sobre la superficie del medio de cultivo por medio de un asa de kolle.

- Incubación

El tiempo, temperatura de incubación, fue de 37° por 24 horas.

- Observación del crecimiento bacteriano

Pasadas las 24 horas se observaron colonias betas hemolíticas, medianas, blancas, cremosas, brillantes.

#### b. *Método de Gram*

- Se procedió a colocar una gota de agua destilada en una lámina portaobjetos, enseguida con el asa de kolle se tomó una pequeña cantidad de cultivo bacteriano del medio sólido de agar sangre y se transfirió a la lámina portaobjetos. Se removió la mezcla con el asa de siembra hasta formar una suspensión homogénea, para



facilitar su secado se pasó la lámina portaobjetos por encima del fuego del mechero de tal manera que la muestra sea fijada.

- **Tinción Primaria:** Se utilizó Cristal Violeta, que tiñó todas las células de la lámina portaobjetos de color morado, se dejó fijar durante 1 minuto aproximadamente y se procedió a lavar con agua destilada.
- **Mordiente:** se utilizó lugol, esparciéndolo por toda la lámina portaobjetos y se dejó fijar durante 2 minutos aproximadamente, para intensificar el color teñido. Posteriormente se procedió a lavar con agua destilada.
- **Agente decolorante:** Se utilizó acetona, la cual fue disuelta en toda la lámina portaobjetos, se dejó secar durante 2 minutos aproximadamente y se lavó con agua destilada.
- **Tinción de Contraste:** Se procedió a aplicar safranina sobre la lámina portaobjetos, se dejó fijar durante 2 minutos y enseguida se lavó con agua destilada y se dejó secar la lámina portaobjetos.
- Por último se examinó al microscopio con el objetivo 100X de inmersión de aceite, observándose cocos Gram positivos, además se observó asociación en racimos irregulares (similar aún racimo de uvas).

**c. Prueba de catalasa**

- Con ayuda del asa de kolle se tomó una colonia del cultivo bacteriano, se depositó en la lámina portaobjetos, enseguida se agregó una gota de Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30%, entonces se observó la formación de burbujas lo cual indica catalasa positiva. Esta prueba confirmó la presencia de *Staphylococcus*.

**d. Identificación en medio manitol salado**

- Para el aislamiento del *Staphylococcus Aureus* se continuó con el cultivo del *Staphylococcus spp* en agar manitol salado:
- Se procedió a echar 15 ml de agua destilada en una probeta.
- Con la ayuda de una balanza se pesó 1.7 gr de agar manitol salado (polvo).
- Se vertió el agua destilada y el polvo en un matraz, se homogenizó la mezcla.
- Enseguida se calentó el matraz con ayuda de una cocinilla eléctrica realizando movimientos circulares hasta alcanzar su punto de ebullición.

- Posteriormente se procedió a verter la mezcla en la placa Petri de vidrio (30 ml) y se dejó enfriar.
- Luego con el asa de kolle esterilizada, se tomó una muestra del *staphylococcus spp* y se procedió al sembrado en el agar manitol salado con movimientos en forma de “v” y expansivos.
- Incubación a 37°C por 24 horas.
- Después de 24 horas se observó el crecimiento bacteriano encontrándose gran parte de la placa Petri de coloración amarilla (manitol positivo), lo cual indica la presencia de *Staphylococcus Aureus* o de *Staphylococcus Saprophyticus*, esto por acidificación del medio manitol salado; además la presencia del *Sthaphylococcus Epidermidis* en la parte de coloración rosa del medio manitol salado y se prosiguió con el aislamiento del *Staphylococcus Aureus*.

#### e. Prueba de Coagulasa en placa

Para la detección de *Staphylococcus Aureus* se requiere realizar la prueba de la coagulasa, que nos permite diferenciar de manera definitiva al *Staphylococcus Aureus* de otras especies del género *Staphylococcus*:

- Se colocó una gota estéril de agua destilada en la lámina portaobjetos y con la ayuda del asa de kolle se tomó una colonia de *Staphylococcus* del medio manitol salado y se mezcló suavemente con el agua en la lámina portaobjetos y se agregó plasma humano, se mezcló nuevamente, enseguida se observó la formación de aglutinados de color blanco lo que indica coagulasa positiva, lo que indicó el termino del aislamiento del *Staphylococcus aureus*.

#### 3.1.4.4.Método para la identificación de *Enterococcus Faecalis*

##### a) Medio de cultivo bilis esculina

A partir de la muestra obtenida, a través del uso del asa de kolle se procedió a la inoculación directa del material biológico al tubo de ensayo con agar bilis esculina, tocando el fondo y extendiéndolo sobre la superficie del mismo.

- Incubación:

El tiempo y temperatura de incubación, fue de 37° por 24 horas

- Interpretación de resultados analíticos:

Se observó un oscurecimiento o ennegrecimiento del medio de cultivo por lo cual se obtuvo bilis esculina positivo, lo que indicó tener posiblemente *Enterococcus Faecalis* en proceso de aislamiento se continuo con el proceso de aislamiento.

**b) Cultivar en agar sangre.**

- Preparación del Agar Base

Se suspendió 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Se dejó reposar 5 minutos y se mezcló perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Luego se calentó con agitación frecuente y se puso a hervir 1 minuto. Se dejó enfriar a 45-50°C.

- Preparación de la placa de Agar Sangre:

A temperatura de 45 -50°C se agregó 5% de sangre desfibrinada, se homogenizó y se distribuyó en las placas.

- Siembra

Se realizó por inoculación directa del material en estudio, sobre la superficie del medio de cultivo por medio de un asa de kolle.

- Incubación

El tiempo, temperatura de incubación, fue de 37° por 24 horas.

- Observación del crecimiento bacteriano

Pasadas las 24 horas se observaron colonias alfa hemolíticas, medianas, opacas y blancas.

**c) Método de Gram**

- Se procedió a echar una gota de agua destilada en una lámina porta objetos, enseguida con el asa de kolle se tomó una pequeña cantidad de cultivo bacteriano en medio sólido de agar sangre y se transfirió a la gota de agua en la lámina portaobjetos. Se removió la mezcla con el asa de siembra hasta formar una suspensión homogéneo, para facilitar su secado se pasó la lámina portaobjetos por encima del fuego del mechero de tal manera que la muestra sea fijada.

- **Tinción Primaria:** Se utilizó Cristal Violeta, que tiñó todas las células de la lámina portaobjetos de color morado, se dejó fijar durante 1 minuto aproximadamente y se procedió a lavar con agua destilada.
- **Mordiente:** se utilizó lugol, esparciéndolo por toda la lámina portaobjetos y se dejó fijar durante 2 minutos aproximadamente yodo para intensificar el color teñido. Posteriormente se procedió a lavar con agua destilada.
- **Agente decolorante:** Se utilizó acetona, la cual fue disuelta en toda la lámina portaobjetos, se dejó secar durante 2 minutos aproximadamente y se lavó con agua destilada.
- **Tinción de Contraste:** Se procedió a aplicar safranina sobre la lámina portaobjetos, se dejó secar durante 2 minutos y enseguida se lavó con agua destilada y se volvió a dejar secar la lámina portaobjetos.
- Por último se examinó al microscopio con el objetivo 100X de inmersión de aceite, observándose bacterias gram positivas con forma cocobacilar, que se presentaron aisladas, en parejas o cadenas cortas.

**d) Prueba de catalasa**

- Con ayuda del asa de kolle se tomó una colonia del cultivo bacteriano, se depositó en la lámina portaobjetos, enseguida se agregó una gota de Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30%, entonces se observó que no hubo formación de burbujas lo cual indica catalasa negativa. Esta prueba confirmó la presencia de *Enterococcus spp.*

**e) Cultivo en Agar MacConkey con Sorbitol**

- El crecimiento de esta bacteria en este agar, debido al sorbitol indicó el aislamiento del *Enterococcus faecalis* de otros *enterococcus*:
- Se disolvió 10.5 gramos de agar MacConkey con Sorbitol en 100 ml de agua destilada. Se calentó con la ayuda de una cocinilla eléctrica, agitando la mezcla hasta ebullición, para su total disolución, se dejó enfriar ligeramente y se procedió a verter la mezcla en la placa Petri.
- Posteriormente con el asa de kolle esterilizada, se tomó una muestra del *Enterococcus spp* y se procedió al sembrado en el agar MacConkey con Sorbitol con movimientos en forma de “v” y expansivos.
- Incubación a 37° C por 24 horas.
- Pasadas las 24 horas se observó el crecimiento de colonias de *Enterococcus faecalis* (sorbitol positivo) debido a que otras especies de *Enterococcus* no desarrollan debido a que son sorbitol negativo. Es así que se observó colonias de *Enterococcus faecalis* opacas y blancas. De esta manera se culminó con el aislamiento del *Enterococcus Faecalis*.

### 3.1.4.5. Método para la identificación de *Cándida Albicans*

#### a. Procedimiento

- Se suspendió un inóculo de la muestra obtenida mediante el uso del asa de kolle con en 0,5 mL de suero humano. Incubar a 37 °C por 2h y 30 min.
- Se colocó 2 ó 3 gotas de la suspensión en una lámina portaobjeto y se cubrió con lámina cubreobjeto y se observó al microscopio con objetivo de 40X y se observó una estructura elongada originadas a partir de la levadura

#### b. Cultivo en Agar Saboraud

- Se preparó 8 gramos de polvo en 100 ml de agua destilada. Se dejó reposar durante 5 minutos y se mezcló hasta homogenizar.
- Se procedió a calentar la mezcla agitando frecuentemente y se dejó hervir 1 minuto
- Posteriormente se vertió la mezcla en una placa Petri y se dejó enfriar.
- Posteriormente con el asa de kolle esterilizada, se tomó una muestra de *Candida spp* y se procedió al sembrado en el agar Saboraud, con movimientos en forma de “v” y expansivos.
- Incubación a 37° C por 24 horas.
- Después de 24 horas se observó colonias blancas, redondas de contorno irregular, de tamaño pequeño.

#### c. Cultivo en agar papa dextrosa

- *C. albicans* y *C. dubliniensis* tienen comportamiento fisiológico y morfológico similar y la prueba que los diferencia en el laboratorio es el desarrollo a 42 °C en agar papa dextrosa.

#### *Procedimiento*

- Se procedió a mezclar 10 g de agar papa dextrosa con 200 ml de agua destilada. Se dejó reposar durante 10 minutos y se calentó con un mechero agitando frecuentemente hasta alcanzar su punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Luego se dejó enfriar aproximadamente a 45°C. Posteriormente se vertió la mezcla en la placa Petri y se dejó solidificar.
- Posteriormente con el asa de kolle esterilizada, se tomó una muestra de *Candida Spp* del agar saboraud y se procedió al sembrado en el agar papa dextrosa con movimientos en forma de “v” y expansivos.
- Incubación a 42°C por 48 horas.
- Finalmente se observó el crecimiento aislado de la *Cándida Albicans*, que se desarrollaron como células levaduriformes ovaladas.

#### 3.1.4.6.Preparación de los discos de sensibilidad

- Se obtuvieron discos a partir de papel filtro Watman N° 4 con 6 mm de diámetro con un perforador y se colocaron en frascos estériles.
- Las concentraciones del aceite esencial de muña se diluyeron en alcohol al 70%.
- Los discos se empaparon con 20 µl del aceite esencial de muña preparados a diferentes concentraciones (100 mg/ml, 0,75 mg/ml, 0,50 mg/ml, 0,25 mg/ml), luego se dejaron secar. Posteriormente se colocaron en frascos estériles y se diferenciaron las concentraciones de los discos de sensibilidad para evitar confusiones.
- Se colocaron a temperatura ambiente y en un lugar seco hasta su uso.

#### 3.1.4.7.Prueba de susceptibilidad microbiana

##### *Método de difusión en agar según Kirby Bauer*

Procedimiento:

- Se preparó medio agar Mueller Hinton.
- Se vertió el medio en placas Petri estériles aproximadamente 25 ml por placa, se dejó endurecer y se colocó en la incubadora por 24 horas.
- Después de 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, siempre dentro del radio de 10 cm de esterilidad del mechero de alcohol se sumergió un hisopo estéril en la suspensión.
- Se inoculó la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando con el hisopo.
- Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para exceder de humedad.
- Luego se colocó los discos de sensibilidad impregnados en aceite de muña en sus diferentes concentraciones. Con pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa 1 disco de papel de filtro embebido en 10 µl de alcohol al 70% (control negativo), 1 disco de paramonoclorofenol alcanforado (control positivo), 1 disco de papel de filtro embebido en el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* puro, 1 disco de papel de filtro embebido en el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* diluido al 75%, 1 disco de papel de filtro embebido en el aceite esencial de



*Minthostachys Mollis Griseb* diluido al 50%, y 1 disco de papel de filtro embebido en el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* diluido al 25%; entre los discos hubo una distancia no menor de 15 mm y de 1.5 cm del borde de la placa, presionándolos firmemente sobre la superficie del agar; todos estos discos se embebieron previamente en un recipiente por separado, para evitar que las sustancias difundan directamente en la placa.

- Se colocaron las 40 placas petri por especie a 37°C en la incubadora por 48 horas.

#### **3.1.4.8. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)**

- Se procedió a la medición de los halos inhibitorios del aceite de muña en sus diferentes concentraciones con la escala Vernier o pie de rey.

#### **3.1.4.9. Recolección de datos**

- Se realizó una ficha de datos en la cual se anotaron los resultados de la prueba de difusión en agar con discos, clasificándolos dependiendo del resultado. La recolección de los datos se realizó de forma manual y visualmente. Para la medición de los halos se utilizó una regla correctamente calibrada. Se verificó cada una de las fichas para evitar errores u omisiones en los datos que pudieran perjudicar la investigación.



## CAPITULO IV

### 4.1. RESULTADOS

**TABLA N°1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO DE LA ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS GRISEB* EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE EL *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.**

HALO DE INHIBICION DEL STAPHILOCOCCUS AUREUS

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
MUÑA 100%	40	23,350	1,0273	,1624	23,021	23,679	22,1	24,7
MUÑA 75%	40	20,883	,8715	,1378	20,604	21,161	20,1	22,8
MUÑA 50%	40	18,695	1,4843	,2347	18,220	19,170	15,3	22,5
MUÑA 25%	40	12,895	,9933	,1571	12,577	13,213	12,1	14,8
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	40	17,765	,8598	,1359	17,490	18,040	16,2	18,7
Total	200	18,718	3,6576	,2586	18,207	19,228	12,1	24,7

**Fuente: elaboración personal**

#### Interpretación:

Se presenta el valor medio del halo de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) y del paramonoclorofenol alcanforado. Encontrándose una media mayor del halo de inhibición en el aceite esencial de muña al 100% (23,350) y una media menor del halo de inhibición del aceite esencial de muña al 25% (12,895).

**TABLA N°2 ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) UNIFACTORIAL DE LA  
ACCIÓN DEL ACEITE DE MUÑA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES  
Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

HALO DE INHIBICION DEL STAPHILOCOCCUS AUREUS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2438,262	4	609,565	530,633	,000
Dentro de grupos	224,007	195	1,149		
Total	2662,269	199			

**Fuente:** elaboración personal

**Interpretación:**

El ANOVA unifactorial indica que el p-valor o significancia asintótica es menor a 0,05, por lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, la cual indica que existe diferencias entre los 5 grupos de aceites esenciales, con respecto a los halos de inhibición.

**TABLA N°3: PRUEBA POST HOC A TRAVÉS DE HSD TUKEY (COMPARACIONES MÚLTIPLES) DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS GRUPOS DE ACEITES Y SUS EFECTOS SOBRE EL *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

HSD Tukey

(I) ANTIBIOTICO	(J) ANTIBIOTICO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
MUÑA 100%	MUÑA 75%	2,4675*	,2397	,000	1,808	3,127
	MUÑA 50%	4,6550*	,2397	,000	3,995	5,315
	MUÑA 25%	10,4550*	,2397	,000	9,795	11,115
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	5,5850*	,2397	,000	4,925	6,245
MUÑA 75%	MUÑA 100%	-2,4675*	,2397	,000	-3,127	-1,808
	MUÑA 50%	2,1875*	,2397	,000	1,528	2,847
	MUÑA 25%	7,9875*	,2397	,000	7,328	8,647
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	3,1175*	,2397	,000	2,458	3,777
MUÑA 50%	MUÑA 100%	-4,6550*	,2397	,000	-5,315	-3,995
	MUÑA 75%	-2,1875*	,2397	,000	-2,847	-1,528
	MUÑA 25%	5,8000*	,2397	,000	5,140	6,460
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	,9300*	,2397	,001	,270	1,590
MUÑA 25%	MUÑA 100%	-10,4550*	,2397	,000	-11,115	-9,795
	MUÑA 75%	-7,9875*	,2397	,000	-8,647	-7,328
	MUÑA 50%	-5,8000*	,2397	,000	-6,460	-5,140
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	-4,8700*	,2397	,000	-5,530	-4,210
PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	MUÑA 100%	-5,5850*	,2397	,000	-6,245	-4,925
	MUÑA 75%	-3,1175*	,2397	,000	-3,777	-2,458
	MUÑA 50%	-,9300*	,2397	,001	-1,590	-,270
	MUÑA 25%	4,8700*	,2397	,000	4,210	5,530

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

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

Existe una diferencia significativa del tamaño del halo de inhibición producido por los aceites utilizados debido al nivel de significancia encontrado ya que para todos los casos es < 0.05, por lo cual existe diferencia del efecto causado por los aceites sobre el *Staphylococcus Aureus*.

**TABLA N°4: SUBCONJUNTOS DE HOMOGENEIDAD HSD TUKEY BASADOS EN LAS MEDIAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *MINHOSTACHYS MOLLIS GRISEB* (MUÑA) UTILIZADOS EN LA INHIBICIÓN DEL *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

HSD Tukey<sup>a</sup>

ANTIBIOTICO	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
MUÑA 25%	40	12,895				
PARAMONOCLOFENOL ALCANFORADO	40		17,765			
MUÑA 50%	40			18,695		
MUÑA 75%	40				20,883	
MUÑA 100%	40					23,350
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

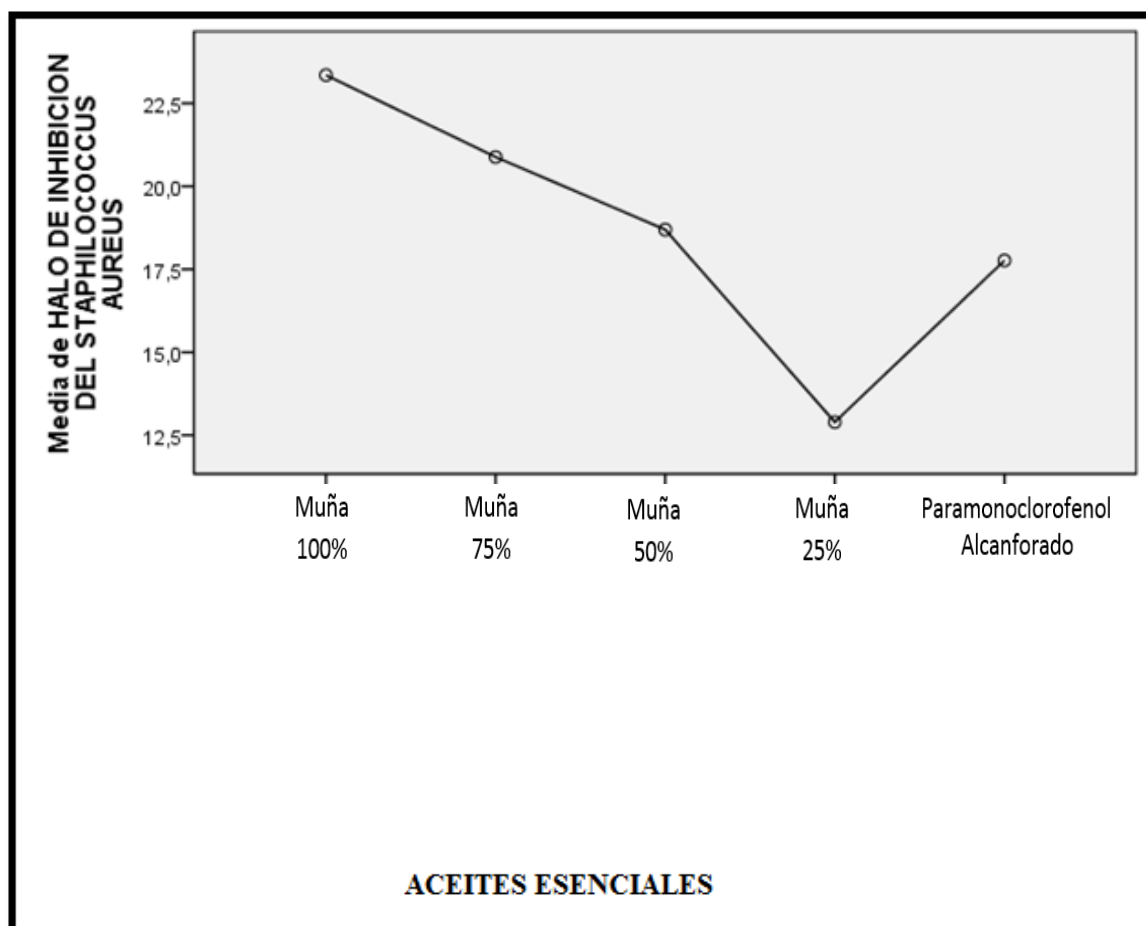
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

Las medias de los halos de inhibición de los aceites esenciales de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) utilizados presentan diferencias significativas entre sí, por lo cual se ubican en subconjuntos de homogeneidad diferentes, así mismo los efectos causados por los aceites esenciales de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre el *Staphylococcus Aureus* fueron diferentes.

**GRÁFICO N°1: DISTRIBUCIÓN DE LAS MEDIAS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* *GRISEB* (MUÑA) EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***



**Fuente:** elaboración personal

**Interpretación:**

Se observa la distribución gráfica de las medias de los diferentes aceites esenciales de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) utilizados contra el *Staphylococcus Aureus*, es así que la media más elevada fue la alcanzada por el aceite de muña al 100%, seguida en segundo el aceite de muña en concentración del 75%. En tercer lugar se encuentra la concentración al 50%, en cuarto lugar se encuentra el Paramonoclorofenol Alcanforado y por último el aceite de muña en concentración del 25%.

**TABLA N°5: ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS DE LA ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTOSTACHYS MOLLIS GRISEB* (MUÑA) EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

HALO DE INHIBICION DE ENTEROCOCCUS FAECALIS

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
MUÑA 100%	40	15,828	3,0228	,4779	14,861	16,794	12,1	20,8
MUÑA 75%	40	15,070	1,3428	,2123	14,641	15,499	12,1	17,6
MUÑA 50%	40	13,868	4,0446	,6395	12,574	15,161	7,1	18,6
MUÑA 25%	40	9,884	2,3178	,3665	9,143	10,625	6,1	12,6
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	40	15,338	2,5812	,4081	14,512	16,163	11,2	18,7
Total	200	13,997	3,5183	,2488	13,507	14,488	6,1	20,8

**Fuente:** elaboración personal

**Interpretación:**

Se presenta el valor medio del halo de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) y del paramonoclorofenol alcanforado. Encontrándose una media mayor del halo de inhibición en el aceite de muña al 100%(15,828) y una media menor del halo de inhibición del aceite de muña al 25%(9,884).



**TABLA N°6 ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) UNIFACTORIAL DE LA ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS GRISEB* (MUÑA) EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

HALO DE INHIBICION DE ENTEROCOCCUS FAECALIS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	929,302	4	232,325	29,532	,000
Dentro de grupos	1534,021	195	7,867		
Total	2463,323	199			

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

El ANOVA unifactorial indica que el p-valor o significancia asintótica es menor a 0,05, por lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, la cual indica que existe diferencias entre los 5 grupos de aceites esenciales, con respecto a los halos de inhibición.

**TABLA N°7 PRUEBA POST HOC A TRAVES DE HSD TUKEY  
(COMPARACIONES MÚLTIPLES) DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE  
LOS GRUPOS DE ACEITES Y SUS EFECTOS SOBRE *ENTEROCOCCUS  
FAECALIS***

HSD Tukey

(I) ANTIBIOTICO	(J) ANTIBIOTICO	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
MUÑA 100%	MUÑA 75%	,7575	,6272	,747	-,969	2,484
	MUÑA 50%	1,9600*	,6272	,017	,233	3,687
	MUÑA 25%	5,9435*	,6272	,000	4,217	7,670
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	,4900	,6272	,936	-1,237	2,217
MUÑA 75%	MUÑA 100%	-,7575	,6272	,747	-2,484	,969
	MUÑA 50%	1,2025	,6272	,312	-,524	2,929
	MUÑA 25%	5,1860*	,6272	,000	3,459	6,913
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	-,2675	,6272	,993	-1,994	1,459
MUÑA 50%	MUÑA 100%	-1,9600*	,6272	,017	-3,687	-,233
	MUÑA 75%	-1,2025	,6272	,312	-2,929	,524
	MUÑA 25%	3,9835*	,6272	,000	2,257	5,710
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	-1,4700	,6272	,136	-3,197	,257
MUÑA 25%	MUÑA 100%	-5,9435*	,6272	,000	-7,670	-4,217
	MUÑA 75%	-5,1860*	,6272	,000	-6,913	-3,459
	MUÑA 50%	-3,9835*	,6272	,000	-5,710	-2,257
	PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	-5,4535*	,6272	,000	-7,180	-3,727
PARAMONOCLOROFEN OL ALCANFORADO	MUÑA 100%	-,4900	,6272	,936	-2,217	1,237
	MUÑA 75%	,2675	,6272	,993	-1,459	1,994
	MUÑA 50%	1,4700	,6272	,136	-,257	3,197
	MUÑA 25%	5,4535*	,6272	,000	3,727	7,180

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

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

Existe una diferencia significativa de efecto del aceite esencial de muña al 100%, a diferencia del aceite esencial de muña al 50% y 25%. Existe también una diferencia significativa de efecto del aceite de muña al 75% a diferencia del aceite de muña al 25%. Además existe también una diferencia significativa de efecto del aceite de muña al 50% a diferencia del aceite esencial de muña al 25%. Por ultimo existe también una diferencia significativa de efecto del aceite esencial de muña al 25% a diferencia del paramonoclorofenol alcanforado.

**TABLA N°8: SUBCONJUNTOS DE HOMOGENEIDAD HSD TUKEY BASADOS EN LAS MEDIAS DE LOS ACEITES ESENCIALES UTILIZADOS EN LA INHIBICIÓN DEL *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

HSD Tukey<sup>a</sup>

ACEITES ESENCIALES	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
MUÑA 25%	40	9,884		
MUÑA 50%	40		13,868	
MUÑA 75%	40		15,070	15,070
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	40		15,338	15,338
MUÑA 100%	40			15,828
Sig.		1,000	,136	,747

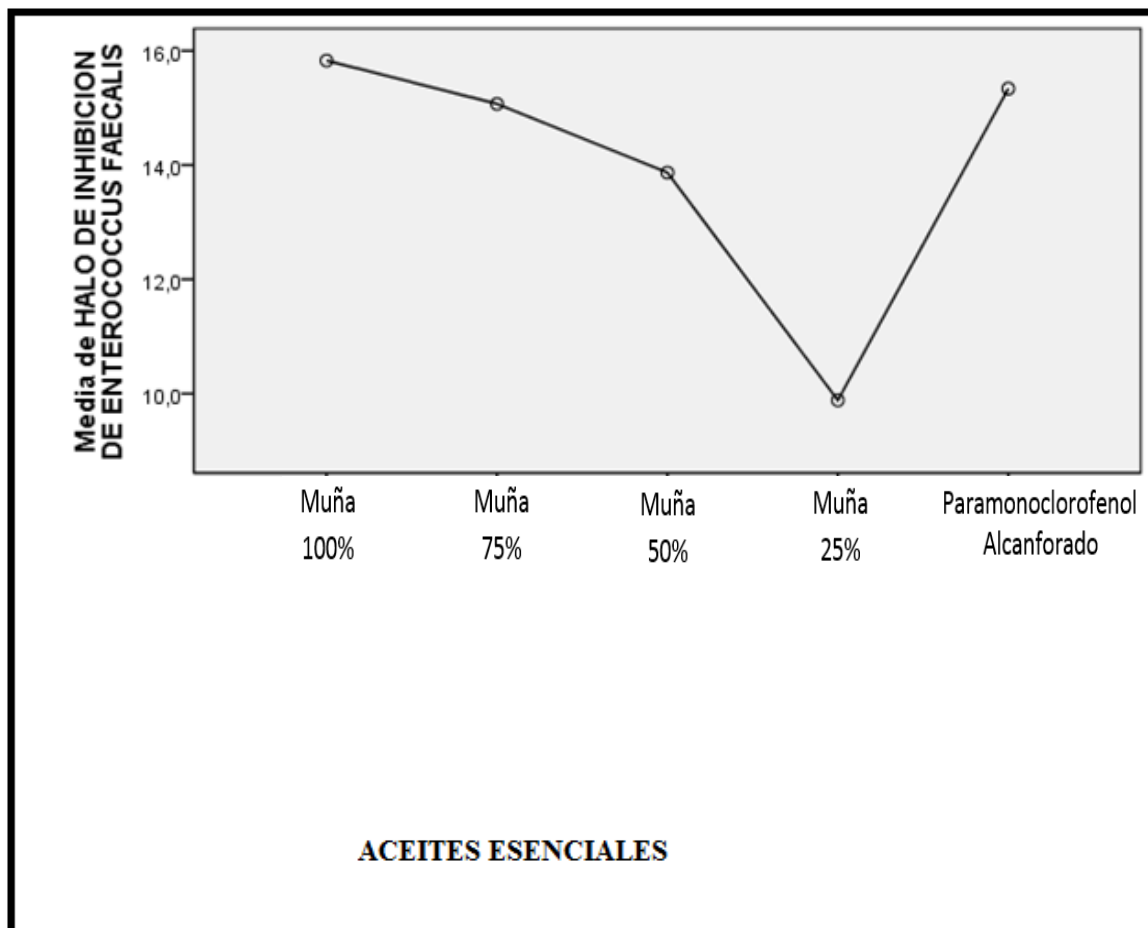
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Fuente:** elaboración personal

**Interpretación:**

Las medias de los halos de inhibición del aceite esencial de muña al 100%, 75% y del paramonoclorofenol alcanforado, no presentan diferencias significativas por lo cual se encuentran en un subconjunto, al igual que el aceite esencial de muña al 75%, 50% y el paramonoclorofenol alcanforado que también se ubican en otro subconjunto, a diferencia del aceite esencial de muña al 25% que difieren significativamente de los demás.

**GRAFICO N°2: DISTRIBUCIÓN DE LAS MEDIAS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS***



**FUENTE: ELABORACION PERSONAL**

**Interpretación:**

Se observa la distribución grafica de las medias de los diferentes aceites utilizados contra el *Enterococcus faecalis*, es así que la media más elevada fue la alcanzada por el aceite esencial de muña al 100%,seguida en segundo lugar por el paramonoclorofenol alcanforado, en tercer lugar se encuentra la concentración al 75%, en cuarto lugar se encuentra el aceite de muña en concentración del 50%.y por último el aceite de muña en concentración del 25%.

**ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE *CÁNDIDA ALBICANS***

HALO DE INHIBICION DE CANDIDA ALBICANS

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
MUÑA 100%	40	15,007	2,2031	,3483	14,303	15,712	6,0	17,5
MUÑA 75%	40	15,363	2,9377	,4645	14,423	16,302	6,0	18,5
MUÑA 50%	40	15,173	1,7050	,2696	14,627	15,718	6,0	16,7
MUÑA 25	40	11,570	1,3725	,2170	11,131	12,009	6,0	12,8
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	40	12,905	1,5268	,2414	12,417	13,393	6,0	14,8
Total	200	14,004	2,5139	,1778	13,653	14,354	6,0	18,5

**Fuente:** elaboración personal

**Interpretación:**

Se presenta el valor medio del halo de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de muña y del paramonoclorofenol alcanforado. Encontrándose una media mayor del halo de inhibición en el aceite esencial de muña al 75%(15,363) y una media menor del halo de inhibición del aceite esencial de muña al 25%(11,570).

**TABLA N° 10: ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA) UNIFACTORIAL DE LA ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE CÁNDIDA ALBICANS**

HALO DE INHIBICION DE CANDIDA ALBICANS

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	454,003	4	113,501	27,541	,000
Dentro de grupos	803,624	195	4,121		
Total	1257,628	199			

**Fuente: elaboración personal**

### **Interpretación**

El ANOVA unifactorial indica que el p-valor o significancia asintótica es menor a 0,05, por lo cual rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, la cual indica que existe diferencias entre los 5 grupos de aceites esenciales, con respecto a los halos de inhibición.



**TABLA N°11: PRUEBA POST HOC A TRAVÉS DE HSD TUKEY (COMPARACIONES MÚLTIPLES) DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS GRUPOS DE ACEITES Y SUS EFECTOS SOBRE LA CÁNDIDA ALBICANS**

HSD Tukey

(I) A. ESENCIAL	(J) A. ESENCIAL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
MUÑA 100%	MUÑA 75%	-,3550	,4539	,936	-1,605	,895
	MUÑA 50%	-,1650	,4539	,996	-1,415	1,085
	MUÑA 25	3,4375*	,4539	,000	2,188	4,687
	PARAMONOCLOROFENOLALCANFORADO	2,1025*	,4539	,000	,853	3,352
MUÑA 75%	MUÑA 100%	,3550	,4539	,936	-,895	1,605
	MUÑA 50%	,1900	,4539	,994	-1,060	1,440
	MUÑA 25	3,7925*	,4539	,000	2,543	5,042
	PARAMONOCLOROFENOLALCANFORADO	2,4575*	,4539	,000	1,208	3,707
MUÑA 50%	MUÑA 100%	,1650	,4539	,996	-1,085	1,415
	MUÑA 75%	-,1900	,4539	,994	-1,440	1,060
	MUÑA 25	3,6025*	,4539	,000	2,353	4,852
	PARAMONOCLOROFENOLALCANFORADO	2,2675*	,4539	,000	1,018	3,517
MUÑA 25	MUÑA 100%	-3,4375*	,4539	,000	-4,687	-2,188
	MUÑA 75%	-3,7925*	,4539	,000	-5,042	-2,543
	MUÑA 50%	-3,6025*	,4539	,000	-4,852	-2,353
	PARAMONOCLOROFENOLALCANFORADO	-1,3350*	,4539	,030	-2,585	-,085
PARAMONOCLOROFENOLALCANFORADO	MUÑA 100%	-2,1025*	,4539	,000	-3,352	-,853
	MUÑA 75%	-2,4575*	,4539	,000	-3,707	-1,208
	MUÑA 50%	-2,2675*	,4539	,000	-3,517	-1,018
	MUÑA 25	1,3350*	,4539	,030	,085	2,585

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

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

Existe una diferencia significativa de efecto del aceite de muña al 100%, 75% y 50% a diferencia del aceite de muña al 25% y el paramonoclorofenol alcanforado. Existe también una diferencia significativa de efecto del aceite de muña al 25% a diferencia del aceite de muña al 100%, 75%, 50% y el paramonoclorofenol alcanforado.

**TABLA N°12 SUBCONJUNTOS DE HOMOGENEIDAD HSD TUKEY BASADOS EN LAS MEDIAS DE LOS ACEITES UTILIZADOS EN LA INHIBICION DE LA CANDIDA ALBICANS**

HSD Tukey<sup>a</sup>

ACEITE ESENCIAL	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
MUÑA 25	40	11,570		
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	40		12,905	
MUÑA 100%	40			15,007
MUÑA 50%	40			15,173
MUÑA 75%	40			15,363
Sig.		1,000	1,000	,936

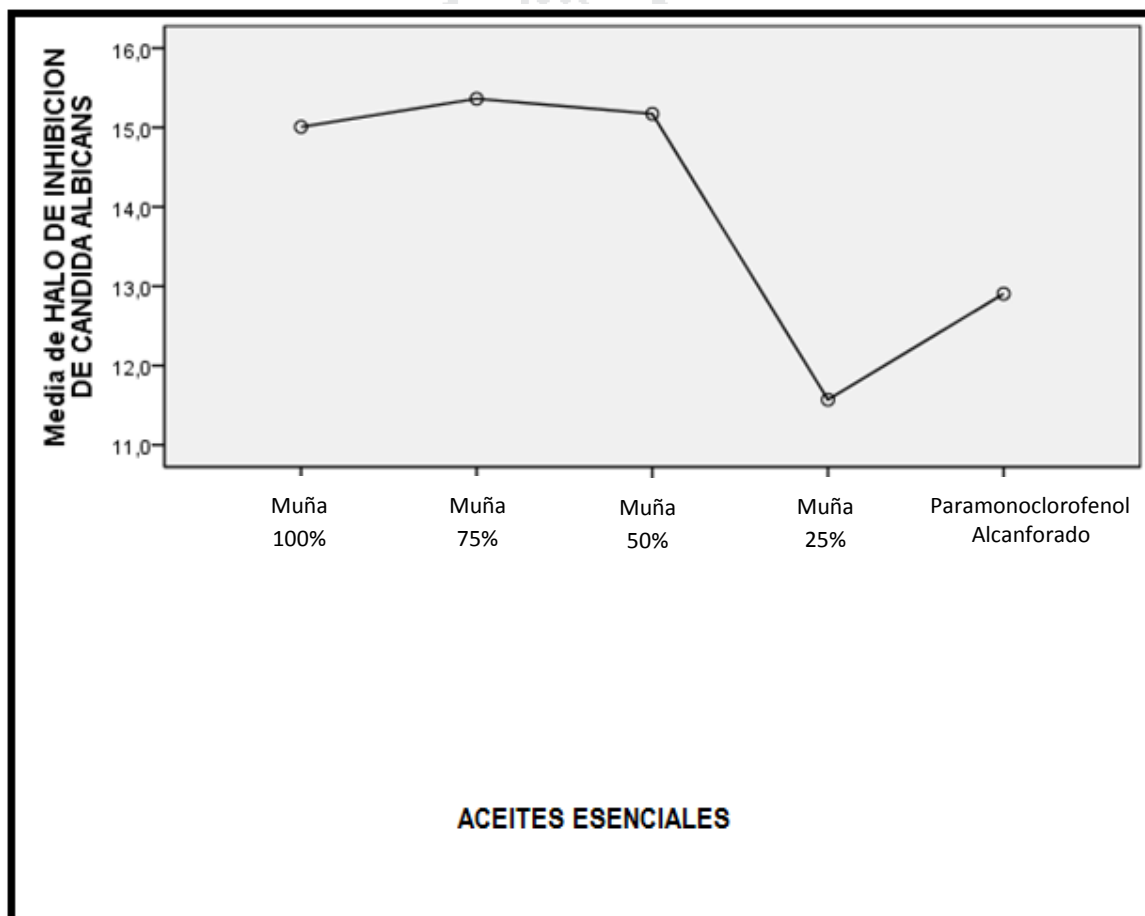
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Fuente: elaboración personal**

**Interpretación:**

Las medias de los halos de inhibición del aceite de muña al 100%, 75%, 50% no presentan diferencias significativas por lo cual se encuentran en un subconjunto, a diferencia del aceite de muña al 25% y el paramonoclorofenol alcanforado que difieren significativamente de los demás.

**GRAFICO N°3: DISTRIBUCIÓN DE LAS MEDIAS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES Y DEL PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO SOBRE LA *CÁNDIDA ALBICANS***



Fuente: elaboración personal

**Interpretación:**

Se observa la distribución grafica de las medias de los diferentes aceites esenciales utilizados contra la *Cándida Albicans*, es así que la media más elevada fue la alcanzada por el aceite de muña al 75%, seguida en segundo lugar por su concentración al 50%, en tercer lugar se encuentra la concentración al 100%, en cuarto lugar se encuentra el paramonoclorofenol alcanforado y por último el aceite de muña en concentración del 25%.

## 4.2. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibitorio invitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico Una – Puno 2016

Azaña I. en el 2010 en su estudio la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogénica*, *Enterococcus faecalis* y muestras de conducto radicular con Periodontitis Apical Crónica, Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvieron los siguientes resultados: el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* “muña” puro y en sus diluciones presentó efectividad antibacteriana menor al Paramonoclorofenol alcanforado frente a las muestras bacterianas en estudio<sup>13</sup>. Estos resultados difieren de los encontrados en el presente estudio, probablemente debido a la diferente procedencia del *Minthostachys Mollis Griseb* que en el estudio anterior proceden de las alturas del Centro Poblado Menor de Muruhuay, Distrito de Acobamba, ciudad de Tarma, Departamento de Junín y en nuestro estudio las plantas son oriundas del centro poblado de Jayllihuaya provincia de Puno.

Alaba W. en el 2014 en su estudio. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se evaluó la susceptibilidad in vitro llegando a la conclusión que el aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) al 100% posee mayor actividad inhibitoria in vitro sobre el crecimiento del *E. faecalis* que el IKI al 2% y la dilución etanólica de aceite esencial al 50%.<sup>12</sup>. Estos resultados son semejantes a los obtenidos en el presente estudio, evidenciando así la eficacia que posee el aceite de muña al 100% sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

#### Primera

El aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña), presento una gran actividad inhibitoria sobre las muestras de microorganismos en estudio: *Enterococcus Faecalis*, *Staphylococcus Aureus* y *Cándida Albicans*, esta actividad inhibitoria fue mayor a la del Paramonoclorofenol Alcanforado.

#### Segunda

La actividad del aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, evidencio una mayor efectividad del aceite de muña al 100% por encima de la actividad del paramonoclorofenol alcanforado el cual solo supera a la efectividad del aceite de muña al 25%

#### Tercera

La actividad del aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre las cepas de *Enterococcus Faecalis*, evidencio una mayor efectividad del aceite de muña al 100% por encima de la actividad del paramonoclorofenol alcanforado el cual supera a la efectividad del aceite de muña al 75%, 50% y 25%

#### Cuarta

La actividad del aceite de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre las cepas de *Cándida Albicans*, evidencio una mayor efectividad del aceite de muña al 75% seguida de la concentración del aceite al 50% y 100%, superando así la actividad del Paramonoclorofenol Alcanforado, el cual solo supera la actividad inhibitoria de la concentración al 25% del aceite de Muña.

## CAPITULO VI

### RECOMENDACIONES

- Replicar esta investigación in vitro, incrementando el número de placas para la prueba de susceptibilidad microbiana.
- Complementar el presente estudio con la identificación de los componentes químicos del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (Muña) oriundo de la zona sur de la región Puno.
- Extender el estudio del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (Muña) incidiendo en la posible acción sinérgica entre este aceite esencial y los diferentes tipos de medicamento intraconducto que existen en la actualidad.
- Se recomienda ampliar el estudio del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis griseb* (Muña) en cepas de diferentes bacterias de interés estomatológico.
- Realizar estudios comparativos sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de las diferentes especies de *Minthostachys mollis griseb* (Muña) que existen en Puno y el Perú



## CAPITULO VII

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Marqués A. Estudio comparativo da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras à base de clorexidina em diferentes concentrações sobre microorganismos freqüentemente encontrados no canal radicular. Estudio in vitro. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia Salvador; 1997.
2. Azaña I. Efectividad Antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista. UNMSM. Lima- Perú
3. Jiménez P. Navarro L. Murtra J. Estudio de la morfología y composición del barro dentinario. Oris 1992; 1: 19 - 27.
4. Silva C. Efectivida de antimicrobiana do hipoclorito de sodio e clorhexidina como irrigantes endodónticos. Master's thesis. Porto Alegre: Luteran University of Brasil; 1999.
5. Díaz C. Aspectos relevantes de *Enterococcus Fecalis* y su participación en las infecciones de origen endodóntico. Rev. CBE. Venezuela. 2008.
6. Teixeira K. Cortez M. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. Acta Odontol. Venezuela. Vol. 43 N° 2. 2005.
7. González J. Estudio in vitro del sellado de conductos obturados con gutapercha y sellador ah26 mediante la técnica de la condensación lateral de la gutapercha en frío. (tesis doctoral)Universidad de Valencia. España. 2006.
8. Ferreira M. Medicación intraconducto empleada en la Terapia Endodontica de dientes con Necrosis Pulpar. Rev. CBE. Universidad Central de Venezuela. 2005
9. ROADMAPPING PERÚ. El futuro de los productos andinos en la región alta y los valles centrales de los andes plantas medicinales. ANDEAN PRODUCT. Junio 2006.
10. Aigaje A. Efectividad Antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Tipo) Al 25, 50, 100 % Frente A *Porphyromonas Gingivalis* Estudio In Vitro. (Tesis de grado).Quito. Universidad Central de Ecuador. 2016.

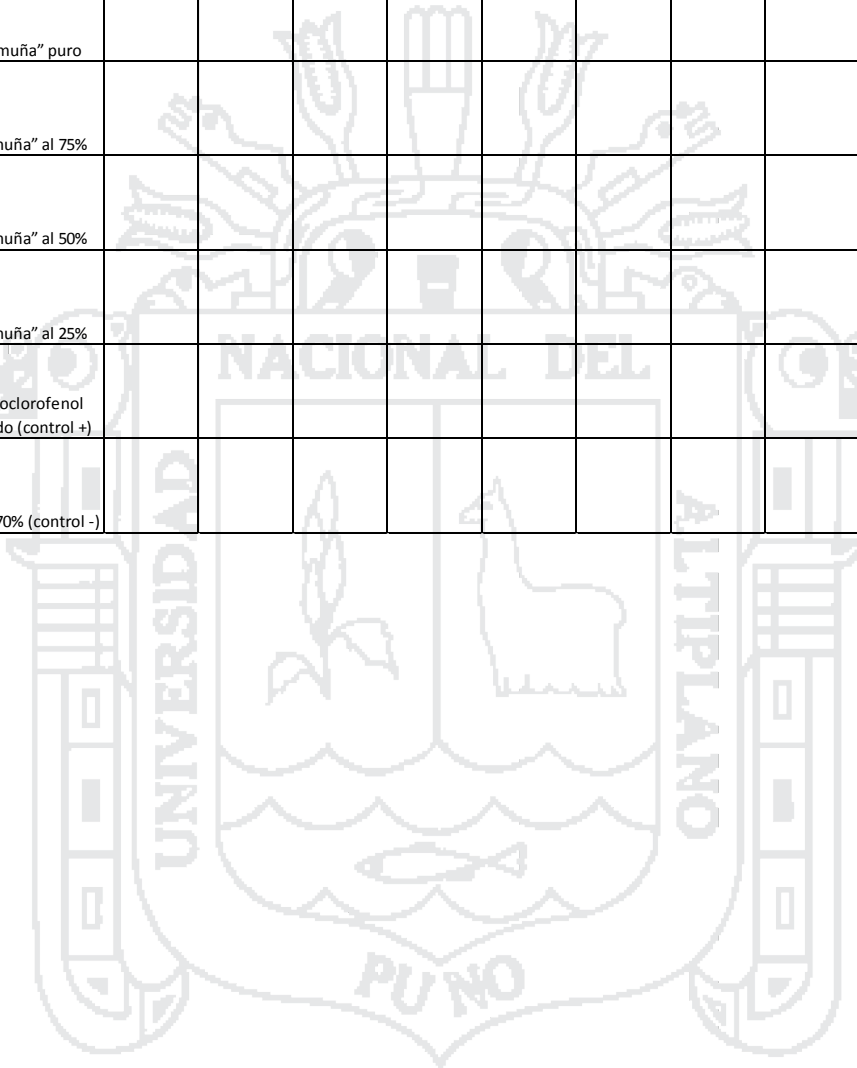
11. Pellegrini M. y col. Anti-quorum sensing and antimicrobial activity of aromatic species from South America. Rev.of Essential Oil Research. Vol. 26. Pag.458-465. 2014.
12. Alaba W. Jiménez C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Rev. SIMIYKITA.Vol. 1. N°1. 2014.
13. Azaña L. Efectividad Antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico (Tesis de Titulación). Perú. Universidad Mayor de San Marcos. 2010.
14. Molina M. Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la *Minthostachys Mollis Griseb* (Muña) comparado con la amoxicilina frente a la placa supragingival en la clínica odontológica UNA Puno 2007 (Tesis para optar el grado de cirujano dentista) Perú. Universidad Nacional del Altiplano. Puno. 2007.
15. Ingle I y Bakland L. ENDODONCIA. 5° edición. México: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana; 2004.
16. Canalda C y Brau E. ENDODONCIA: técnicas clínicas y bases científicas. 1° Edición. Barcelona: Editorial Masonas; 2001.
17. Soares J y Goldberg F. ENDODONCIA, técnica y fundamentos. 1°Edición. Buenos aires: Editorial Médica Panamericana; 2003.
18. Ibarra S. Estudio in vitro del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus Globulus L.* (Eucalipto) en comparación al hipoclorito de sodio al 2,5% y gluconato de clorhexidina al 2%, sobre cepas de *Enterococcus Faecalis*. Tesis para la obtención del Grado Académico de Odontólogo. Universidad Central de Ecuador. Quito-Ecuador. 2014.
19. Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Pathol. 1994 Oct; 78(4): 522-530.
20. Siqueira Jr. F. Tratamento das infecções endodónticas. 1° Edición. Río de Janeiro: Editorial MEDSI. R. J; 1997.
21. Escoda, C.G; Aytés L.B. (2004). Tratado de Cirugía Bucal. Signo. Barcelona. Tomo 1. 749- 830
22. Teixeira K. y Cortez M. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. Acta Odontológica Venezolana. Artículo 11.Vol.43.n°2.2005

23. Rodríguez G. Géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*. Temas de bacteriología y virología médica. . Consultado 07 nov. 2016. Pag. web [<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/StreptococcusyEnterococcus.pdf>]
24. Del Valle K. Microbiología Endodóntica. Tesis para obtener el título de cirujano dentista. Universidad Cayetano Heredia. Perú 2008.
25. Siqueira S, Rôças N. Polymerase chain reaction – based analisys of microorganisms associated with failed endodontic treatment. Oral Surg. 2004; 97(1): 85-94
26. Negroni M. Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2<sup>da</sup> ed. Buenos Aires- Argentina. Editorial Médica Panamericana.2009 pag.353-354
27. Q.F.B. de Fes-Cuautitlan-UNAM México. 2011. Disponible en: <http://microbitosblog.com/2011/08/03/staphylococcus-aureus-epidermidis-saprophyticus/>
28. Pardi G. y Cardozo E. Algunas Consideraciones Sobre *Cándida Albicans* Como Agente Etiológico De Candidiasis Bucal. Acta Odontológica Venezolana. Vol. n°40.Caracas.enero del 2002
29. Corredor C. y Torres A. Microbiología de la lesiones pulpares. Para obter el título de Microbiólogo Agrícola y Veterinario. Microbiólogo Industrial.Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá-Ecuador. Febrero 2016.
30. Malpartida F. “Efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus Faecalis*. Estudio In Vitro. Lima 2009” Tesis Para Optar El Grado Académico de Maestro En Estomatología .UAP.LIMA – PERÚ 2010.
31. Baca C. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) sobre el género *Proteus* causantes de infecciones del tracto urinario. Tesis para optar el título profesional de licenciado en Biología.UNA-Puno. Perú. 2014.



**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS**

MICROORGANISMO	DIAMETRO DEL HALO DE INHIBICION MM (INCLUIDO EL DISCO)									
	PLACA N° 01	PLACA N° 02	PLACA N° 03	PLACA N° 04	PLACA N° 05	PLACA N° 06	PLACA N° 07	PLACA N° 08	PLACA N° 09	PLACA N° 10
Fecha:										
Aceite "muña" puro										
Aceite "muña" al 75%										
Aceite "muña" al 50%										
Aceite "muña" al 25%										
Paramonoclorofenol Alcanforado (control +)										
Alcohol al 70% (control -)										









**FOTOGRAFÍAS**



**1. CENTRO POBLADO DE JAYLLIHUAYA - PUNO**



**2. RECOLECCION DE MINTHOSTACHYS MOLLIS “MUÑA”**





**3. CARGANDO CON MUÑA EL EQUIPO DE EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES**



**4. EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES POR ARRASTRE DE VAPOR**

5.



**ACEITES ESENCIALES DE MINTHOSTACHYS MOLLIS “MUÑA”**



**6. MUESTRAS DE CONDUCTOS RADICULARES CONTENIDOS EN VIALES CON AGAR NUTRITIVO**

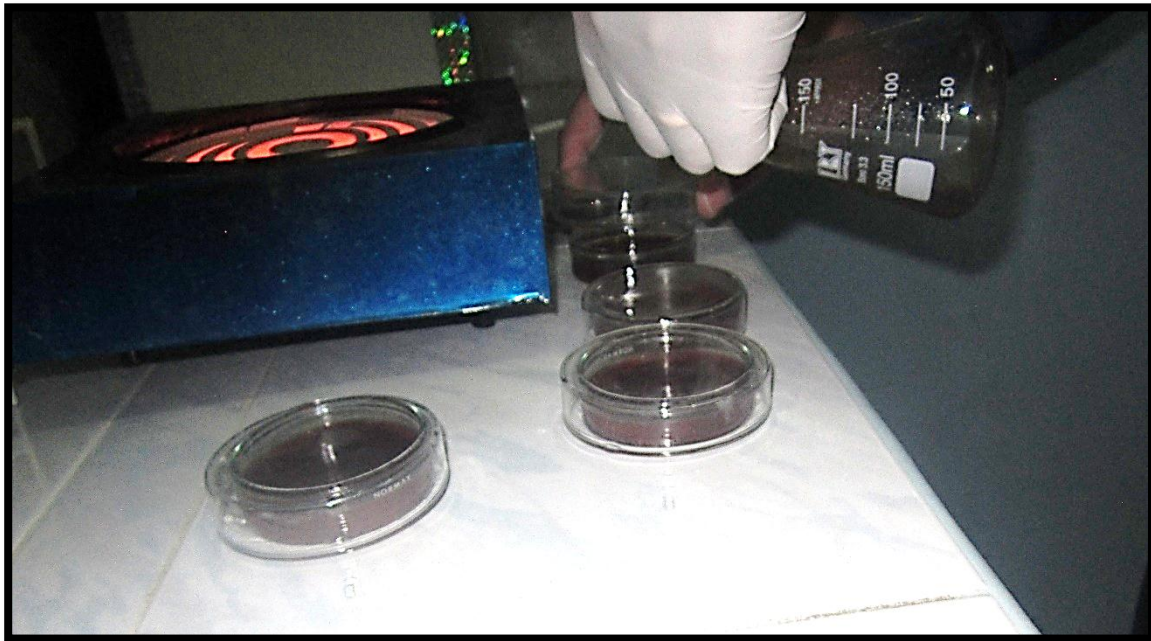




**7. OBTENCION DE SANGRE**



**8. SANGRE Y MEDIO BASE PREVIOS A SU MEZCLA**



**9. PLAQUEADO**

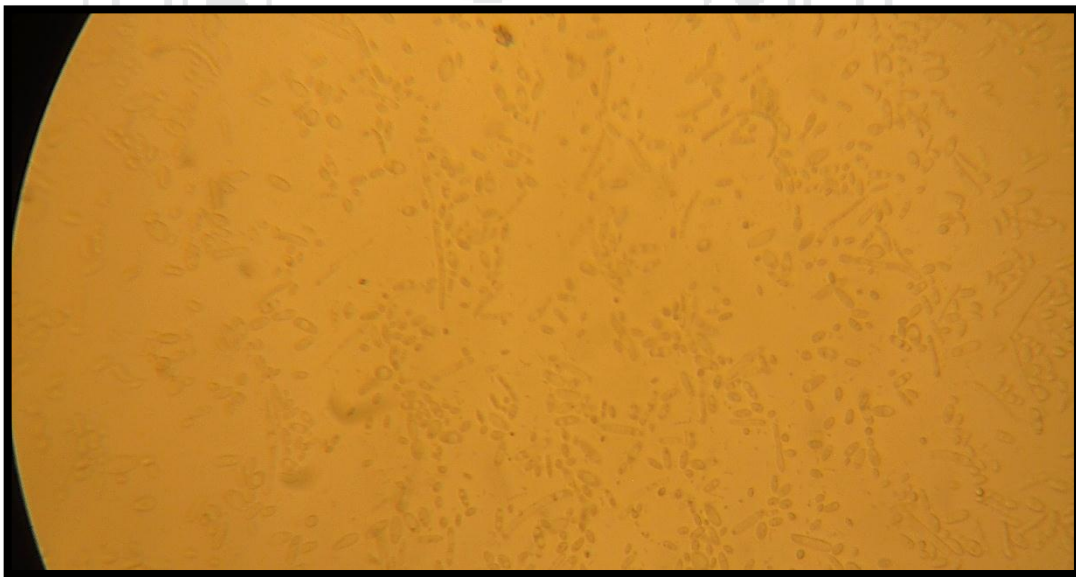


**10. SIEMBRA**

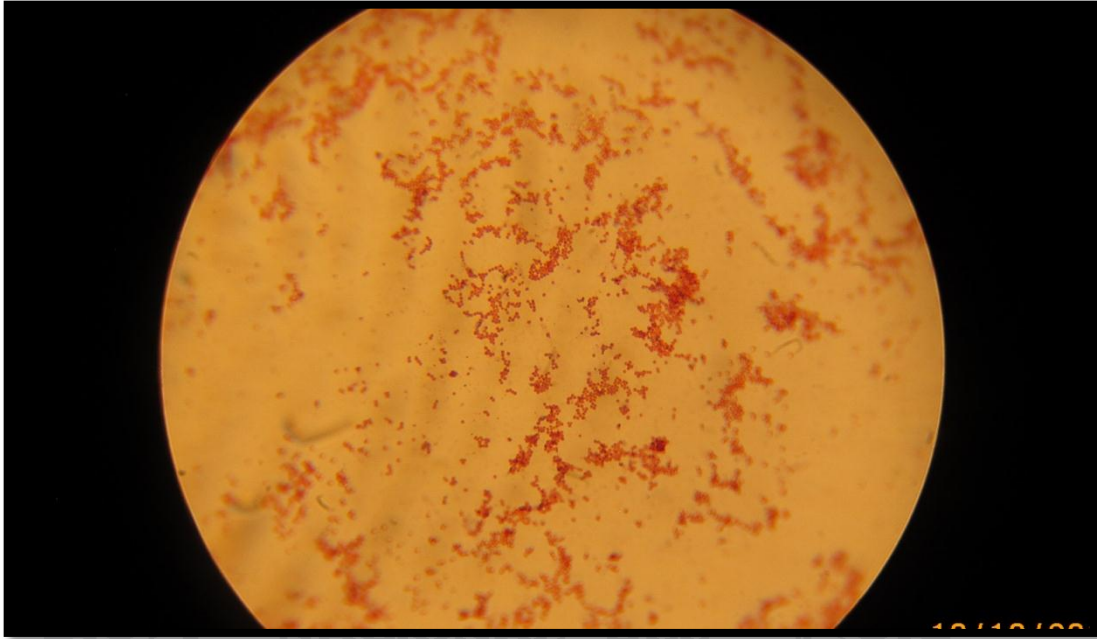




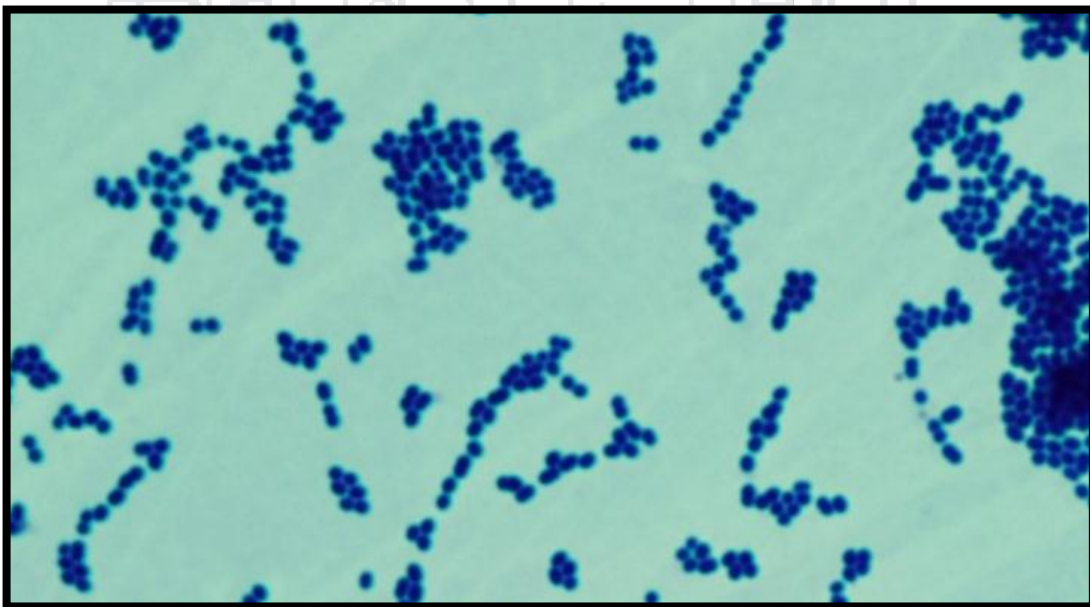
### 11. COLORACION GRAM Y PREPARACION PARA EL MICROSCOPIO



### 12. CANDIDA ALBICANS MICROSCOPIO 100X



**13. STAPHYLOCOCCUS AUREUS MICROSCOPIO 100X**

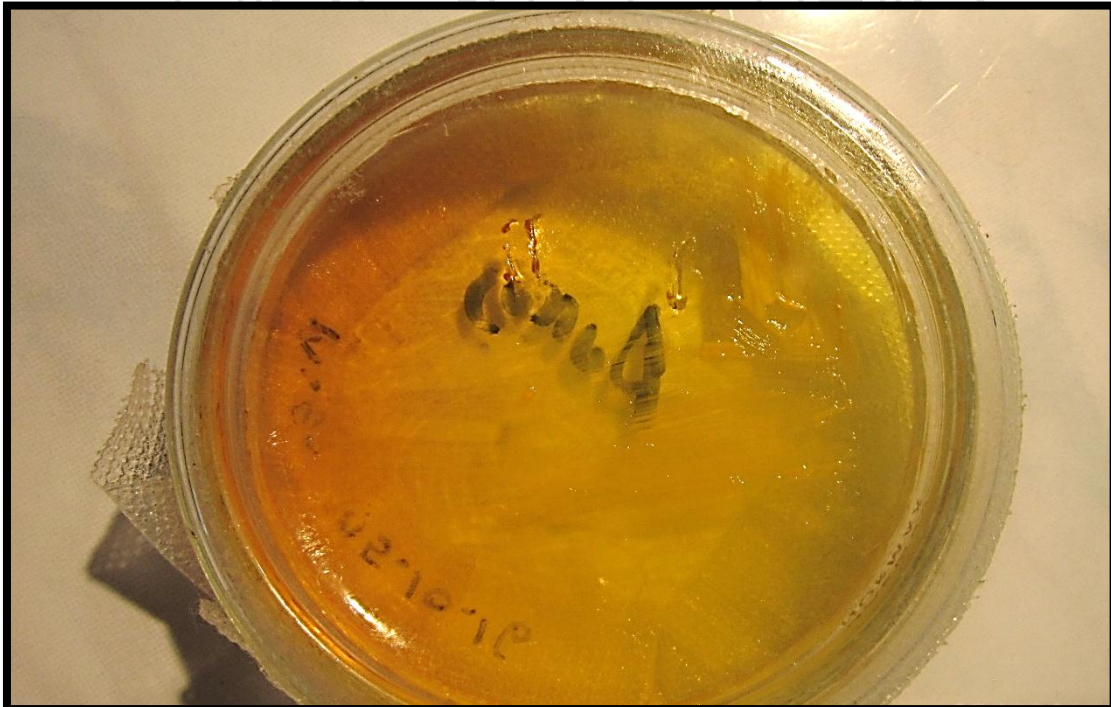


**14. ENTEROCOCCUS FAECALIS MICROSCOPIO 100X**

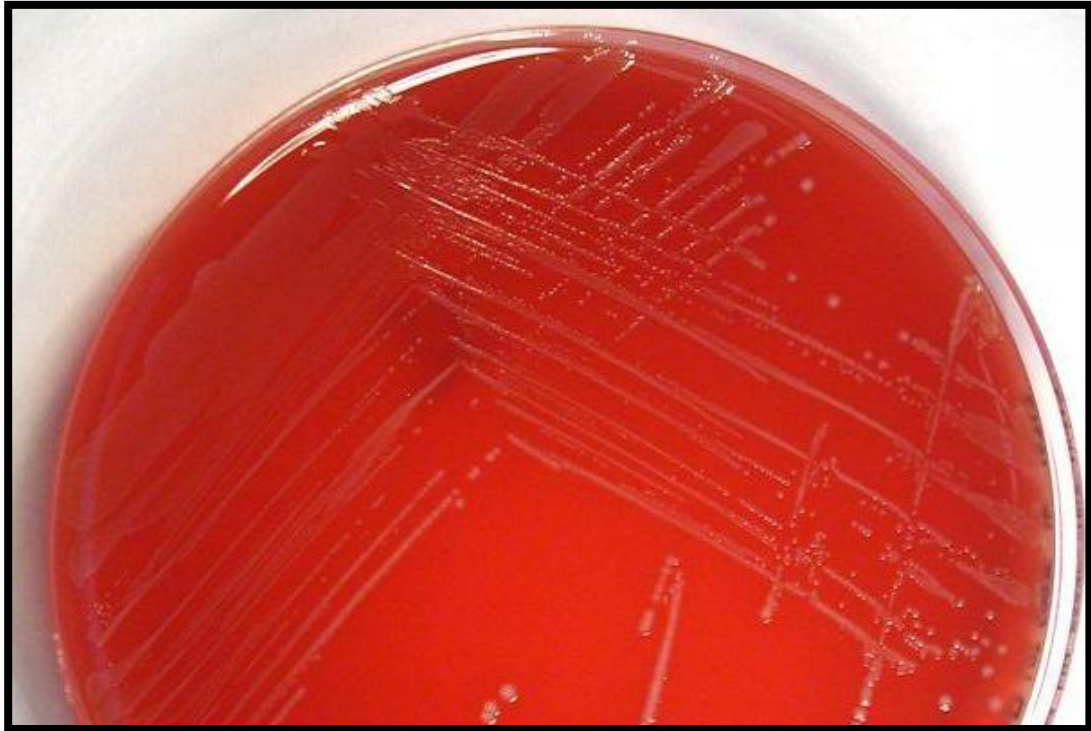




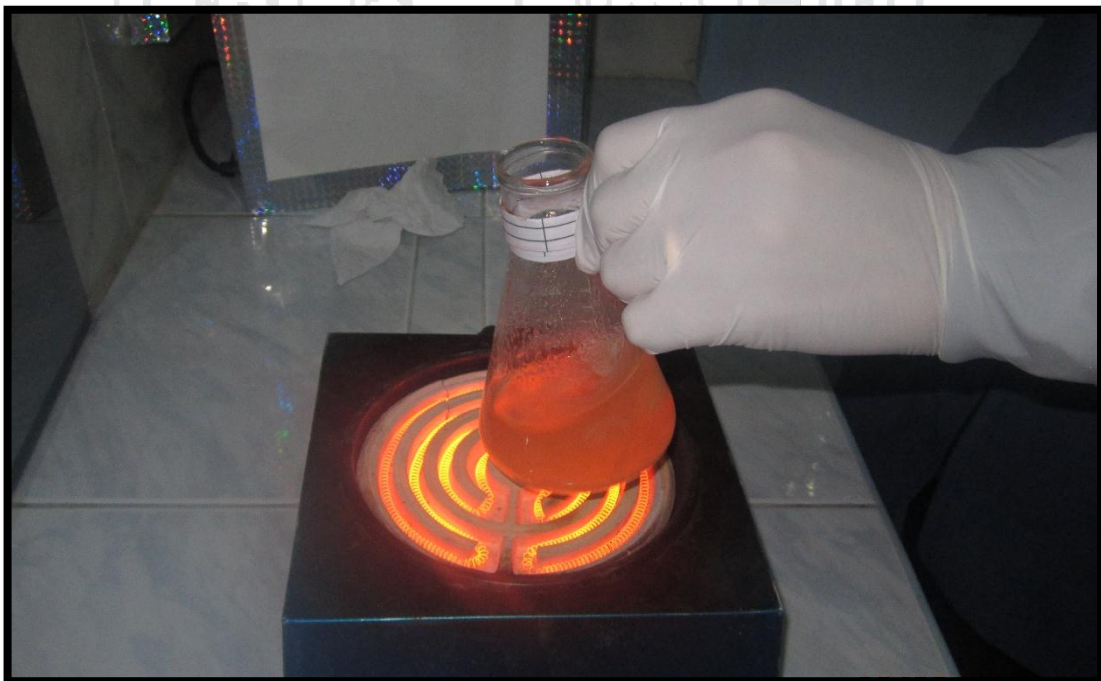
**15. CEPAS AISLADAS DE CANDIDA ALBICANS**



**16. CEPAS AISLADAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

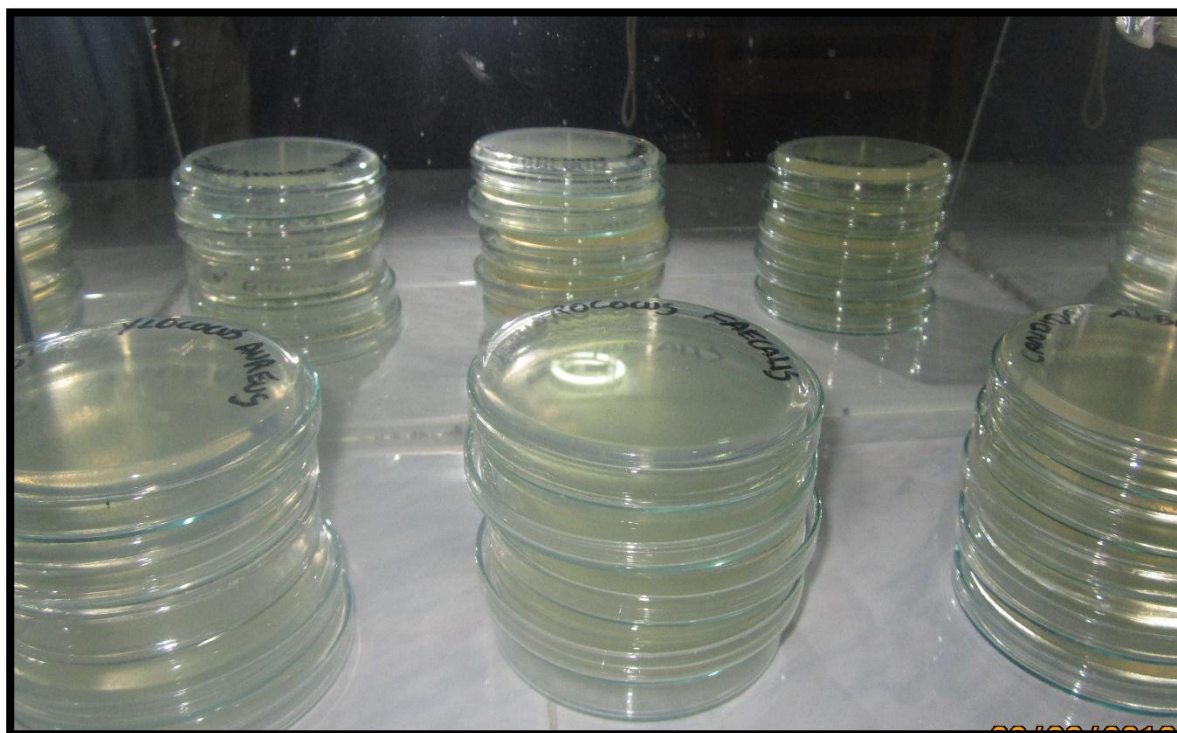


**17. CEPAS AISLADAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS**



**18. PREPARACION DEL MEDIO MUELLER HINTON**





**19. PLACAS CON EL MEDIO ENDURECIDO**



**20. PARAMONOCLOROFENOL Y ACEITE DE MUÑA**

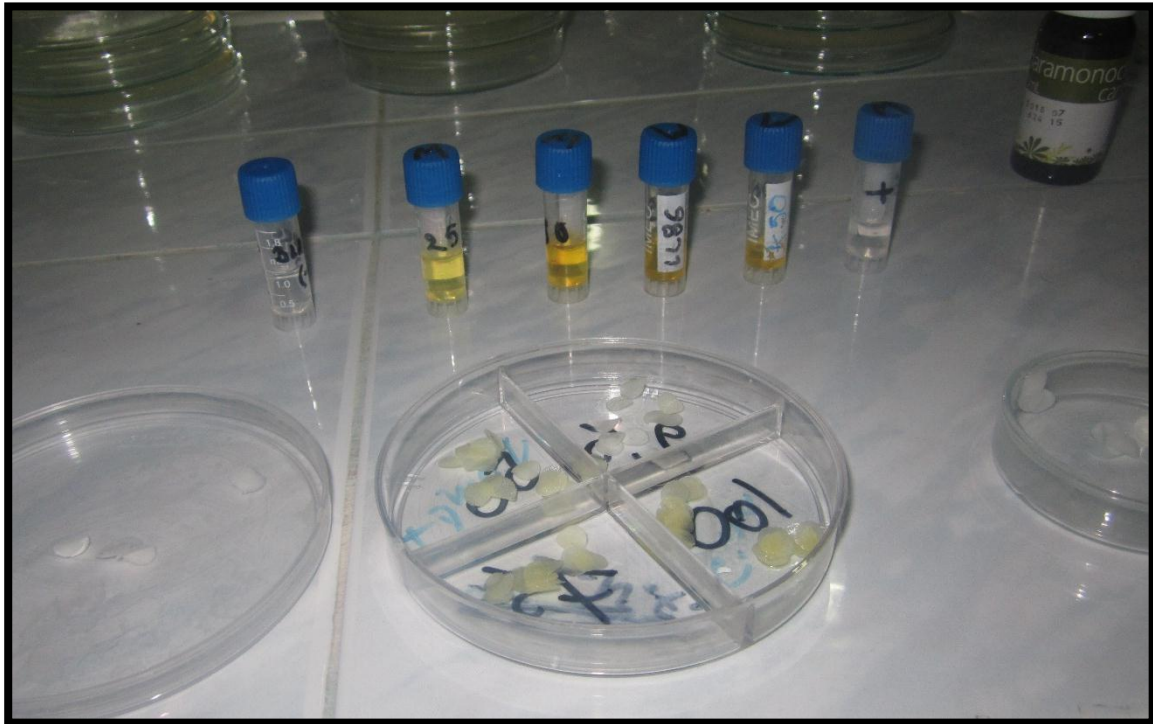


**21. PREPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DEL ACEITE DE MUÑA**



**22. SIEMBRA DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS PLACAS CON AGAR MUELLER HINTON**





**23. PREPARACION DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD**

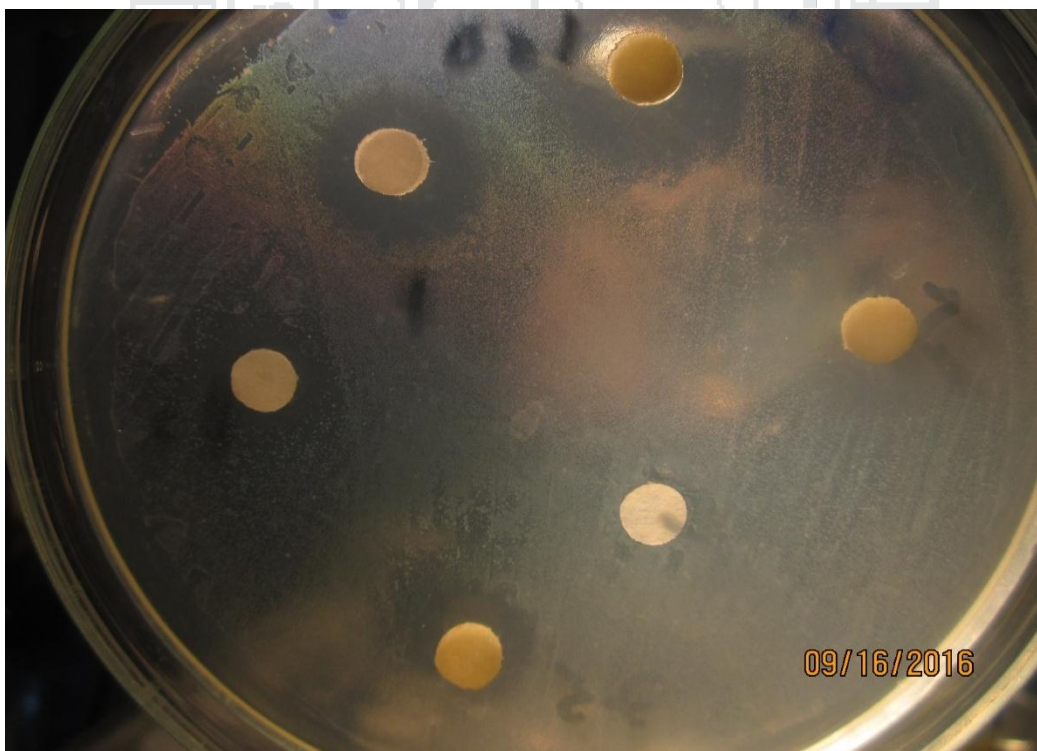


**24. COLOCACION DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD EN LAS PLACAS**

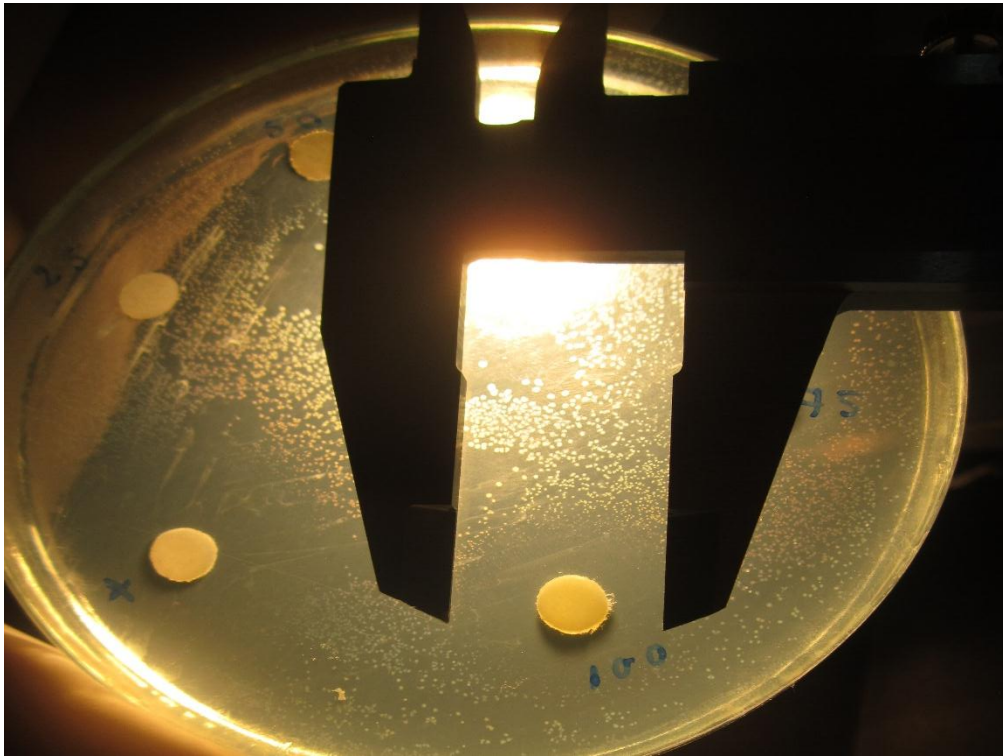




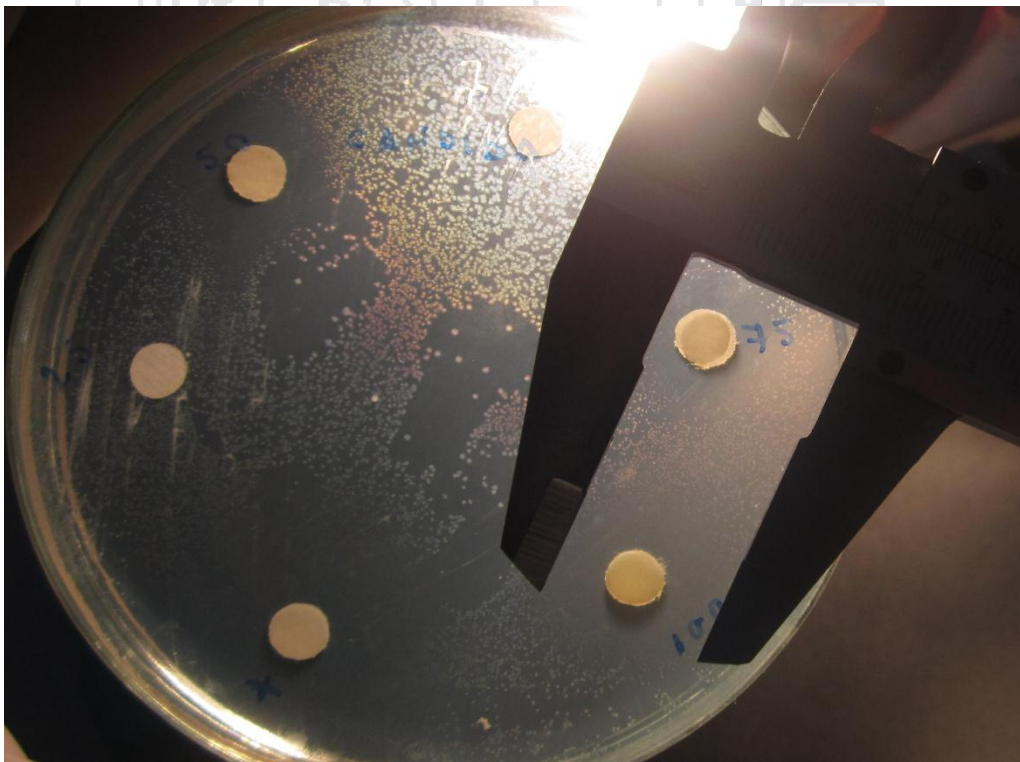
25. INCUBADORA 37° C



26. MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION DEL ENTEROCOCCUS  
FAECALIS



**27. MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS**



**28. MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION DE LA CANDIDA ALBICANS**

