

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE
ESENCIAL DE *ALOYSIA CITRIODORA* (CEDRÓN)
SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175,
TRUJILLO-2020**

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

AUTOR

REQUEJO PERALTA, DANITZA LISBETH

ORCID: 0000-0003-0089-9864

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO –PERÚ

2022

1. Título de la tesis

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE
ESENCIAL DE *ALOYSIA CITRIODORA* (CEDRÓN)
SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175,
TRUJILLO-2020**

2. Equipo de trabajo

AUTOR

Requejo Peralta, Danitza Lisbeth

ORCID: 0000-0003-0089-9864

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

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0001-5360-4981

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

JURADO

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio

0000-0002-5873-132X

Angeles García, Karen Milena

0000-0002-6002-7796

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgtr. DE LA CRUZ BRAVO, JUVER JESÚS

PRESIDENTE

Mgtr. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO

MIEMBRO

Mgtr. ANGELES GARCÍA, KAREN MILENA

MIEMBRO

Mgtr. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

ASESOR

4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria

Agradecimiento

A Dios, por guiarme a lo largo de mi camino, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres: Felipe y María, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a mis docentes, los cuales son personas de gran sabiduría, quienes han dedicado su tiempo y esfuerzo para ayudarme a conseguir una parte de mis metas.

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a Dios por haberme iluminado y guiado en este camino.

A mis padres Felipe Hipolito Requejo Nuñez y Maria Luz Hidelia Peralta Cieza; pilares fundamentales en mi vida, por haberme forjado como la persona que soy actualmente, ya que todos los logros que estoy cumpliendo son gracias a ellos, por motivarme constantemente para alcanzar mis metas.

A mis maestros a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad que me abrió sus puertas para prepararme para un futuro competitivo y formarme como persona de bien.

5. Resumen y abstract

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora*(cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo, experimento puro. La muestra estuvo conformada por 10 placas Petri de cada grupo con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Para este estudio se obtuvo el aceite esencial de *Aloysia citriodora* en concentraciones de 25%, 75%, 100%. Luego fueron enfrentadas a las cepas de *Streptococcus mutans* en el laboratorio de Microbiología. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. Se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo. **Resultados:** La concentración de 25% obtuvo una media de 12.85 mm, la de 75% obtuvo una media de 23.66 mm y la de 100% una media de 34.58 mm. Se aplicó la prueba ANOVA, encontrando que existe diferencia estadística significativa entre los tres tipos de concentraciones (P= 0.00). **Conclusión:** Sí existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia Citriodora* al 100% y 75%.

Palabras claves: Antibacteriano, *Aloysia Citriodora*, Clorhexidina, efectividad, *Streptococcus mutans*.

Abstract

Objective: To determine the antibacterial effect of the essential oil of *Aloysia citriodora* (cedrón) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Methodology:** The methodological design was experimental, prospective, cross-sectional and analytical of quantitative type and explanatory level, pure experiment. The sample consisted of 10 Petri dishes from each group with strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. For this study, the essential oil of *Aloysia citriodora* was obtained in concentrations of 25%, 75%, 100%. They were then confronted with the strains of *Streptococcus mutans* in the Microbiology laboratory. The antibacterial effect was evaluated using the Kirby Bauer method. A Mitutoyo Brand Digital Vernier was used. **Results:** The concentration of 25% obtained an average of 12.85 mm, that of 75% obtained an average of 23.66 mm and that of 100% an average of 34.58 mm. The ANOVA test was applied, finding that there is a significant statistical difference between the three types of concentrations ($P= 0.00$). **Conclusion:** There is an antibacterial effect of the essential oil of *Aloysia Citriodora* at 100% and 75%.

Keywords: Antibacterial, *Aloysia Citriodora*, Chlorhexidine, effectiveness, *Streptococcus mutans*.

6. Contenido

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o Dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	xi
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	4
2.1 Antecedentes.....	4
2.1.1. Antecedentes internacionales.....	4
2.1.2. Antecedentes nacionales.....	6
2.2 Bases Teóricas.....	13
2.2.1. <i>Aloysia citriodora</i> (cedron).....	13
2.2.2. <i>Streptococcus mutans</i>	20
2.2.3. Clorhexidina.....	22
III. Hipótesis.....	24
IV. Metodología.....	25
4.1. Diseño de la investigación.....	26
4.2. Población y muestra.....	27
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	29
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30
4.5. Plan de análisis.....	35
4.6. Matriz de consistencia.....	36
4.7. Principios éticos.....	37
V. Resultados.....	38
5.1 Resultados.....	38
5.2. Análisis de Resultados.....	41

VI. Conclusiones...	44
Aspectos complementarios...	45
Referencias Bibliográficas...	46
Anexos...	53

7. Índice de tablas y gráficos

Índice de tablas

TABLA 1: Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 2517535

TABLA 2: Comparación del efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 2517536

Índice de gráficos

GRÁFICO 1: Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	37
---	----

I. Introducción

La caries dental es la destrucción del diente. Esto puede ser un problema para niños, adolescentes y adultos. La placa es una película bacteriana pegajosa que se forma continuamente en los dientes. Cuando se comen o beben alimentos azucarados, las bacterias de la placa producen ácidos que erosionan el esmalte dental. La alta adherencia de la placa mantiene estos ácidos en contacto con los dientes y, con el tiempo, el esmalte se descompone y por ende se formaría la caries. ¹

El riesgo en caries incluye factores físicos, biológicos, ambientales, conductuales y relacionados con los estilos de vida, como flujo de saliva inadecuado, alto número de bacterias cariogénicas, insuficiente exposición al fluoruro, mal aseo bucal, inapropiado método para alimentar al bebé y pobreza. La prevención primaria debe enfocarse en el factor de riesgo común. El tratamiento y prevención secundaria debe centrarse en el manejo de proceso carioso, un enfoque de conservación de tejidos mínimamente invasivo. ²

La caries dental está asociada a muchos factores a lo largo del tiempo, y uno de los principales y más estudiados son los microorganismos, especialmente *Streptococcus mutans*, una bacteria patógena de gran importancia en el desarrollo de la caries dental, caracterizado por una tendencia a la desmineralización del esmalte dentario³, *Streptococcus mutans* reside principalmente en biopelículas que se forman en las superficies de los dientes, también conocida como placa dental. ⁴

La clorhexidina es un agente bacteriano tóxico utilizado en el tratamiento de la enfermedad periodontal y como enjuague bucal para el tratamiento de la gingivitis, para la prevención y el tratamiento de infecciones orales, estomatitis ulcerosa y gingivitis ulcerosa necrosante aguda. También se usa para prevenir y tratar la mucositis en pacientes que reciben medicamentos contra el cáncer.⁵

Estudios han demostrado efecto antibacteriano en *Aloysia citriodora* (Cedrón), sin embargo, es escasa la literatura científica que presente su efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*. En el departamento de Cajamarca existe diferentes especies de plantas medicinales que hasta el momento no han sido muy estudiadas; es por ello que he seleccionado la planta de *Aloysia Citriodora* para ver las posibles propiedades y así tener nuevos descubrimientos para un futuro. *Aloysia citriodora* tiene estudios preliminares en los que demuestra tener principios activos fungicidas y bactericidas, pudiendo este ser usado como fuente en la elaboración de preparaciones farmacéuticas en el tratamiento de infecciones causadas por estos microorganismos en la cavidad oral.

Esta investigación se realizó con la finalidad de responder al enunciado del problema ¿Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020? El objetivo general es: Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020. Los objetivos específicos se basaron en evaluar el efecto antibacteriano de *Aloysia citriodora* (cedròn) en las concentraciones

de 25%, 75% y 100% sobre la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) con la clorhexidina al 0.12% sobre la bacteria *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo- 2020.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, se aplicó una metodología de tipo prospectivo, cuantitativo, transversal y analítica, es decir de un nivel aplicativo y de diseño experimental; cada muestra se conformó por 10 repeticiones de cada grupo en las concentraciones de 25%, 75% y 100%. La investigación concluye que existe efecto antibacteriano de aceite esencial de *Aloysia citriodora*(cedrón) sobre *Streptococcus mutans*.

La investigación se gestiona de acuerdo con el plan descrito en el reglamento de investigación, que comienza con una introducción, que incluye un planteamiento del problema, objetivos generales y específicos, justificación, revisión de la literatura que incluye antecedentes y bases teóricas, hipótesis. Luego sigue una metodología que demuestra: diseño, tipo y nivel de estudio, población y muestra, operacionalización de variables, herramientas y técnicas de recolección de datos, plan de análisis, matriz de consistencia, principios éticos relevantes. Por último, resultados, conclusiones y aspectos complementarios o recomendaciones.

II. Revisión de literatura

2.1. Antecedentes:

2.1.1. Antecedentes Internacionales:

Oukerrou M, Tilaoui M, Mouse H, Leouifoudi I, Jaafari A, Ziyad A.⁹

(Marruecos - 2017) Composición química y actividades citotóxicas y antibacterianas del aceite esencial de *Aloysia citriodora Palau* cultivada en Marruecos.

Objetivo: Investigar los efectos citotóxicos y antibacterianos *in vitro* de los aceites esenciales de *Aloysia citriodora Palau*, cosechados en diferentes regiones de Marruecos.

Metodología:

El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, de tipo cuantitativo y nivel explicativo, se evaluó la actividad citotóxica frente a

las líneas celulares P815, MCF7 y VERO, así como las células mononucleares de sangre periférica humanas normales, se evaluó mediante el ensayo MTT. Estándar, ATCC, cepas de bacterias

(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*) fueron cultivadas en medio Muller Hinton. Luego, se determinaron la

difusión en disco de agar, las concentraciones inhibitorias mínimas y las concentraciones bactericidas mínimas utilizando el método de

microdilución. **Resultados:** El efecto citotóxico del aceite esencial de *A. citriodora* fue alto en P815 y moderado en MCF7 y en las líneas celulares

VERO. Por otro lado, los aceites esenciales mostraron una actividad antimicrobiana significativa contra las bacterias Gram- negativas y

Gram-positivas. **Conclusión:** Las MIC oscilaron entre 2,84 y 8,37 mg / ml. Aceite esencial de las hojas de *A. citriodora* poseen un importante

efecto antibacteriano y actividad citotóxica.

Shafiee F, Moghadamnia A, Shahandeh Z, Sadighian F, Khodadadi

E.¹⁰ (Irán - 2016) Evaluación de los efectos antibacterianos de extractos

acuosos y etanólicos de hojas de *Aloysia Citriodora* (Verbena de limón)

sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. **Objetivo:**

Determinar los efectos de los extractos acuosos y etanólicos de *Aloysia*

citriodora sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, que

causan caries. **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental,

prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel

explicativo. Se obtuvieron veinte muestras clínicas de la caries dental.

Los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *A. citriodora* se

prepararon en varias concentraciones que oscilaron entre 625 y 20 000

µg/ml. Población y muestra: Se realizó en cepas estandarizadas de

Streptococcus mutans PTCC1683 y *Streptococcus sobrinus* PTCC1601.

Resultados: *Streptococcus spp.* se aisló con éxito de nueve de 20 (45%)

especímenes. De las 9 muestras positivas cultivadas, 8 (88.8%) eran *S.*

mutans y 1 era *S. sobrinus* (11.2%). No se observó zona inhibitoria

alrededor de los discos y pocillos que contenían todas las

concentraciones de extractos de *A. citriodora*. **Conclusión:** Todas las

bacterias estudiadas eran resistentes a ambos tipos de extractos; por lo

tanto, no son un reemplazo sugerido para agentes químicos en enjuagues

bucales.

2.1.2. Antecedentes nacionales:

Huerta JR, Samaniego JW, Fuertes C. ¹³ (Lima – 2021)

Composición química del aceite esencial de *Aloysia Triphylla* “cedrón”; como insumo para la elaboración de un enjuague bucal.

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial obtenidos de las hojas y tallos de *Aloysia triphylla* “cedrón” provenientes de la ciudad de Huaraz, departamento de Ancash, distrito de Mancos. **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Se utilizó el método de hidrodestilación por arrastre de vapor para la obtención del aceite esencial y para la determinación de la actividad antibacteriana se realizó por la metodología de difusión de agar frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 comparándolas con un control positivo el cual era un enjuague bucal comercial de clorhexidina al 0,05%. **Resultados:** Se obtuvo un rendimiento del 0,11 y en el estudio microbiológico se obtuvieron halos de 21,3 mm del aceite esencial y 19,9 mm del control positivo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y de 35,5 mm en el aceite esencial y 25,4 mm del control positivo frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. **Conclusión:** La actividad antimicrobiana que demostró el aceite esencial de *Aloysia triphylla* (cedrón) es superior al control positivo que fue un enjuague bucal comercial de clorhexidina al 0,05%, pudiendo este ser usado como fuente en la elaboración de preparaciones

farmacéuticas en el tratamiento de infecciones causadas por estos microorganismos.

Del Aguila A, Cadenillas M. ⁶ (Lambayeque - 2019) Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora Palau*, *Annona muricata L.* y *Desmodium molliculum (Kunth) DC.* sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. **Objetivo:** Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora Palau*, *Annona muricata L.* y *Desmodium molliculum (Kunth) DC.* frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo, experimento *in vitro*. Se midió el efecto inhibitorio utilizando la técnica de difusión de Kirby-Bauer, que permitió medir la susceptibilidad, usando 5 concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 400 mg/ml y 500 mg/ml). **Resultados:** Al calcular los promedios de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Aloysia citriodora Palau*, se determinó que la especie más sensible fue *Staphylococcus aureus*, con halos de inhibición entre 8 a 15.11 mm; mientras que, *Pseudomonas aeruginosa* no presentó interacción. Con el extracto etanólico de *Annona muricata L.* se señala que ambas interactuaron sólo en la concentración de 500 mg/ml, encontrándose el promedio del halo de inhibición de 9.0 mm para *Pseudomonas aeruginosa* y 7 mm para *Staphylococcus aureus*. **Conclusión:** Los extractos etanólicos trabajados tuvieron efecto inhibitorio con las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus*

aureus.

Bardales M, Farfán M.⁷ (Callao - 2018) Determinación de los componentes mayoritarios del aceite esencial del cedrón (*Aloysia Triphylla*) mediante destilación por arrastre de vapor. **Objetivo:** Determinar los componentes mayoritarios del aceite esencial de cedrón (*aloyisia triphylla*) cultivado en la región de Tarnna departamento de Junín, mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). **Metodología:** Es de nivel aplicada, diseño experimental, tipo cualitativo y aplicativo. Se realizó mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS). El desarrollo del proceso de extracción del aceite esencial del cedrón, se realizó en un equipo extractor de arrastre con vapor. **Resultados:** Densidad (0.8705 g/cc), Índice de refracción (1.4852), Índice de acidez (1.08 mgKOH/g aceite), Índice de yodo (0.95 g de Yodo/100 g muestra), y el resultado de los análisis cromatográficos a la muestra de aceite esencial de cedrón fue de 15 componentes volátiles, siendo los componentes mayoritarios: 2,6- octadienal, 3,7-dimethyl (E) (Geranial) (20,70%); 2,6-octadienal, 3,7- dimethyl (Z) (Neral) (18,53%) y D-Limonene (26.41%). **Conclusión:** Los componentes mayoritarios del aceite esencial de cedrón son 2,6- octadienal, 3,7-dimetil (E) (Geranial) (20,70%); 2,6-octadienal, 3,7- dimetil (Z) (Neral) (18,53%) y D-limoneno (26.41%).

Anaya E.⁸ (Trujillo - 2018) Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (Cedrón) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 comparado con Oxacilina. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 μ . **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Para ello se realizaron 4 diluciones del aceite esencial (100, 75, 50 y 25%), con control positivo y negativo; se hicieron 14 repeticiones por cada grupo de estudio. **Resultados:** El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla*, mostró halos de inhibición en todas las diluciones sin embargo a partir de la dilución al 75% (30.07 mm), fueron considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI ≥ 22 mm) y al 100% el halo de inhibición fue de 35.14. **Conclusión:** El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 μ .

Chicoma R, Malca A.¹¹ (Cajamarca - 2015) Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Aloysia triphylla* P. (cedrón) de la Región Cajamarca, frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Objetivo:** Demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. (cedrón) de la región Cajamarca, frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Metodología:** El diseño metodológico fue

experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo, experimento in vitro. Se obtuvo el aceite esencial por hidrodestilación utilizando el destilador de caldera de acero inoxidable, Para analizar la actividad antibacteriana se utilizaron los métodos de Kirby Bauer y los pocillos. **Resultados:** Se analizaron con el método estadístico no paramétrico de Mann - Whitney, obteniendo un valor de $p=0,034$ para *Escherichia coli* y para *Staphylococcus aureus* $p=0,046$, por el método de los discos de sensibilidad y por el método de los Pocillos, *Escherichia coli* $p=0,010$ y $p=0,016$ *Staphylococcus aureus*. **Conclusión:** El aceite esencial de las hojas de *Aloysia triphylla* P. (cedrón) tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* pero no contra *Escherichia coli*.

Aliaga P.¹² (Tacna - 2013) Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. (Cedrón) frente a *Escherichia coli* ATTC 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923. **Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. (cedrón) de la región de Tacna (distrito de Tarata), frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Metodología:** El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Para la obtención del aceite esencial de *Aloysia triphylla* P. “cedrón”, se utilizó la técnica de destilación por arrastre con vapor de agua. **Resultados:** El aceite esencial de *Aloysia triphylla* P. (cedrón), contiene actividad antibacteriana significativa

frente a *Escherichia coli* y moderada frente a *Staphylococcus aureus*.

Conclusión: Sí existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. (cedrón) frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. *Aloysia citriodora* (cedrón)

Pequeño árbol caducifolio o arbusto, tiene ásperas y estriadas ramas. Olor a limón, lanceoladas, hojas en verticilos de 3, cortamente pecioladas, márgenes dentados, lanceoladas, con punteaduras glandulares en gran cantidad. Flor zigomorfa, hermafrodita, su cáliz con sépalos soldados. Con cuatro lóbulos de corola tubular, bilabiada. Androceo didínamo. Inflorescencia panícula. Frutos dinúculas. ^{14,15}

Aloysia citriodora es su nombre científico y más conocida como cedrón, verbena de indias o hierbaluisa, cedrón, es originaria de Sudamérica y dicha planta pertenece a la familia Verbenaceae, se cultiva por su olor similar al de la Lima o el Limón. ¹⁵

Son pequeñas flores de color blanco. Sus aceites esenciales son geraniol, nerol y citral. Su forma tiene muchos usos y usos medicinales, sus investigaciones farmacológicas en la mayoría se concentran en su aceite esencial, así mismo tiene función anti-espasmódica, carminative, eupéptica, analgésica local, antimicrobiana y ligeramente sedante. ¹⁶

Las funciones curativas de *Aloysia citriodora* son varias, se emplea para mejorar y sanar espasmos, las alteraciones nerviosas, como ataque de nervios, calambres, convulsiones, síncope e involuntarias contracciones en los músculos. También se utiliza para incentivar y facilitar las expulsiones de los gases intestinales y evacuaciones, así renueva sus funciones y limpia los intestinos. ^{14,15}

Las flores y hojas del cedrón se usan para infusiones y dar sabor a varias bebidas. Su fragancia suave se utiliza con mucha repetición en perfumería y en la elaboración de productos cosméticos, como de jabones corporales.¹⁵

Su utilización:

El brebaje y agua de *Aloysia citriodora* tiene una frecuente forma de ingesta para que sea seguro y tenga un agradable sabor. Asimismo, ya existen ofertas en función a *Aloysia citriodora* como los siguientes: tintura, yerba mate con cedrón, jabones, aceite esencial, entre otros.¹⁷ La *Aloysia citriodora* tiene diversos usos de forma externa y también interna según las afecciones que se quieran resolver.¹⁶

Utilización interna:

- Es utilizado para la expulsión de fluido del sistema digestivo, evita la aerofagia y la flatulencia, por lo que se consume una infusión refrescante y digestiva.
- Actúa como digestivo, tónico-estomacal y relajante, alejando a la dispepsia y a espasmos.
- Ataca a los malos alientos.

Farmacodinamia. *Aloysia citriodora* es una planta medicinal cuya infusión o decocción de la hoja y su tallo son usadas generalmente para los tratamientos como enfermedades gastrointestinales (diarrea, cólico, flatulencia, dispepsia, indigestión, vómito, náuseas etc.); esto es empleado para calmar el S.N (insomnio, ansiedad) y resfriado febril.¹⁷

Actividad biológica de los componentes del Cedrón.

Sus beneficios principales curativos del cedrón son ^{7, 18}:

- **Carminativo:** favorece la disminución de gases, también indicado para meteorismo o flatulencias.
- **Antiespasmódico:** es útil en caso de diarrea, tanto en personas adultas como en niños.
- **Antihistamínico:** es muy útil para tratar reacciones alérgicas, porque tiene propiedad que reduce el efecto causado por la liberación de histamina.
- **Analgésico local:** el cedrón tiene su componente analgésico y sedante, por eso disminuye el dolor provocado por una lesión.
- **Sedante:** sirve para el control de nerviosismo y disminuir el grado de estrés.
- **Antiséptico:** contiene las propiedades que favorecen a evitar infecciones en heridas.

Clasificación taxonómica de la planta del Cedrón

Taxonómica Posición. ⁷

- **Especie:** *Aloysia citriodora*
- **Clase:** MAGNOLIOPSIDA
- **División:** MAGNOLIOPHYTA
- **Sub clase:** ASTERIDAE
- **Género:** ALOYSIA
- **Orden:** LAMIACEAE
- **Nombre vulgar:** CEDRON

Composición química de aceite esencial de *Aloysia citriodora*.

El aceite esencial es una fracción líquida volátil, que se obtienen por arrastre destilable del vapor de agua, en la que se obtiene la sustancia responsable del aroma de la planta y son importantes en los alimentos, farmacia y la industria cosmética.^{7,18}

- **El citral.** Combinación de 2 monoterpénicos aldehídos isoméricos: geranial, neral.^{7,18}

Isómero trans- conocido como "geranial" o "citral A" o (E)- tres, siete-dimetil - dos, seis - octadienal.

Isómero cis- conocido como "neral" o "citral B" o (Z)- 3,7-Dimetil 2,6 - octadienal.

El mayor componente de aceite esencial de *Aloysia citriodora* es el citral, éste se caracteriza por su abundante aroma a limón; oxígeno, pH bajo o alto, su susceptibilidad al exponerse al calor provoca aumento en la consistencia del aceite esencial. También está presente en el jengibre, naranja, limón grass. Esta composición, es de materia prima en la síntesis de vitaminas A y E, iononas; también como un componente de importancia para la industria de perfumes como también de alimentos. El citral puede tener recciones de hidrogenación cuando se forma alcohol insaturado por ser un aldehído α -insaturado, ejemplo, el nerol, citronelol y geraniol; los cuales son productos de gran importancia para ser intermediario en la síntesis orgánica de la industria de sabores, industria química, la industria farmacéutica y fragancias. Se considera, que el olor "cítrico" del aceite esencial es por sus componentes que son el limoneno,

citral, nerol y geraniol.^{7,18}

- **Limoneno.** Es un abundante componente en aceite esencial en el cedrón de 7 a 11 %, presenta 2 isómeros ópticos, el R-(+)-limoneno y el S-(-)-limoneno, es un monoterpeno de fórmula $C_{10}H_{16}$. En la industria tiene mucha importancia, es utilizado como disolventes de resinas, en producción de p-cimeno, tintas, pigmento, en obtenciones de carvona y en fabricación de adhesivos.^{7,18}

2.2.2. *Streptococcus mutans*

La mayoría de las bacterias en la cavidad oral, más comúnmente los microorganismos *Streptococcus*, especialmente las Proteobacterias (serotipos c, e y f, *sanguis*, *sobrinus* y *cricetus*) están asociadas con la destrucción de los dientes. *Streptococcus* tiene forma de coco, se desarrolla en pares o cadenas, no se mueve, generalmente es positivo para la tinción de Gram y no forma esporas.^{19,20}

Streptococcus mutans es una bacteria Gram-positiva con una pared celular gruesa compuesta de ácido teicoico y peptidoglicano (proteínas de la pared) que previenen la lisis osmótica de los protoplastos celulares, dando rigidez y forma a las células. *Streptococcus mutans* tiene una cápsula compuesta por polisacáridos cuya subunidad estructural es el glucano.^{21,22}

Streptococcus mutans produce moco, se adhiere a las superficies, se divide dentro de la capa de moco y produce microcolonias y forma biopelículas. En concreto, se incorpora a la membrana dental a través de

proteínas en la superficie celular. *Streptococcus mutans* sintetiza y desarrolla cápsulas de glucano, uniéndolas al esmalte dental y formando biopelículas de 300 a 500 células. El metabolismo de *Streptococcus mutans* es capaz de descomponer la sacarosa. La fructosa se fermenta como base energética para el crecimiento bacteriano. La glucosa se polimeriza en un polímero de glucano extracelular que se une al esmalte de *S. mutans* y se convierte en la matriz de la placa. El mucílago de dextrano se puede despolimerizar en glucosa para usar como fuente de carbono, lo que da como resultado la producción de ácido láctico dentro de la biopelícula, la descalcificación del esmalte y la aparición de caries dental o infección bacteriana de los dientes.^{21,22}

Streptococcus mutans, se coloniza en la superficie del diente después de su erupción. El nombre que recibe es por la tendencia que tiene al intercambiar de aspecto, que lo podemos hallar como forma de coco o más alargado, también como bacilo.^{19,20}

Los *Streptococcus mutans*, presenta gran poder acidofílico, acidógeno y acidúrico, sintetiza también polisacárido extracelular como los glucanos insolubles y solubles, además de fructanos. Sintetiza a extracelulares polisacáridos; presenta capacidad adhesiva, mayormente en la proteína de la saliva porque se sabe que facilita la adhesión a la superficie dental o en el material de restauración, en ausencia del glucano, predomina la capacidad de agregar o coagregar por glucosiltransferasas y mutanos.

^{23,24}

Se encarga también de producir diferentes bacterias en la cavidad bucal. Finalmente sintetiza glucano insoluble por la sacarosa de alimentos restantes, por la glucosiltransferasa, ayudando así a la formación de placa bacteriana.²³

Los factores más involucrados de virulencia son:

Aciduridad: Así tenga un pH medio bajo esta bacteria tiene la capacidad de producir ácido en la cavidad oral.²⁵

Acidogenicidad: Produce la fermentación de azúcar en alimentos restantes y así originar lo principal que viene a ser el ácido láctico en el fin de metabolismo, hace que el pH bucal disminuya y así provoca la desmineralización sobre el esmalte dental.²⁵

Acidofilicidad: la acidez del medio resiste la bacteria del *S. mutans* bombeando protones fuera de la célula.²⁵

Adhesión de *Streptococcus mutans*

Expertos han indicado que estas bacterias se pueden adherir fácilmente a la cavidad bucal en niños para así producir lesiones cariosas cuando erupcionen las primeras piezas dentales alrededor de los 6 meses del infante.²⁵

Por lo tanto, la adhesión y la formación de colonias de *Streptococcus mutans* pueden aparecer antes de la erupción dental, por eso *S. sobrinus* y *S. mutans* tienen capacidad para adherirse a la zona superficial de mucosa oral, por ende, aumentará el riesgo de caries.²⁵

2.2.3. Clorhexidina

Es un agente bacteriano tópico utilizado en el tratamiento de la enfermedad periodontal y como enjuague bucal para el tratamiento de la gingivitis, para la prevención y el tratamiento de infecciones orales, estomatitis ulcerosa y gingivitis ulcerativa necrosante aguda. Así también se usa en la prevención y tratamiento de la mucositis en pacientes que reciben medicamentos contra el cáncer.²⁶

La clorhexidina se usa en muchas herramientas médicas, como son los implantes dentales, apósitos antimicrobianos y catéteres intravenosos.

Tiene un espectro antibacteriano contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, algunos hongos y virus (como el VIH), pero solo actúa sobre las esporas a altas temperaturas. Su efecto antiséptico es mejor que el de la povidona, el hexaclorofenol y el alcohol espumante. También se utiliza como antiséptico tópico por su efecto duradero sobre la piel con el uso continuado, mínima absorción y rápido efecto, aunque se han producido algunas reacciones alérgicas a la clorhexidina en tratamientos tópicos.^{26, 27}

La clorhexidina es inestable y penetra en las membranas celulares bacterianas. También acelera el citoplasma y actúa como un bloqueador de membranas, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que resulta en niveles más bajos Adenosintrifosfato y muerte celular. En las bacterias Gram negativas, la clorhexidina rompe la membrana externa, favoreciendo la liberación de enzimas periplásmicas. La clorhexidina exhibe efecto bacteriostático a bajas concentraciones y efecto bactericida

a altas concentraciones.

Los siguientes microorganismos son altamente sensibles a la clorhexidina: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y bacterias anaerobias. Las cepas de cocos *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y Gram-negativas son menos susceptibles a la clorhexidina. Los estudios clínicos no han mostrado un aumento significativo de la resistencia bacteriana o infección durante el tratamiento a largo plazo con clorhexidina.²⁸

III. Hipótesis

Hipótesis de investigación:

- **Hi:** Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

Hipótesis estadística:

Hipótesis nula:

- **Ho:** No existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

Hipótesis alterna:

- **HA:** Sí existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de investigación

Tipo de investigación:

Según el enfoque de investigación: Cuantitativo

- Pita S, Pértega S.²⁹ (2018) Usa la recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías.

Según la intervención del investigador: Experimental

- Gonzalez A.³⁰ (2019) Analiza el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientes.

Según la planificación de la investigación: Prospectivo.

- Gonzalez A.³⁰ (2019) Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.

Según el número de ocasiones en que se mide la variable: Transversal.

- Gonzalez A.³⁰ (2019) Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.

Según el número de variables de estudio: Analítico.

- Gonzalez A.³⁰ (2019) El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.

Nivel de investigación

La presente investigación es de nivel: Aplicativo.

- Gonzalez A.³⁰ (2019) Porque tiene intervención o manipulación a propósito de las necesidades de los objetivos de la investigación.

Diseño de la investigación

La investigación es de diseño: Experimental.

- Gonzalez A.³⁰ (2019) Porque el investigador ha manipulado la variable independiente y su efecto sobre la variable dependiente.

4.2. Población y muestra

Población de estudio

Estuvo conformada por Placas Petri sembradas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con diferentes concentraciones del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón), en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, provincia de Trujillo, Departamento La Libertad.

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

Placas Petri sembradas con Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 27175.

Criterios de exclusión

Placas Petri con halos de inhibición no muy claros.

Placas Petri con signos de contaminación.

Muestra

Tamaño de muestra

El tamaño de muestra para el presente estudio de comparación de grupos se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; para un $\alpha = 0,05$

$Z_{\beta} = 0.84$; para un $\beta = 0,20$

$\sigma_{\sigma}^2 = 0.8 \delta^2$ Valor asumido por no haber información previa completa de estudios similares.

Reemplazando los valores en la fórmula anterior se obtiene:

$n = 10$ unidades

Luego la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo.

Por lo tanto, se necesitaron 50 placas Petri 10 por cada grupo experimental.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores:

Variables	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Valor final	Tipo de variable	Escala
Aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón)	Aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) en diversas concentraciones a emplear. 15,31	Concentración del aceite esencial	Concentración	Concentraciones al: 25% 75% 100%	Cuantitativa	Razón
Efecto Antibacteriano	Capacidad de eliminar e inhibir el crecimiento y desarrollo bacteriano. ³²	Halos de inhibición	Escala de Duraffourd (mm)	1: Nula (20 mm) 2: Sensible (8 a 14 mm) 3: Muy sensible (14 a 29 mm) 4: Sumamente Sensible (>20 mm)	Cualitativa	Ordinal

4.4. Técnica e instrumento de recolección de datos

Técnica: Se realizó la observación y medición de los halos de inhibición generados.

Instrumento:

Para medir el efecto antibacteriano se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025.

(Anexo 4)

Procedimiento:

1. Para obtención del cedrón: La *Aloysia citriodora*(cedrón) se obtuvo de la provincia de Chota departamento de Cajamarca, se recogió y transportó en cajas de cartón a la provincia de Trujillo departamento de La Libertad, luego se llevó a la Universidad Nacional de Trujillo para obtener el aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón). (Anexo 5)

Para la extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora*(cedrón), se contó con el apoyo de la Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 6)

2 Extracción del aceite esencial

La extracción del aceite esencial, se realizó por el método de “hidrodestilación”.³³

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

Luego las hojas de cedrón se lavaron con agua de caño y se colocaron sobre papel Kraft. Posteriormente se secaron las hojas en una estufa de circulación de aire por 24 horas. Transcurrido el tiempo se armó el equipo de destilación, sometiendo las muestras a una corriente de vapor de agua sobrecalentada, arrastrando la esencia que posteriormente por acción del refrigerante, fue condensada. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, para lo cual se utilizó una pera de separación de vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na_2SO_4 anhidro. Finalmente se filtró, y se guardó los aceites en frascos de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura entre 4 °C a 8 °C.

3. Preparación de las diferentes concentraciones de los aceites esenciales.

Se prepararon las concentraciones según la siguiente tabla:

Volumen de aceite	Volumen de Tween 80	Volumen final	Concentración (%)
2,5 mL	7,5MI	10 mL	25
7,5 mL	2,5 MI	10 mL	75
10,0 mL	0,0 MI	10 mL	100

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

4. Obtención de la cepa:

Se trabajó con cepas estándar ATCC, (American Type Culture Collection) de unas especies bacterianas implicadas en la caries dental: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, serotipo C. Obtenidas del laboratorio Genlab. (Anexo 7)

5. Preparación del inóculo:

Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se cultivaron en tubos de ensayo cerrados herméticamente conteniendo el medio Agar Soya Trypticasa sangre. Se incubaron bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C con el fin de obtener colonias jóvenes. Luego de 24 horas cada cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se pasó a diluir en caldo tioglicolato hasta obtener una

turbidez semejante al tubo número 05 de la escala de Mac Farland. Una vez girados los tubos durante 30 segundos se procedió al sembrado para distribuir los microorganismos adecuadamente.³⁴

6. Enfrentamiento del *Streptococcus mutans* con el aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón)

Un hisopo estéril se embebió con la cepa preparada a una distancia de 10 cm de la llama del mechero, se procedió al sembrado en camada en placas petri conteniendo Agar Mueller Hinton, se estiró el hisopo uniformemente sobre toda la superficie del agar, girando cada placa 30 grados 10 veces aproximadamente. Las placas sembradas fueron incubadas en condiciones de micro anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Para el efecto antibacteriano se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby - Bauer, el cual consistió en preparar discos de papel de filtro estériles, los que fueron sumergidos dentro de cada concentración del aceite esencial de *Aloysia citriodora*(Cedrón), por el periodo no menor de una hora, luego con una aguja estéril, éstos se colocaron sobre los cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en las placas Petri previamente preparadas; las placas se mantuvieron en una posición por un periodo de 5 minutos. Luego de este tiempo las placas se voltearon de posición y se incubaron en micro anaerobiosis utilizando a la jarra de Gas Pack, con el método de vela, mediante el cual se obtendrá en un ambiente aproximadamente de 5 a 10% CO₂, a 37°C durante 24 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro de un diámetro de 10 cm de lallama de un mechero.³⁴

7. Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación 24 horas se examinó cada placa, se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó una regla milimetrada Mitutoyo Vernier Digital ISO9000.94, abarcando el diámetro del halo.³⁶ Se utilizó como medida los diámetros de estas zonas en mm, según la escala de Duraffourd, utilizada para determinar el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición.³⁵

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

8. Controles:

Para determinar el efecto antibacteriano: Se utilizó como control positivo la clorhexidina al 0.12 %, y como control negativo, discos con suero fisiológico.

Se solicitó la colaboración del Biólogo Microbiólogo y docente de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, en la etapa de preparación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, enfrentamiento del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) y lectura de resultados (Anexo 8).

4.5. Plan de análisis:

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

Para determinar efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se empleó el análisis de varianza de un diseño completamente al azar, luego una prueba de comparaciones múltiples utilizando Duncan. Ambas pruebas con nivel de significancia de 5%.

4.6. Matriz de consistencia

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLE	HIPÓTESIS	METODOLOGIA
<p>¿Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020?</p>	<p>Objetivo general: Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020.</p> <p>Objetivos específicos: -Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) al 25% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020. -Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) al 75% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020. -Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) al 100% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020. -Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) con la clorhexidina al 0.12% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2020.</p>	<p>Aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón)</p> <p><i>Streptococcus Mutans</i></p>	<p>Hipótesis de investigación: Hi: Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Hipótesis estadística: Hipótesis nula: Ho: No existe efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>Hipotesis alterna: H1: Si existe efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia citriodora</i> (Cedrón) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p>Tipo y nivel de investigación: El tipo de la investigación es cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal y analítica, es decir de nivel aplicativo.</p> <p>Diseño de investigación: Experimental puro.</p> <p>Población y muestra: La muestra estuvo conformada por 10 repeticiones de cada grupo en las concentraciones de 25%, 75% y 100%.</p> <p>Muestreo no probabilístico por conveniencia.</p>

4.7. Principios éticos

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote.³⁶ Se respetó y se aplicó los siguientes principios: cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, beneficencia no maleficencia, justicia, integridad científica.

Según el reglamento de laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo consiste en que al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121°C y 1 Bar de presión fueron inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.³⁷

Los residuos microbiológicos y patológicos fueron eliminados de forma tal que se asegure su descontaminación en autoclave (residuos microbiológicos) o incineración (residuos patológicos). Esto significa una bolsa primaria de color negro, se llenó solo hasta $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad y anudada y sobre ésta una bolsa color amarillo con logo y pre impreso de residuos especiales, se marcó el tipo de residuos que contuvo, el laboratorio o área de generación y la fecha. Estas bolsas cerradas anudadas, fueron almacenadas temporalmente en las áreas sucias en contenedores de color amarillo con logo de Residuo Biológico.³⁸

V. Resultados:

5.1. Resultados

Tabla 1.- Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

<i>Concentraciones</i>	<i>Ni</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Control negative</i>	10	0.00	0.00	251.45	0.0000
<i>Aceite esencial al 100%</i>	10	34.58	1.84		
<i>Aceite esencial al 75%</i>	10	23.66	2.37		
<i>Aceite esencial al 25%</i>	10	12.85	1.96		
<i>Clorhexidina al 0.12%</i>	10	18.42	0.88		

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Prueba Anova

Nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)

Interpretación:

En la tabla 1 se observa que el mayor efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* fue al 100% con 34.58 mm, seguido del 75% con 23.66 mm, luego clorhexidina al 0.12 % con 18.42 mm y al 25% con 12.85 mm.

Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo $p=0.000$, lo cual indica que existe diferencia estadística significativa entre los grupos de estudio.

Tabla 2.- Comparación del efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

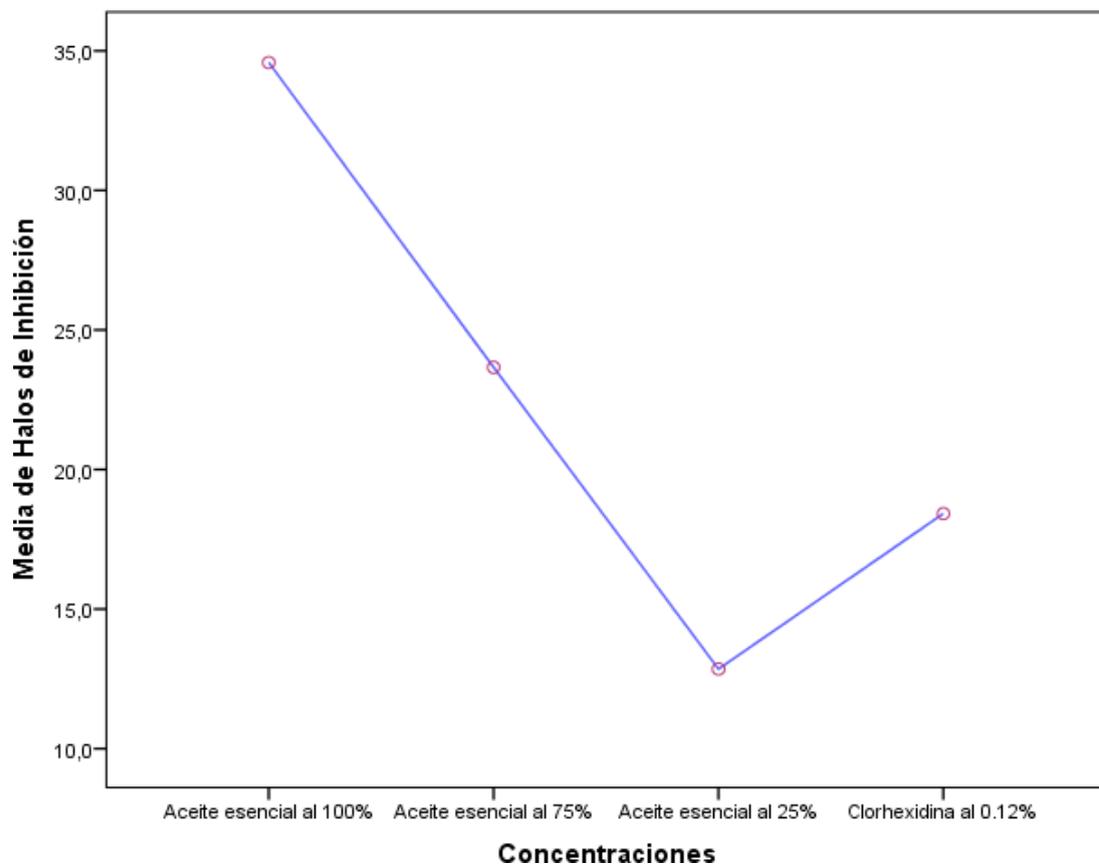
<i>Concentraciones</i>	<i>Ni</i>	<i>Grupos para-alfa = 0.05</i>			
		<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>	<i>G4</i>
<i>Aceite esencial al 25%</i>	10	12.85			
<i>Clorhexidina al 0.12%</i>	10		18.42		
<i>Aceite esencial al 75%</i>	10			23.66	
<i>Aceite esencial al 100%</i>	10				34.58

Fuente: Datos proporcionados por el investigador Prueba de Duncan
 Nivel de significancia estadística ($p < 0.05$)
 No se incluyó en el análisis el Control Negativo

Interpretación:

Se comparó los promedios de los halos de inhibición y se encontró que existe diferencia significativa entre las concentraciones de aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) al 25% y 100%; se observa que también existe diferencia significativa al 25% y 75%. El grupo de aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) al 100% obtuvo mayor promedio de halo de 34.58 mm.

La prueba Post Hoc de Duncan muestra el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*, a las concentraciones del 25%, 75% y 100%, apreciándose que, al aumentar las concentraciones del extracto, mayor es el efecto antibacteriano.



Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Gráfico 1.- Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Interpretación:

Observamos que hay diferencia entre las concentraciones donde a medida que aumenta la concentración, aumenta el diámetro de halo de inhibición.

Al 25% se obtuvo una media de 12.85 mm, al 75% se obtuvo una media de 23.66 mm y al 100% se obtuvo una media de 34.58 mm y en la clorhexidina al 0.12 % se obtuvo una media de 18.42 mm.

5.2. Análisis de resultados:

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25275. Para lo cual se hizo la obtención del aceite esencial de *Aloysia citriodora*, en concentraciones de 25%, 75% y 100%. Como control positivo se tuvo a la clorhexidina al 0.12% ya que su actividad antimicrobiana está claramente demostrada y el control negativo fueron discos con suero fisiológico.

Las hojas de *Aloysia citriodora* tienen muchas propiedades medicinales, lo que pueden hacer que su aceite esencial sea un reemplazo adecuado para las sustancias químicas en los enjuagues bucales u otros productos que son utilizados para la salud oral. Sin embargo, son escasos los estudios que se han realizado sobre *Aloysia citriodora* frente a bacterias que causan la caries.

A partir de los hallazgos encontrados, se determinó que el aceite esencial de *Aloysia citriodora* tuvo efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. Además, el aceite esencial de *Aloysia citriodora* en las concentraciones de 75% y 100% presentó mayor efecto antibacteriano que la clorhexidina al 0.12%. Estos resultados muestran una actividad antibacteriana, así como el estudio de Huerta¹³ y colaboradores en el que demostró actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Aloysia citriodora* siendo superior al control positivo que clorhexidina al 0,05%.

También en el estudio de Anaya⁸ tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* en el que también mostró halos de inhibición

en todas las diluciones, considerando eficaces desde la concentración de 75%, 95% y 100%. Según Oukerrou⁹ y colaboradores mostraron una actividad antimicrobiana significativa contra las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas que oscilaron entre 2,84 y 8,37 mg / ml. Por lo que el aceite esencial de las hojas de *Aloysia citriodora* posee un importante efecto antibacteriano y actividad citotóxica. Aliaga¹² lo enfrentó a las bacterias patógenas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a lo que indicó que sí contiene actividad antibacteriana significativa frente a *Escherichia coli* y moderada frente a *Staphylococcus aureus*. Pero en el estudio de Chicoma¹¹ el cual también lo enfrentó a bacterias patógenas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* concluyo que tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* pero no contra *Escherichia coli*.

La actividad antibacteriana mostrada es por sus componentes de citral y limoneno ya que el citral es una combinación de dos aldehídos monoterpénicos isoméricos: neral y geranial, también es mayor ingrediente del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y tiene un aumento de consistencia en el aceite esencial; mientras que el limoneno es otro abundante componente en el aceite esencial de *Aloysia citriodora* (7-11%).^{7,18} Esto se corrobora en el estudio de Bardales⁷ y colaboradores donde determinaron los componentes mayoritarios del aceite esencial del cedrón (*Aloysia Triphylla*) mediante destilación por arrastre de vapor, en el cual se determinó que los principales componentes del aceite esencial de cedrón son 2,6- octadienal, 3,7-dimetil (E) (Geranial) (20,70%); 2,6-

octadienal, 3,7- dimetil (Z), (Neral) (18,53%) y D-limoneno (26.41%).

Aun no hay investigaciones sobre el mecanismo de acción del aceite esencial de *Aloysia citriodora*, sin embargo, se puede decir que el citral es el mayor componente del aceite esencial de *Aloysia citriodora*.

Se puede determinar que el aceite esencial de *Aloysia citriodora* tiene actividad antibacteriana debido a la presencia de altas concentraciones de alcoholes y aldehídos de cadena larga, especialmente citral (14,21%), citronelol (8,67%), que son particularmente efectivos contra las bacterias Gram positivas. El resultado, por tanto, es que la hidrofobicidad del aceite esencial interactúa con la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular, dando como resultado una mayor permeabilidad y pérdida de componentes celulares.⁶

Esto se fundamentaría debido a que el aceite esencial de cedrón tiene entre sus principales componentes, a los hidrocarburos y aldehídos monoterpénicos, los que actúan a nivel de la membrana celular bacteriana aumentando su permeabilidad a iones pequeños, quedando afectada la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica. Cada uno de estos tres efectos provocaría la muerte en la célula bacteriana.¹²

Aparte de estudios realizados a base de aceite esencial de *Aloysia citriodora* también tenemos estudios a base de extractos acuosos y etanólicos, como el de Shafiee¹⁰ y colaboradores quienes realizaron un estudio de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Aloysia citriodora* sobre *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* a lo cual en su

estudio refieren que las bacterias estudiadas eran resistentes a ambos tipos de extractos, por lo que concluyó que no son un reemplazo sugerido para agentes químicos en enjuagues bucales. También Del Aguila⁶ y colaboradores realizaron un estudio de extractos etanólicos de *Aloysia citriodora*, *Desmodium molliculum* y *Annona muricata* L. sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en lo que señala que ambas interactuaron sólo en la concentración de 500 mg/ml, concluyendo que sí tuvieron efecto inhibitorio con las cepas antes mencionadas.

Para finalizar se considera que las discrepancias encontradas entre los resultados de los estudios previos y los del presente estudio dependen de la técnica utilizada para la extracción del producto evaluado, su forma de presentación, ya que en algunos extractos acuosos, etanólicos o aceites esenciales; también influye el terreno donde se realiza el cultivo (temperatura, altitud, humedad, tiempo en que se cosecha, etc.), lo cual puede repercutir en la concentración de los principios activos en las plantas.

VI. Conclusiones

Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans*.

Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) al 25 % sobre *Streptococcus mutans*.

Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) al 75 % sobre *Streptococcus mutans*.

Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) al 100 % sobre *Streptococcus mutans*.

Al comparar al aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) con la clorhexidina al 0.12%, el aceite esencial de *Aloysia citriodora* en las concentraciones de 75 % y 100 % presento mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* que la clorhexidina al 0.12%.

Aspectos Complementarios

Recomendaciones

- Realizar investigaciones experimentales, in vitro, para la elaboración o formulación de enjuagatorios bucales, dentífricos que contengan aceite esencial de *Aloysia citriodora* (cedrón).
- Realizar estudios de toxicidad de *Aloysia citriodora* (Cedrón).
- Impulsar a realizar estudios a base de *Aloysia citriodora* (Cedrón) con otras bacterias que causan la caries dental.
- Se sugiere a la Universidad impulsar una línea de investigación que permita los estudios preclínicos de plantas medicinales y su mecanismo de acción sobre microorganismos en la cavidad oral.

Referencias bibliográficas:

1. American Dental Association. Caries. Mouthhealthy.org. [Internet]. 2020 [citado el 30 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.mouthhealthy.org/es-MX/az-topics/c/cavities>
2. Selwitz R, Ismail A, Pitts N. Caries dental. PubMed NCBI [Internet]. 2020 [citado el 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17208642> DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60031-2
3. Mirsasan M, Zohreh G, Masoumeh S. y Amin H. Actividad antimicrobiana de cinnammon zeylanicum, timo vulgaris metanólico y etanolico y extractos etanólicos en S. Mutans. PTCC 1448. TLS. [Internet]. 2014. [citado el 20 de enero de 2020]. Disponible en: <http://sciencejournal.in/data/documents/Special-issue-TLS-Vol-3-Issue- 5-2015- 5.pdf>
4. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, Abranches J, Brady L. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology spectrum*. Pub Med.gob [Internet]. 2018. [citado el 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30657107> DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018
5. Russell A, Path F. Chlorhexidine: Antibacterial action and bacterial resistance. *Infection*. Pub Med.gob [Internet]. [citado el 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3539812> DOI: 10.1007/BF01644264

6. Del Aguila A, Cadenillas M. Efecto inhibitorio in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora* Palau, *Annona muricata* L. y *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Google Académico. [Internet]. 2020 [consultado el 30 de enero de 2020]. Disponible en:
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/5940>

7. Bardales M, Farfán M. Determinación de los componentes mayoritarios del aceite esencial del cedrón (*Aloysia Triphylla*) mediante destilación por arrastre de vapor. *Alicia.concytec.gob.pe*. [Internet]. 2020 [consultado el 30 de enero de 2020]. Disponible en:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAC_341449fd0214e49800cecbba051292e73

8. Anaya E. Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia Triphylla* “Cedrón” sobre *Staphylococcus Aureus* ATCC25923 comparado con Oxacilina *Alicia.concytec.gob.pe*. [Internet]. 2020 [citado 24 de junio de 2020] Disponible en:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV_fd3bc19aa00d509f252e4f4469ed857a

9. Oukerrou M, Tilaoui M, Mouse H, Leouifoudi I, Jaafari A, Zyad A. Composición química y actividades citotóxicas y antibacterianas del aceite esencial de *Aloysia citriodora* Palau producido en Marruecos. *Pub Med.gob* [Internet]. 2020 [consultado el 30 de enero de 2020]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28694822> DOI: 10.1155/2017/7801924

10. Shafiee F, Moghadamnia A, Shahandeh Z, Sadighian F, Khodadadi E. Evaluación de los efectos antibacterianos de extractos de hojas acuosos y etanólicos de *Aloysia Citriodora* (Lemon verbena) en *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. *Ephysician.ir*. [Internet]. 2020 [consultado el 30 de enero de 2020]. Disponible en: <http://www.ephysician.ir/index.php/browse-issues/2016/12/534-3363>
11. Chicoma R, Malca A. Descripción: Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Aloysia triphylla* P. “cedrón” de la Región Cajamarca, frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Alicia.concytec.gob.pe*. [Internet]. 2020 [Citado el 24 de junio del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/336>
12. Aliaga P. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia Triphylla* P. "Cedron" frente a *Escheria coli* ATTC 25922 y *Staphylococcus aereus* 25923. *Repositorio.unjbg.edu.pe*. [Internet]. 2020 [consultado el 31 de enero de 2020]. Disponible en: http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2967/170_2013_aliaga_mamani_pa_faci_biologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
13. Huerta J, Samaniego J, Fuertes C. Composición química del aceite esencial de *Aloysia Triphylla*; como insumo para la elaboración de un enjuague bucal. *Ágora* [Internet]. 2021 [Citado 7 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://revistaagora.com/index.php/cieUMA/article/view/172>

14. Azuero C, Armas H, Jaramillo C. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en el Ecuador. Repositorio.utmachala.edu.ec. [Internet]. 2020 [consultado el 31 de enero de 2020]. Disponible en:
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2822/2/CD0000-20-TRABAJO%20COMPLETO.pdf>
15. El Cedrón, sus usos y propiedades. Misiones. [Internet]. 2019 [Citado 5 febrero 2019]. Disponible en:
<https://www.visitemosmisiones.com/noticias/plantasmedicinales/el-cedron-sus-usos-y-propiedades/>
16. Beneficios y Propiedades medicinales del Cedrón. El Horticultor. [Internet]. 2019 [Citado 17 de febrero del 2019]. Disponible en:
<https://elhorticultor.org/propiedades-del-cedron-o-hierba-luisa/>
17. Aloysia citriodora Palau (Cedrón). Minsal.cl. [Internet]. 2019 [Citado 17 febrero del 2019]. Disponible en:
<https://www.minsal.cl/portal/url/item/7d989fe767786fd2e04001011e011e12.pdf>
18. Leo P. Caracterización fitoquímica del cedrón (Aloysia citrodora Paláu, Verbenáceas) en Argentina para su normalización. Docplayer.es. [Internet]. 2020 [Citado el 11 de febrero de 2020]. Disponible en:
<https://docplayer.es/61332573-Characterizacion-fitoquimica-del-cedron-aloyisia-citrodora-palau-verbenaceas-en-argentina-para-su-normalizacion.html>

19. Mirsasan M, Zohreh G, Masoumeh S. y Amin H. Actividad antimicrobiana de cinnammon zeylanicum, timo vulgaris metanólico y etanolico y extractos etanólicos en S.Mutans. Sciencejournal [Internet]. 2014 [Citado el 20 de febrero de 2020]. Disponible en: <http://sciencejournal.in/data/documents/Spectal-issue-TLS-Vol-3-Issue-5-2015-5.pdf>
20. Porte L, Braun S, Dabanch J, Egaña A, Andrighetti D. Streptococcus mutans: Una bacteria que hace honor a su nombre. Rev. chil. infectol. [Internet]. 2009 [Citado 28 de septiembre 2021]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000700017
21. Lin Z, Jens K, Sarah C, James G, Wenyuan S y Fengxia Q. Caracterización funcional de la proteína asociada a la pared celular en Streptococcus mutans. Pub Med.gov [Internet]. 2006 [Citado 13 febrero del 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16849803/> DOI: 10.1099/mic.0.28883-0
22. Todar K. Structure and Function of Bacterial Cells. Textbookofbacteriology.net. [Internet]. 2017 [Citado 13 febrero del 2021]. Disponible en: <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>
23. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans and dental caries. Ces Odontol. 2013. [Citado 13 febrero del 2020].
24. Huarino M, Ramos D. Efecto antibacteriano de Caesalpinia Spinosa (Tara) sobre flora salival mixta. Odontol. Sanmarquina. 2013 [Citado 13 febrero del 2017].
25. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica 2da Edición. Buenos Aires, Argentina: Panamericana. pg. 237-9. [Citado 13 febrero

- del 2017].
26. Russell A, Path F. Chlorhexidine: Antibacterial action and bacterial resistance. *Infection*. Pub Med.gov 1986. [Citado 13 febrero del 2017] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3539812> DOI: 10.1007/BF01644264
 27. Nicoletti G, Boghossian V, Gurevitch F, Borland R, Morgenroth P. The antimicrobial activity in vitro of chlorhexidine, a mixture of isothiazolinones ('Kathon' CG) and cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB). *Journal of [Internet]*. 1993 [Citado 13 febrero del 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8097222>
DOI: 10.1016/0195-6701(93)90014-q
 28. Rabe P, Twetman S, Kinnby B, Svensäter G, Davies J. Effect of Fluoride and Chlorhexidine Digluconate Mouthrinses on Plaque Biofilms. *The Open Dentistry Journal*. [Internet]. 2015 [Citado 13 febrero del 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4391207/>
 29. Pita S, Pértegas S. Investigación cuantitativa y cualitativa. *Fisterra.com*. [Internet]. 2019 [Citado 18 febrero del 2019]. Disponible en: https://www.fisterra.com/gestor/upload/guias/cuanti_cuali2.pdf
 30. Gonzalez A. Tipos Niveles y Diseños de Investigación. Tesis I. [Internet]. 2019 [Citado 18 febrero del 2020]. Disponible en: http://www.academia.edu/30135667/Tesis_I_Tipos_Niveles_y_Diseños_de_Investigación
 31. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002. [Citado 18 febrero del 2020].

32. Efecto antibacteriano, definición, concepto y significado. Definista. [Internet]. 2017 [Citado 18 febrero 2020]. Disponible en:
<http://conceptodefinicion.de/antibacteriano/Hernández>
33. González A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, departamento de Ingeniería Química. Abril- 2004. [Citado 18 febrero 2020].
34. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. [Internet] 2017 [Citado 22 de junio 2020] Disponible en:
https://clsi.org/media/1469/m100s27_sample.pdf
35. Durafflourd C, Hervicourt L, Lapraz J. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1° edición. París: Masson SA; 1983. [Citado 22 de junio 2020]
36. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 002. [Internet] 2017 [Citado 22 de junio 2020]. Disponible en:
<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>
37. Fica, A, Ruíz G, Yunes A. Normas de manejo de desechos hospitalarios. REV. Medwave [Internet] 2008 [Citado 02 diciembre 2020]. Disponible en:
<http://www.bvsde.paho.org/bvsair/e/repindex/rep62/guiamane/manuma.html>
38. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de chile. [Internet] 2013 [Citado 22 de junio 2020] Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacion-deresiduos-biologicos.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1:

FICHA DE RECOLECCIÓN DATOS.

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *ALOYSIA CITRIODORA* (CEDRÓN) SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO-2020

Autor: Requejo Peralta Danitza Lisbeth

Fecha:/...../.....

N° de	HALOS DE INHIBICIÓN				
	CONCENTRACIONES			Control positivo	Control negativo
Repeticiones	25 %	75%	100%	Clorhexidina al 0.12 %	Discos con suero fisiológico
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Fuente: Elaboración propia de la investigadora.

ANEXO 2:

INSTRUMENTO:

VERNIER DIGITAL marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20

ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



ANEXO 3:
CARTA DE PRESENTACIÓN



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 04 de febrero del 2020

Mg. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ

Docente de la Catedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de Coordinador (alterno) de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera Profesional de Odontología en la asignatura de Tesis II, nuestra alumna, **REQUEJO PERALTA, Danitza Lisbeth**; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de Tesis, titulado: **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ALOYSIA CITRIODORA (CEDRÓN) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO-2020"**, Así mismo para realizar el presente trabajo se solicita el apoyo a nuestra alumna para pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto.

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

Atentamente

Mg. C. Roxana Soto Vásquez
Docente de la Carrera Profesional de Odontología

Coordinador Alterno

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú
Teléfonos: (044) 600 569 / 600 565
Cel: 944 425 768
www.uladech.edu.pe



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 04 de febrero del 2020

DR. DAVID ZVALETA VERDE

Docente del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias
Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo
Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de
Coordinador (alterno) de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la
Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la
presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera
Profesional de Odontología en la asignatura de Tesis II, nuestra alumna, **REQUEJO
PERALTA, Danitza Lisbeth**; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de Tesis,
titulado: "**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ALOYSIA
CITRIODORA (CEDRÓN) SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175,
TRUJILLO-2020**", Así mismo para realizar el presente trabajo se solicita el apoyo a
nuestra alumna para pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto.

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

Atentamente

ME. C. DAVID ZVALETA VERDE
Docente del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias
Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo

Coordinador Alterno

ANEXO 4
Constancia de TAXONOMÍA

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

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

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Asteranae
- Orden: Lamiales
- Familia: Verbenaceae
- Género: **Aloysia**
- Especie: **A. citriodora** Palau.
- Nombre común: "cedrón"

Muestra alcanzada a este despacho por DANITZA LISBETH REQUEJO PERALTA, identificada con DNI: 73134790, con domicilio Urb. Wichanzao Mz- 1, Lte. 25-1, La Esperanza, Trujillo. Estudiante de la Escuela Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización de la Tesis: Efecto antibacteriano del aceite esencial de **Aloysia citriodora** "cedrón" sobre **Streptococcus mutans** ATCC 25175, Trujillo, 2020.

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

Trujillo, 05 de febrero del 2020



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

ANEXO 5

Constancia de colaboración de la Química Farmacéutica MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ.

CONSTANCIA DE COLABORACIÓN

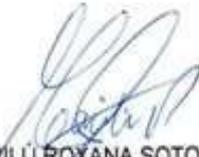
Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotecnia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura N° 06952.

Dejo constancia de haber colaborado en la extracción y preparación de las concentraciones del aceite esencial de cedrón, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Trujillo, a la alumna **DANITZA LISBETH REQUEJO PERALTA**, identificada con DNI 73134790, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada: Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO - 2020.

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo 14 de febrero del 2020.




Dra. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ
Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO 6:

Constancia de colaboración de David Zavaleta Verde, Microbiólogo en la ejecución del proyecto de investigación.

CONSTANCIA

Yo, **David Zavaleta Verde**, Biólogo Microbiólogo y docente de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N° 7941.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna Danitza Lisbeth Requejo Peralta identificado con DNI 73134790, con domicilio legal en Urb. Wichanzao Mz. 1Lt. 25-1; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, en la ejecución del proyecto de investigación "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo- 2020".

Trujillo, 14 de febrero del 2020



David Zavaleta Verde
MIC - BIÓLOGO
C.E.P. 7941

ANEXO 7:

Boleta de compra de cepas de *Streptococcus mutans*.

UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL TAMBORA S.A.S.

R.U.C. 20501262200
GUIA DE REMISION
REMITENTE
0002- Nº 0001133

Fecha emisión: 08/02/2019
Fecha Vcto: 08/02/2019

Destino: UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS AGRARIAS
Dirección: JR. TAMBORA N.º 47 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO
CIUDADOTE - SANTA - HUANUCO - Perú

Tipos de Monedas: 44719710
RUC: 000-000000

Lugar de destino:

Detalle:

Código	Descripción	Cant.	Unid.	Valor	Imp. Total
000000	000000	0000	0000	0000	0000

VERIFICACION MONEDA Y SMO CON SERIE SUICSA

Autenticación:

Autenticación	Imp. Original	Imp. Total
000000	000000	000000

República del Perú
Ministerio de Economía y Finanzas
Comisión de Promoción de la Factura Electrónica
Consultar: <http://tpe.gob.pe/efactura>

UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL TAMBORA S.A.S.

RUC Nº 20501262200
FACTURA
ELECTRONICA
F002-000151

Fecha emisión: 08/02/2019
Fecha Vcto: 08/02/2019

Destino: UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS AGRARIAS
Dirección: JR. TAMBORA N.º 47 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO
CIUDADOTE - SANTA - HUANUCO - Perú

Tipos de Monedas: 44719710
RUC: 000-000000

Lugar de destino:

Detalle:

Código	Descripción	Cant.	Unid.	Valor	Imp. Total
000000	000000	0000	0000	0000	0000

VERIFICACION MONEDA Y SMO CON SERIE SUICSA

Autenticación:

Autenticación	Imp. Original	Imp. Total
000000	000000	000000

República del Perú
Ministerio de Economía y Finanzas
Comisión de Promoción de la Factura Electrónica
Consultar: <http://tpe.gob.pe/efactura>

ANEXO 8:

CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS

Anexo 3: Luego de realizar la Prueba de Normalidad y corroborar que los datos se distribuyen de manera normal o simétrica, se aplicó la prueba estadística Paramétrica ANOVA.

1. Planteamiento de hipótesis.

- Hi: “Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2020.”
- Ho: “No existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.”

2. Nivel de confianza

Nivel de confianza = 0,95 (95%)

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

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

3. Establecimiento de los criterios de decisión

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

- Si “el valor de significancia $p > 0,05$ se acepta H_0 se rechaza H_1 ”.
- Si “el valor de significancia $p < 0,05$ se rechaza H_0 ; se acepta H_1 ”.

4. Cálculos

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

- **H_i**: Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.
- **H_A**: Si existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

Tabla 1.- ANOVA: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Entre grupos</i>	2569.81	3	856.60	251.45	0.0000
<i>Dentro de grupos</i>	122.64	36	3.41		
<i>Total</i>	2692.45	39			

Fuente: Analisis ANOVA- SPSS.

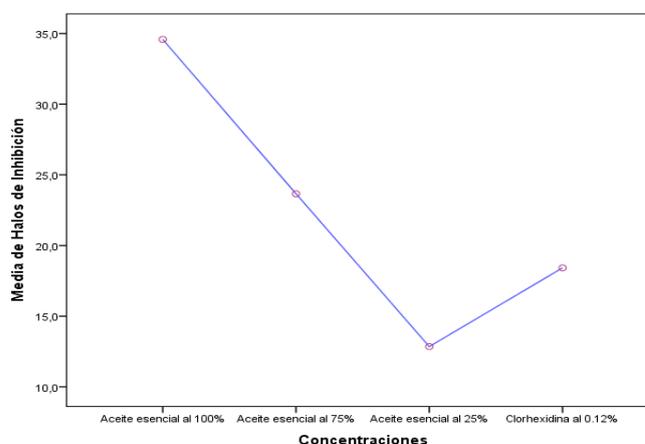
5. Decisión

La prueba ANOVA, arroja una significancia $p = 0,000 < 0,05$.

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

- **H_i**: Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2020.

Gráfico 1: Comparación de las medias de inhibición del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175



ANEXO 9:

RESULTADOS

Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2020

Repeticiones	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)				
	TRATAMIENTOS				
	Aceite esencial al 100%	Aceite esencial al 75%	Aceite esencial al 25%	Clorhexidina al 0.12%	Control negativo
1	36.8	26.4	16.8	19.2	0
2	34.6	24	13.6	19.4	0
3	33.6	25.2	14.4	18.8	0
4	33.4	22.9	11	17.3	0
5	30.8	20.3	10.5	18.4	0
6	35.4	26.2	11.7	18.3	0
7	35.6	24.6	13.9	19.6	0
8	36	25.6	13.6	18.6	0
9	33.2	20.4	11.9	17.1	0
10	36.4	21	11.1	17.5	0

ANEXO 10:

Prueba de normalidad

<i>Variable</i>	<i>Anderson - Darling</i>	<i>P</i>
<i>Aceite esencial al 100%</i>	0.308	0.50 3
<i>Aceite esencial al 75%</i>	0.447	0.22 0
<i>Aceite esencial al 25%</i>	0.369	0.35 4
<i>Clorhexidina al 0.12%</i>	0.273	0.58 3

ANEXO 11:

Constancia de colaboración Prof. AGUSTO CHAFLOQUE CHAFLOQUE

CONSTANCIA

Yo, **AGUSTO CHAFLOQUE CHAFLOQUE**, de go constancia de haber colaborado con la alumna **DANITZA LISBETH REQUEJO PERALTA**, identificada con DNI 73134790, con domicilio legal en MZ.1, LT. 25, Sector IV Wichanzao-la Esperanza-Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

Se hace constar que se colaboró con el análisis estadístico de la tesis titulada Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citradora* (Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2020

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado



FIRMA

PROFESOR AGUSTO CHAFLOQUE CHAFLOQUE

Trujillo, 17 de febrero del 2020

ANEXO 12:

Recolección de *Aloysia Citriodora* (Cedrón)



Lavado



Secado y desojado



Se pesó 1 kilo de *Aloysia Citriodora* para colocarlo en la olla a vapor



Para obtener el aceite se usó un destilador o extractor, en el cual se esperó una hora para obtener el aceite.



Una vez pasada la hora se vio una línea amarilla sobre el agua, para eso se eliminó el agua y solo quedó el aceite.



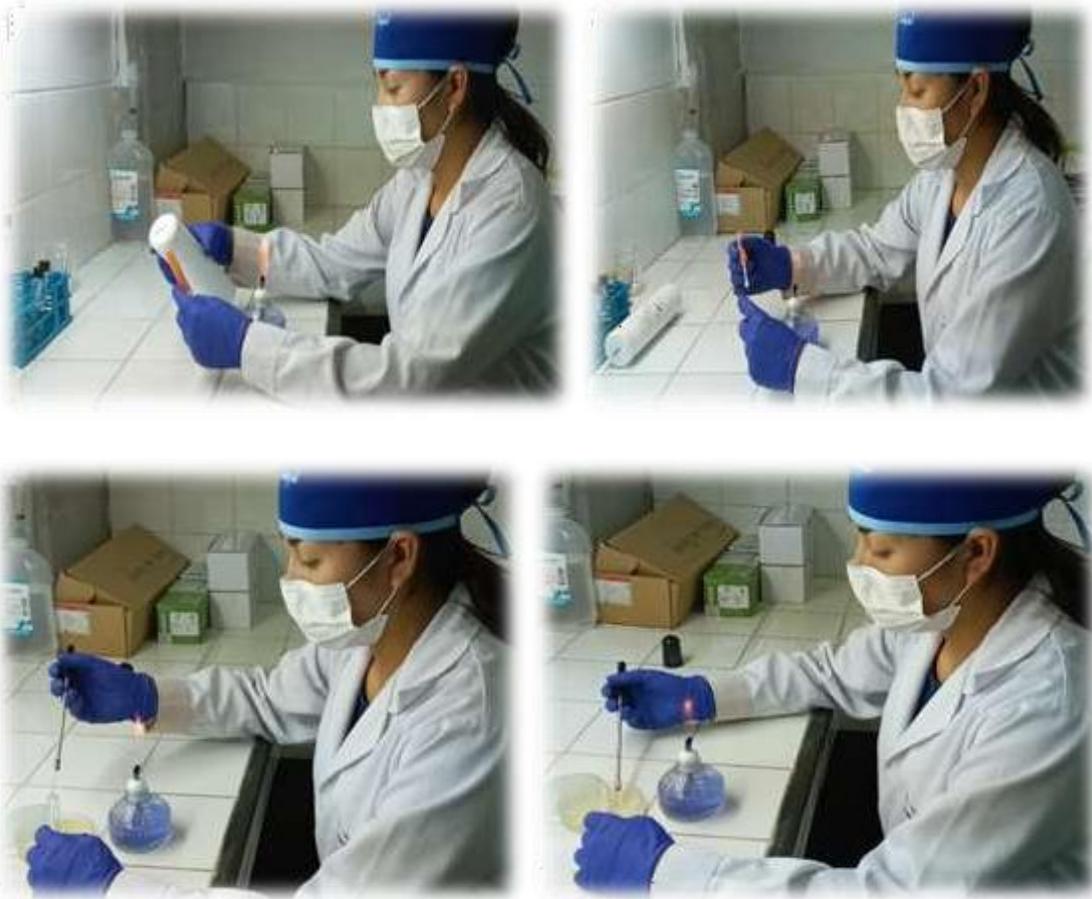
Una vez extraído el aceite esencial de *Aloysia Citriodora* se preparó en las concentraciones de 25%, 75%, 100%.



ANEXO 13:

**Evaluación del efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Aloysia citriodora*
(Cedrón) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2020**

Activación de la bacteria



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



Se prepararon discos de papel filtro tipo Whatman número 3 y se esterilizaron y luego fueron embebidos con 30 UI de cada una de las concentraciones de 25%, 75%, 100%.



Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinó cada placa y para la medida de los halos de inhibición se utilizó la regla de Vernier digital marca Mitutoyo, Modelo 500 – 196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150 mm /0-6”, por estar calibrado con ISO de calidad 17025.

