



**Universidad
Norbert Wiener**

**UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE CANELA
(*Cinnamomum zeylanicum*) EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA
AL 0.12% SOBRE CEPAS DE *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
ESTUDIO *IN VITRO*. LIMA 2017”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

Presentado por:

Bachiller: LUIS BARRIENTOS, ANGEL JORGE

**LIMA – PERÚ
2017**

Dedicatoria

A mi Dios que me ha dado la vida, cuidado, fortaleza y bendecido con darme una hermosa familia.

A mis padres Lucio e Isabel, a mis hermanos Gonzalo y Alberto, de forma especial a mi madre que ha sido un pilar fundamental en mi formación como profesional, por brindarme la confianza, consejos y oportunidades.

A mi bella hija Hazell quien es y será siempre mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y obstáculos en la vida, llegando a ser un gran ejemplo a seguir para ella, te amo.

Agradecimiento

A la Lic. Elizabeth Pareja Cuadros por su asesoría en la presente tesis y supervisión de los procedimientos realizados en los laboratorios de microbiología de la Universidad Privada Norbert Wiener.

A la Mg. Agustina Ramírez Torres, docente de la asignatura de Bioestadística de la Universidad Privada Norbert Wiener por su apoyo en el análisis estadístico del presente trabajo de investigación.

Asesor de tesis

LIC. ELIZABETH IRENE PAREJA CUADROS

Jurado

Presidente: Mg. CD. Esp. Cecilia Castañeda Espinoza

Secretario: Mg. CD. Esp. Jorge Alberto Girano
Castaños

Vocal: Mg. CD. Esp. Celia Aldazábal Martínez

ÍNDICE

1. CAPITULO I: EL PROBLEMA.....	11
1.1. Planteamiento del problema	12
1.2. Formulación del problema.....	13
1.3. Justificación	13
1.4. Objetivo	15
1.4.1. General	15
1.4.2. Específicos	15
2. CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. Antecedentes.....	17
2.2. Base teórica.....	26
2.2.3 Clorhexidina.....	38
2.4. Terminología básica	43
2.4. Hipótesis.....	44
2.4.1. Hipótesis nula.....	44
2.5. Variables	45
2.6 Definición operacional de términos.....	46
3. CAPITULO III: DISEÑO Y MÉTODO	47
3.1. Tipo y nivel de investigación	48
3.2. Población y muestra.....	48
3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	50
3.4. Procesamiento y análisis de datos	53
3.5. Aspectos éticos	53
4. CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1. Resultados	56
5. CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1. Conclusiones	63
5.2. Recomendaciones	63
ANEXOS	70
ANEXO N°1	70
ANEXO N°2	71
ANEXO N°4.....	84

INDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) al 100% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	56
Gráfico 1. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) al 100% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	56
Tabla 2. Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	57
Gráfico 2. Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	57
Tabla 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) al 100% en comparación de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	58
Gráfico 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) al 100% en comparación de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <i>in vitro</i> a las 72 y 120 horas.	58

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue conocer la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en comparación a la clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 “*in vitro*”. El estudio fue de tipo experimental, prospectivo y longitudinal. El aceite esencial se obtuvo utilizando el método de destilación por arrastre de vapor de agua utilizando la corteza de *Cinnamomum zeylanicum* (canela). Para el análisis microbiológico se utilizó el aceite esencial de canela al 100% y se aplicó el método de agar en pozo; para ello, se prepararon 30 placas Petri con agar Muller Hinton; cada placa tenía un pozo de 6 mm de diámetro saturados con aceite esencial de canela y clorhexidina al 0.12 % (DENTODEX®). Las muestras se incubaron a 37°C, y fueron retiradas únicamente para medir y registrar los halos de inhibición bacteriana al cabo de 72 y 120 horas. El aceite esencial fue comparado con clorhexidina al 0.12 % como control positivo para *Streptococcus mutans* ATCC 25175; como control negativo se utilizó agua destilada estéril. Los datos fueron procesados en el programa SPSS y se aplicó la prueba estadística T – Student. Concluyéndose que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) mostró estabilidad y actividad antibacteriana “*in vitro*” en cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas y 120 horas. La clorhexidina al 0.12% tuvo una mayor actividad antibacteriana que el aceite esencial frente a esta cepa bacteriana a las 120 horas.

Palabras Claves: *Cinnamomum zeylanicum*, *Streptococcus mutans*, clorhexidina, actividad antimicrobiana.

SUMMARY

The purpose of this investigation was to know the antibacterial activity of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil (cinnamon) compared to 0.12% chlorhexidine on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 "in vitro". The study was experimental, prospective and longitudinal. The essential oil was obtained using the steam distillation method using the *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) bark. For the microbiological analysis the 100% cinnamon essential oil was used and the well agar method was applied; for this, 30 Petri dishes were prepared with Muller Hinton agar; each plate had a 6 mm diameter well saturated with cinnamon essential oil and 0.12% chlorhexidine (DENTODEX®). The samples were incubated at 37 ° C, and were removed only to measure and record bacterial inhibition haloes after 72 and 120 hours. The essential oil was compared with 0.12% chlorhexidine as a positive control for *Streptococcus mutans* ATCC 25175; As a negative control, sterile distilled water was used. The data were processed in the SPSS program and the T - Student statistical test was applied. It was concluded that the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) showed stability and antibacterial activity "in vitro" in cultures of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 at 72 hours and 120 hours. Chlorhexidine at 0.12% had a higher antibacterial activity than the essential oil against this bacterial strain at 120 hours.

Key words: *Cinnamomum zeylanicum*, *Streptococcus mutans*, chlorhexidine, antimicrobial activity.

1. CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La caries dental es una enfermedad infecciosa, crónica, transmisible, muy prevalente en el ser humano, origina secuelas funcionales como la disminución de la capacidad masticadora, problemas estéticos al desfigurar la sonrisa sin mencionar los efectos infecciosos que puede ocasionar. (1)

La caries dental es un problema de salud pública (2). De acuerdo con reportes de la OMS, el Perú es uno de los países de Latinoamérica más afectados por las enfermedades bucales, como se demuestra al precisar que entre el 90% y el 95% de la población peruana (equivalente a 30 millones de habitantes según proyección 2013, del INEI) sufre de caries dental, además de tener uno de los índices más altos de caries en niños menores de 12 años. (3)

La etiología multifactorial de la caries ha sido tema de diversas investigaciones que plantean que su desarrollo se debe, entre otras causas, a la presencia de microorganismos cariogénicos en la cavidad oral. *Streptococcus mutans* ha ocupado el interés de muchos investigadores; en 1890, W. Miller, propuso la teoría quimioparasitaria para explicar el fenómeno de la caries dental, relacionando microorganismos, carbohidratos de la dieta y enfermedad dental. (4). El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental (estreptococos del grupo mutans, *Lactobacillus* spp y *Actinomyces* spp) de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a la génesis de la caries dental. (5)

Las investigaciones realizadas con el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) han demostrado su efecto antimicrobiano sobre hongos fitopatógenos y bacterias como *Staphylococcus* (6, 7, 8, 9) por lo que es necesario investigar su poder antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*; dado que existe una alta prevalencia e incidencia de caries dental en la población estudiada lo que evidencia la necesidad de atención odontológica prioritariamente en intervenciones preventivas. (3)

1.2. Formulación del problema

¿Cuál será la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la Clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio *in vitro*. Lima 2017?

1.3. Justificación

La caries dental ha sido reconocida como un problema de Salud Pública, encontrando como una de las causas el inadecuado hábito de higiene bucal. El Perú, después de Guatemala, es el país Latinoamericano con el índice más alto de caries dental en niños menores de 12 años de edad. Encontrándose a la bacteria más importante en la iniciación de la caries al *Streptococcus mutans*, se hace necesario la búsqueda de sustancias que inhiban su crecimiento.

En la actualidad se encuentran estudiando las plantas medicinales y entre ellos los aceites esenciales con acciones inhibitorias sobre microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

La OMS reconoce la necesidad de incorporar a la salud pública los recursos y técnicas de la medicina tradicional. Así el medicamento tradicional puede contribuir a la solución del problema de salud bucal en poblaciones rurales, así como aliviar el alto costo y difícil adquisición de medicamentos hechos a base de insumos químicos; de esta forma la necesidad de lograr sustancias antibacterianas sobre el *Streptococcus mutans* que puedan ser utilizadas como enjuagues bucales y sin tales efectos colaterales. Las plantas y sus propiedades antibacterianas, son una alternativa válida; sus productos naturales no son tóxicos, tienen menos efectos secundarios que las drogas sintéticas, y son accesibles a precios asequibles.

Los múltiples beneficios médicos de la canela son bien conocidos; pero su posible uso como antibacteriano sobre la principal bacteria implicada en la formación de caries dental, no reúne mayores referencias; he allí donde se pretende consolidar este aporte a la investigación y por ende al medio odontológico. Dada la escasez de investigaciones científicas en el área temática, fortalece el valor del trabajo propuesto. De esta manera, la presente investigación podrá brindar una alternativa de elección en la inhibición del crecimiento del principal agente microbiológico asociado a la caries dental; por consiguiente una alternativa en la prevención y tratamiento de la patología más frecuente de la cavidad oral; por lo que este estudio evaluará la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en comparación a la Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) en comparación a la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio “*in vitro*” Lima 2017.

1.4.2. Específicos

- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 y 120 horas.
- Comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% con clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.

2. CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

CUEVA J. (2017) Realizó un estudio experimental con el propósito de conocer la actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 “*in vitro*”. Para el análisis microbiológico se utilizó el aceite esencial de romero al 100% y se aplicó el método de agar en pozo; para ello, se prepararon 30 placas Petri con agar Muller Hinton; cada placa tenía un pozo de 6 mm de diámetro saturados con aceite esencial de romero y clorhexidina al 0.12 %. Las muestras se incubaron a 37°C, y fueron retiradas únicamente para medir y registrar los halos de inhibición bacteriana al cabo de 72 y 168 horas. El aceite esencial fue comparado con gluconato de clorhexidina al 0.12 % como control positivo para *Streptococcus mutans* ATCC 25175; como control negativo se utilizó agua destilada estéril. Concluyendo que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) mostró actividad antibacteriana “*in vitro*” en cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 horas y que la clorhexidina al 0.12% tuvo una mayor actividad antibacteriana que el aceite esencial frente a esta cepa bacteriana a las 168 horas. (10)

AIZAGA S. (2017) Realizó un estudio con el objetivo de determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) sobre *Cándida albicans* ATCC 1023. El aceite esencial de canela fue extraído mediante método de destilación por arrastre de vapor, en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%. La cepa fue sembrada en 16 placas Petri de agar Mueller Hinton a través del Método

Difusión en Disco, colocando cada una de las concentraciones en cada placa, con un grupo control positivo (Nistatina) y un grupo control negativo (suero fisiológico), a las cuales se las llevó a incubar a 37° C, durante 24 horas. Se realizó 16 repeticiones de cada concentración del aceite, obteniéndose 64 tratamientos del grupo experimental. Los resultados demostraron que el aceite esencial de canela al 100% tuvo un mayor valor en comparación con las otras 3 concentraciones, con un halo de inhibición promedio de 24,06 mm. Concluyéndose que el aceite esencial de canela al 100% presenta un efecto antifúngico de la *Cándida albicans*, siendo superior a las diferentes concentraciones comparadas. (11)

ROCHA R (2016) Realizó un estudio experimental con el propósito de determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el cual se realizó en las concentraciones de 5%, 25%, 50%, 75% y 100%; empleando el método de difusión de discos; en los cuales todos los discos presentaron halo de inhibición, y los tamaños de éstos aumentaron directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Para hallar CMI, se empleó el Método de dilución en tubos; de cada cultivo se sembraron en Agar Muller Hinton – Sangre, para determinar las UFC; en tanto que, las 5 concentraciones de aceite esencial de romero presentaron efecto inhibitorio del crecimiento de *Streptococcus mutans*, así mismo se halló la concentración mínima inhibitoria en aceite esencial de romero al 75%; concluyéndose que tanto el aceite esencial de romero a las concentraciones mencionadas poseen actividad inhibitoria *in vitro* sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*. (12)

SOLANO X, MOYA T, ZAMBRANO M. (2016) Estudiaron el *Rosmarinus officinalis* con el objetivo de determinar la inhibición de crecimiento bacteriano in vitro de *Streptococcus mutans*, mediante el uso de sus extractos acuoso y oleoso. El estudio experimental evaluó la acción antimicrobiana frente al *S. mutans* ATCC 25175 a través de técnica microbiológica de difusión de discos en medio sólido; para ello se utilizó dos grupos de 15 muestras cada una en placas Petri; siendo G1: Extracto acuoso de 1.5% y 3%, G2: Extracto oleoso 50%. Cada uno de los grupos tuvo un control positivo de Clorhexidina 0.12% y un control negativo de agua destilada. Se aplicó el test estadístico de U Mann Whitney con un nivel de significancia de 5%. Los extractos acuosos y el agua destilada produjeron un halo de inhibición de 0 mm. El extracto oleoso elaborado produjo una media de 11,93 mm de halo de inhibición ($p < 0.001$), versus la Clorhexidina que presentó una media de 16.13 mm ($p < 0.001$). No se encontraron diferencias entre el extracto oleoso y la clorhexidina ($p > 0.05$). Concluyéndose que el extracto acuoso de romero no mostró efecto antibacteriano sobre el *S. mutans*. El extracto oleoso de romero mostró acción antibacteriana sobre *S. mutans*, siendo similar a la clorhexidina. (13)

GARCÍA K. (2016) Realizó un estudio experimental propósito de determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. El estudio se desarrolló en los laboratorios de Farmacongsia y en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. La muestra estuvo constituida por 12 repeticiones por cada concentración de canela y de control (penicilina) para

determinar la sensibilidad o resistencia bacteriana y 12 repeticiones por cada concentración de canela y del control para determinar el efecto bactericida. La efectividad de dicho aceite esencial frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 se determinó a través de la sensibilidad bacteriana mediante la difusión de discos, determinándose los halos inhibitorios de acuerdo a la Escala de Duraffourd y el efecto bactericida mediante la presencia o ausencia de las Unidades Formadoras de colonias (UFC). Los resultados demostraron que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. (14)

MENDOZA S. (2016) Realizó un estudio con el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Cinnamomum zeylanicum* “canela” sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*; en los laboratorios de la Facultad de Medicina de la UCV, Facultad de Microbiología de la UNT y Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT. El aceite esencial de canela se obtuvo por arrastre de vapor; el cultivo se realizó por medio del método de Kirby – Bauer, encontrándose que *Cinnamomum zeylanicum* tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *P. aeruginosa*, que dentro de las diluciones realizadas la de menor cantidad es al 25% (662.5 µg), que llevadas a disco todas las diluciones por el método de Kirby – Bauer fue de 23.53 mm para la concentración al 100%, 21.24 mm para la concentración al 75%, 20.28 mm para la concentración al 50% y 22.41 mm para la concentración al 25%, pese a contar con efecto antibacteriano por halos, al comparar con la ceftazidima la eficacia por promedio de halos es menor. (15)

CERGA L. (2015) Realizó un estudio con el objetivo de determinar el efecto inhibitorio de los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) y *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) en comparación con gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Los aceites esenciales de dichas plantas se obtuvieron por el método de arrastre por vapor de agua utilizando corteza de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) y botones secos de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) a concentraciones de 1%, 5%, 25%, 50%, 75% y 100%. Para tal efecto se reactivaron los *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y luego fueron sembrados en placas Petri (15 cm de diámetro) que contenían el medio de cultivo Mueller Hinton con pozos de 6 mm de diámetro donde se vertieron aproximadamente 100 µL de los aceites esenciales comparados con Gluconato de clorhexidina al 2% como control positivo y Tween 20 como control negativo. Las placas se incubaron a 37°C para comprobar la viabilidad de las bacterias y la esterilidad del medio, se realizó la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier a las 24 y 48 horas. Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvo que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) en su concentración mínima efectiva (1%) fue mayor al efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) en su concentración mínima efectiva (25%). A su vez se observa un efecto antimicrobiano mayor del control positivo Gluconato de clorhexidina al 2 %. (16)

GARCÍA K. (2015) Realizó un estudio en la Universidad de Trujillo-Perú con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro por el método de concentración inhibitoria mínima bactericida.

Los resultados mostraron que el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* “canela” presentó efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La concentración mínima bacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue de 25%, concluyendo que a mayor concentración (25%, 50%, 75% y 100%) hubo mayor efecto. (17)

CÁCERES et al. (2013) Realizaron un estudio en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua- México el que tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de extractos acuosos de especias de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) obtenido mediante la técnica de hidrodestilación, contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. Los resultados obtenidos mostraron que el extracto acuoso la actividad biológica del aceite esencial y oleorresinas de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) demostrando la completa inhibición micelial contra *Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium citrium* y *Penicillium viridicatum* a 6 µL.

La actividad antifúngica del extracto acuoso de Canela (*Cinammomun zeylanicum*) se pudo determinar a concentraciones de 500 ppm para todos los hongos utilizados en el estudio. (6).

SÁNCHEZ Y LUJÁN (2013) Investigaciones realizadas en la Universidad de Trujillo- Perú tuvieron como objetivo determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del

aceite esencial y del extracto acuoso de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Cándida albicans* y *Streptococcus mutans*.

La CMI se determinó a través del método de diluciones en tubos mientras que el efecto antimicrobiano se determinó a través del método de difusión de discos. Los resultados mostraron que la CMI del extracto acuoso y el aceite esencial de canela sobre el crecimiento de la *Cándida albicans*, fue de 1 mg/mL. Así mismo, se halló que la CMI del extracto acuoso y del aceite esencial de la canela sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans* fue 0,8 mg/mL y 1 mg/mL, concluyendo que sólo el aceite esencial de canela tuvo efecto antimicrobiano sobre la *Cándida albicans*. (7)

VERA G. (2013) Realizaron investigaciones en la Universidad de Trujillo-Perú con el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano in vitro de tres concentraciones del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cándida albicans* empleando el método de disco difusión de Bauer y Kyrbi obteniéndose los siguientes resultados: efecto antimicrobiano significativo sobre las especies de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cándida albicans*; concluyendo que el menor poder lo ejerció sobre *Pseudomonas aeruginosa*.(8)

MARCA (2012) Realizó un estudio en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna - Perú con el objetivo de evaluar la Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 obteniéndose el aceite esencial mediante destilación por

arrastre de vapor utilizando el método de Kirby Bauer para la evaluación antimicrobiana y por dilución en medio líquido se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y por difusión en agar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial obteniéndose el siguiente resultado: *Cándida albicans* presenta alta sensibilidad al aceite esencial. La CMI para *Cándida albicans* fue de 0,01895 mg/mL y la CMF fue de 0,020529166 mg/mL. Se concluye que el aceite esencial de *Cinnamomun zeylanicum* Breyn presenta actividad antimicótica frente a *Cándida albicans*. (18)

GOMEZ Y LOPEZ (2009) Realizaron un estudio en la Universidad de las Américas – México con el objetivo de evaluar el potencial antimicrobiano de canela (*Cinammomun zeylanicum*) han demostrado que tiene efecto inhibidor sobre *Aspergillus* y *Penicillium*. Se puede concluir que el potencial antimicrobiano se debe principalmente a la acción individual o sinérgica de sus componentes sobre la integridad de la celular de los microorganismos. (19).

GARCÍA et al. (2006) Realizaron en México el estudio de la actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera; obteniendo el siguiente resultado: ambos aceites presentaron actividad fungicida *in vitro* contra *A. flavus*, el aceite esencial de orégano a partir de 1000 ppm y el de canela de 2000 ppm, en medio de cultivo de malta-salagar y un efecto fungistático en 100 ppm. Sin embargo, al evaluar el efecto inhibitorio en la producción

de aflatoxinas por *A. flavus* en almendra de nuez pecanera irradiada, el aceite esencial de canela mostró mayor inhibición que el aceite esencial de orégano, ya que a los 30 días de almacenamiento a 85% de humedad relativa y 25°C, las nueces tratadas con 100 y 2000 ppm presentaron estadísticamente la misma concentración de aflatoxinas que las nueces sin inóculo, y en las nueces tratadas con aceite esencial de orégano, solamente en las que se aplicó una dosis de 2000 ppm, hubo inhibición en la producción de aflatoxinas. Concluyendo que tiene actividad fungicida. (20).

HERRERA A. Y GARCÍA R. (2006). Realizó un estudio en la Universidad de Pamplona- Colombia con el objetivo de evaluar in vitro la actividad bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela, tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. La metodología empleada fue por disco difusión. Se obtuvieron los siguientes resultados: La canela presentó concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), frente a bacterias como *E. coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella spp.*, del orden de 500 a 1000 µg/mL. Se concluyó que el extracto de canela ejercía un importante efecto inhibitorio frente a *B. cereus* y *Salmonella*. (21).

PADRÓN et al. (2003). Realizó un estudio en México con el objetivo de Identificar los compuestos de *Melia Azedarach*, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. Fuerte actividad antimicrobiana sobre *Salmonella typhi*, *Bacillus cereus* y *T. tonsurans*. Se concluye

que el mejor método de extracción fue el de agitación y que el extracto etéreo presentó mejor actividad antimicrobiana. (22)

PITARCH C. (2000). Realizaron un estudio en España con el objetivo de determinar la evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales a través del método de disco difusión, encontrando los siguientes resultados: *Cinnamomum zeylanicum* al 56% produjo actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Cándida albicans* y *Escherichia coli*. Se concluye que posee un buen efecto antimicrobiano (9).

2.2. Base teórica

2.2.1. *Streptococcus mutans*

2.2.1.1 Generalidades

Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa bacteriana (biofilm o biopelícula) con todas sus funciones, interacciones y propiedades. El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental (estreptococos del grupo mutans, *Lactobacillus spp* y *Actinomyces spp*) de los cuales, *Streptococcus mutans* es el agente más importante asociado a ella. (5)

La formación de la biopelícula dental y su sistema de quórum sensing son fundamentales en la vida del *Streptococcus mutans*. La superficie dental es un

hábitat natural indispensable para *Streptococcus mutans* y el tropismo por la biopelícula dental se refleja por su adaptación a sintetizar glucanos, fijar compuestos y a adaptar su aciduricidad. (5)

Streptococcus mutans produce ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico cuando metaboliza carbohidratos fermentables como la sacarosa, glucosa y fructosa. Estos ácidos circulan a través de la placa dental hacia el esmalte poroso, disociándose y liberando hidrogeniones, los cuales disuelven rápidamente el mineral del esmalte, generando calcio y fosfato, los cuales, a su vez, difunden fuera del esmalte. Este proceso se conoce como desmineralización. (5)

Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus*, básicamente las especies *mutans* (con sus serotipos c, e y f), *sanguis*, *sobrinus* y *crictetus*, han sido asociados a la caries, tanto en animales de experimentación como en humanos. Se conoce que los causantes principales de las caries son los *Streptococcus* del grupo *mutans*, asociados con otras bacterias que pueden modificar el desarrollo de las lesiones. El *Streptococcus mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas humanas, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción. Su nombre lo recibe de su tendencia a cambiar de forma, y se puede encontrar como coco o de forma más alargada, como bacilo. (23)

2.2.1.2 Morfología y características en cultivo

El *Streptococcus mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa,

lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoniaco. (5)

Usualmente no producen ni hemólisis, ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. *Streptococcus mutans* se ha subclasificado en varios tipos con base en las propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas: los serotipos de *Streptococcus mutans* son c, e, f y k. El hábitat natural de *Streptococcus mutans* es la boca humana. En cavidad oral, las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas. Puede aislarse frecuentemente de heces en humanos y ratas. Aunque *Streptococcus mutans* no se distribuye ampliamente en animales salvajes, se ha aislado en monos, murciélagos, ratas salvajes habitantes de campos de cultivo de caña de azúcar y de monos Rhesus. Igualmente, se ha aislado en ratas y hámsteres de experimentación. (23)

2.2.1.5 Sustrato cariogénico

Dentro de los factores que favorecen el desarrollo de la caries dental, uno de los más estudiados es el consumo excesivo de azúcares simples. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre caries y carbohidratos refinados o azúcares, especialmente, la sacarosa. Los azúcares consumidos con la dieta constituyen el sustrato de la microflora bucal y dan inicio al proceso de cariogénesis. (24)

La sacarosa, formada por dos monosacáridos simples: la fructosa y la glucosa; se considera el más cariogénico, no sólo porque su metabolismo produce ácidos, sino porque el *Streptococcus mutans* lo utiliza para producir glucano, polisacárido

extracelular, que le permite a la bacteria adherirse firmemente al diente, inhibiendo las propiedades de difusión de la placa. (24)

2.2.1.7 Medios de cultivo

No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS). Aunque el Agar MS fue originalmente desarrollado para aislar *Streptococcus fecales*, su uso ha predominado sobre otros medios de cultivo para el aislamiento de *Streptococcus* orales, incluyendo *Streptococcus mutans*. En el agar MS, muchos *Streptococcus* orales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial. Usualmente, la placa de agar se cultiva en una atmósfera del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días seguida de una incubación en aire por 1 o 2 días. Además de la morfología característica de las colonias, los *Streptococcus* orales pueden diferenciarse por su habilidad para fermentar ciertos azúcares (especialmente manitol y sorbitol) y por adherirse a superficies lisas en presencia de sacarosa. El cultivo en agar es considerado como el estándar de oro ya que permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas, mediante métodos cuantitativos en medios no selectivos. (5)

Actualmente hay 5 medios de cultivo diferentes para el aislamiento de *Streptococcus mutans*. Estos son: Agar Mitis salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius

con bacitracina y kanamicina (MSKB) Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB) Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB). El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *Streptococcus mutans* y otras especies orales de *Streptococcus*. El agar MS ha sido modificado para ser más selectivo en el aislamiento de *Streptococcus mutans* adicionando tanto sulfonamida (Agar MC), bacitracina (Agar MSB), polimixina o aun sacarosa (MS40S). Los métodos de recuento de colonias permiten determinar el grado de colonización producida por *Streptococcus mutans* según las edades, siendo de gran utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación permitiría desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas y vulnerables. (5)

2.2.1.8 Clasificación de *Streptococcus mutans*

Con base en la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, *Streptococcus* del grupo *mutans* se pueden clasificar en 8 serotipos: *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus ferus* (serotipo c), *Streptococcus macacae* (serotipo c) y *Streptococcus downei* (serotipo h). Se sabe que el serotipo c de *Streptococcus mutans* es el tipo predominante en la cavidad oral humana más que las cepas e, d, f y k. (5)

Los polisacáridos de la pared celular juegan un papel importante en la colonización de sus nichos ecológicos. Las diferencias en las afinidades para la unión de los antígenos de polisacáridos a los tejidos humanos pueden ser la causa de esta distribución tan variada. Por otro lado, se cree que el progenitor de *Streptococcus*

mutans haya sido el serotipo c y que las cepas f y e pueden haberse originado por mutaciones del determinante del serotipo c. *Streptococcus mutans* generalmente es conocido como patógeno dental e igualmente se considera que causa bacteremia y endocarditis infecciosa. Previamente se ha clasificado en tres serotipos c, e y f debido a la diversa composición química de los polisacáridos específicos de los serotipos los cuales están compuestos por un esqueleto de ramnosa y cadenas laterales de glucosa. Recientemente se designó una cepa de *Streptococcus mutans* con serotipo no c/e/f como serotipo k el cual se caracteriza por una drástica reducción en la cantidad de cadenas laterales de glucosa. Un rasgo biológico común del serotipo k es su bajo nivel de cariogenicidad debido a las alteraciones de varios de los mayores antígenos proteicos de superficie. (5)

En cuanto a la virulencia en sangre, estas cepas sobreviven en la sangre por mayor tiempo debido a su baja antigenicidad. Otros estudios revelan la participación de este serotipo en la patogénesis de enfermedades cardiovasculares, en la cuales se ha detectado su alta frecuencia. (5)

2.2.2. Canela

2.2.2.1 Sinonimia

Nombre vulgar: canela de Ceilán, cinamónio

Catalán: canyella

Vasco: kanelondo

Galo: caneleiro

Francés: canelle

Alemán: zimt

Inglés: cinnamon

Italiano: cannella (25)

2.2.2.2 Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Cinnamomum*

Especie: *C. verum*

Nombre binomial: *Cinnamomum verum* (26)

2.2.2.3 Características generales de la planta

El *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a veces conocido como *Cinnamomum verum* , es oriundo de Sri Lanka y su aceite extraído de la corteza y de las hojas tiene diversas aplicaciones; sea en cocina, en bebidas, en la industria farmacéutica, sea en perfumería. (27)

La canela o como los antiguos la llamaron, el cinnamomo, es una especia muy difusa y utilizada sea en los países orientales que occidentales. Son dos las plantas que

proveen este precioso y rebuscado producto, ambas miembros de la familia Lauraceae. (26)

Es un árbol perenne que alcanza entre 3 a 10 metros de altura, ramaje tetrágono, recubierto de una corteza amarillosa y aromática de sabor dulce y picante, hojas persistentes, oblongas de flores blanco amarillosas dispuestas en ramas terminales, de aroma rancio; el fruto es una baya, de color azul o negro, en su interior contiene usualmente dos semillas. (14)

2.2.2.4 Características botánicas de la planta

Árboles perennifolios, hasta 10 m altura; de corteza castaño-negruzca, con sabor a aldehído cinámico en el interior. Ramitas grisáceas, albo-maculadas, tetrágonas. Yemas seríceo-puberulentas. Hojas opuestas, a veces alternas; pecíolos de 2 cm longitud, glabros; láminas ovadas u ovado-elípticas de 11-16 x 4,5-5,5 cm, ápice acuminado, base cuneda, coriáceas o subcoriáceas, glabras en ambas caras, la superior verde brillante, la inferior verdoso-blancuzcas, 3-5-nervias, nervio medio y laterales muy marcados. Inflorescencias terminales o axilares paniculiformes, 10-12 cm de longitud, pedúnculos y raquis seríceopuberulentos. Flores actinomorfas, bisexuales, de 6 mm de longitud, amarillas. Perianto cupuliforme, tubo obcónico, lobos 6, oblongos, subiguales. Estambres 9 (3 ciclos), ca. 1 mm longitud, filamentos pilosos, los del tercer ciclo con 2 glándulas basales. Ovario 10-15 mm longitud, glabro. Fruto ovoide, 1-1,5 cm diámetro, negro, cúpula dilatada, dentada. (28)

2.2.2.5 Distribución geográfica

Especie originaria de Ceilán y sur de la india. Actualmente naturalizada en otras zonas tropicales. (25)

Especie nativa de Sri Lanka, de amplia difusión en cultivo en diversas zonas cálidas del mundo. Se ha naturalizado en los Estados Unidos, Australia e islas del Pacífico.

En la Argentina, se encuentra naturalizada en Misiones. (28)

2.2.2.7 Fenología, polinización y dispersión:

Florece en primavera y principios del verano, fructifica en verano. La polinización es entomófila; la diseminación, ornitocora. (28)

2.2.2.8 Recolección

En las ramas jóvenes se practican incisiones longitudinales y se arranca la corteza entera y se elimina el súber y el parénquima subyacente. Se deja secar la corteza que se va cerrando y va formando los típicos tubos dobles que es la forma en que se comercializa. (25)

2.2.2.9 Parte utilizada

La corteza interior de las ramas jóvenes (sin súber, sin parénquima). (25)

2.2.2.10 Características de corteza de la canela

La canela se caracteriza por:

- Forma tubular doble
- Color marrón – terroso.
- Superficie bastante lisa con líneas onduladas
- Olor característico
- Sabor astringente. (25)

2.2.2.11 Composición química del aceite esencial

El aceite esencial contiene sobre todo aldehído cinámico (70%) y eugenol (10%). En las hojas también hay aceite esencial pero la composición varía ya que contiene un 80% de eugenol. (25)

2.2.2.12 Mecanismo de acción del aceite esencial de canela

Entre los efectos antimicrobianos de la canela tenemos el aumento de la permeabilidad y la salida de iones de la membrana. Dicha actividad antimicrobiana se da gracias a la acción de sus componentes tales como taninos, saponinas, compuestos fenólicos, aceites esenciales y flavonoides. (14)

El efecto antimicrobiano dura hasta las 24 horas después de la exposición. Éste resulta mayor sobre levaduras que sobre bacterias; sin embargo, si comparamos sus efectos con los de otros aceites, la canela guarda una mayor actividad antimicrobiana. (14)

2.2.2.13 Acción farmacológica

La canela es antibacteriana y antifúngica. Tiene efecto estimulante tanto en las vías respiratorias como en el sistema cardiaco. El aceite esencial también actúa como sedante nervioso antipirético, anestésico local, relajante muscular y emenagogo. También es digestivo y aperitivo. (25)

Estudios muestran que el aceite esencial de canela y sus componentes poseen actividad antimicrobiana, insecticida, acaricida, actividad antitirosinasa, antioxidante y antimutagénica. Otra función del aceite de la canela es la de inducir a la apoptosis. (26). Esto a su vez genera la consecuente necrosis a través de un mecanismo por el cual se interfiere con la función mitocondrial de las células de las levaduras; incluso, se ha demostrado que la canela, en diversas células cancerosas presenta actividad citotóxica así como apoptosis. (14)

2.2.2.14 Aplicaciones y usos:

Se utiliza en la industria sobre todo por sus propiedades aromatizantes. Se aplica por vía externa como antiséptico o por vía interna como antiséptico urinario. También es útil en infecciones respiratorias y digestivas de etiología variada. (25)

Está indicada en el tratamiento de infecciones ginecológicas, trastornos digestivos y en casos de hipertensión arterial. A partir del aceite esencial de las hojas se extrae el eugenol para obtener por semisíntesis la vainillina. (25)

La corteza, las ramitas hojosas y los frutos inmaduros contienen aceite esencial. La corteza seca es fuente de la importante especia llamada “canela”, también empleada en medicina popular desde el antiguo Egipto, como remedio estimulante, estomáquico, carminativo, antiinflamatorio bronquial y antitusivo. Presenta, entre otros, efectos antidiabético, antioxidante, analgésico, anti-*Trypanosoma cruzi*, antibacteriano, antimicótico y antihelmíntico. (28)

2.2.2.15 Toxicidad del aceite de canela

Se ha demostrado que el aceite esencial de canela posee una toxicidad asociada con una dosis superior a 3 g/kg. La dosis recomendada para uso interno es de 1 a 2 g por 2 a 3 veces al día. (14)

2.2.2.16 Contraindicaciones del aceite de canela

El *Cinnamomum zeylanicum* está contraindicada en el embarazo, lactancia, úlcera gástrica o duodenal, fiebre de origen desconocido, no se debe administrar ni aplicar tópicamente en niños menores de 6 años ni personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad a la canela. (14)

2.2.3 Clorhexidina

2.2.3.1 Generalidades

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua. (29)

La clorhexidina es sin duda el antiséptico de elección. Su utilización es amplia y es el agente más efectivo. La reducción de placa y de gingivitis alcanza el 60%. Su mecanismo de acción se realiza mediante una reducción de la formación de la película adquirida y alteración del desarrollo bacteriano y de la inserción al diente. (29)

Se presenta de tres formas: digluconato, acetato e hidrocloreuro, la mayoría de productos usan el digluconato en concentrados del 20% o 12%. (29)

2.2.3.2 Historia

La clorhexidina fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos en un estudio contra la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibisguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel,

posteriormente comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano. En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia fue el realizado por Løe y Schiott en 1970, donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0,2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis. (29)

2.2.3.3 Mecanismo de acción

Se une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio (efecto bacteriostático), en concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular (efecto bactericida). En boca se adsorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. (29)

2.2.3.4 Farmacodinamia

La clorhexidina adsorbida se libera gradualmente en 8 -12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. (29)

Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. El desarrollo de resistencias es muy escaso. También reduce los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54 - 97 % en un periodo de seis meses. En un periodo de 2 años no se desarrollan resistencias ni presencia de oportunistas o efectos adversos en la cavidad oral. (29)

Los estudios parecen indicar que la acción inhibitoria es únicamente debida a la clorhexidina unida a la superficie de los dientes. Es posible que la molécula se adhiera a la superficie por un catión, dejando los otros libres para interactuar con las bacterias que intentan colonizar la superficie del diente. Esto explicaría por qué las pastas con una base de sustancias aniónicas como el laurilsulfato sódico reducen la inhibición de la placa por la clorhexidina si se usan poco después de los colutorios. (29)

2.2.3.5 Espectro de acción

Clorhexidina tiene un extenso espectro de actividad antimicrobiana. Es activa frente a un amplio rango de organismos Gram + y Gram - así como sobre hongos. Estos microorganismos no tienen el mismo grado de sensibilidad a clorhexidina. Por ejemplo los microorganismos Gram + son más sensibles que los Gram -, mientras que los estreptococos son más sensibles que los estafilococos. (30)

2.2.3.6 Farmacocinética

Los estudios farmacocinéticos de clorhexidina, indican que aproximadamente el 30% del principio activo, se retiene en la cavidad oral después del enjuague. La clorhexidina retenida se libera lentamente en los fluidos orales. Estudios realizados

en animales y en humanos demuestran la escasa absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal. Los niveles plasmáticos de clorhexidina alcanzan un pico de 0,206 pg/g en humanos 30 minutos después de la ingestión de 300 mg de dicho fármaco. No se observaron niveles detectables en plasma de clorhexidina después de 12 horas de la ingesta. (29)

La excreción de clorhexidina se realiza fundamentalmente por las heces (90%); menos del 1% se excreta por la orina. (29)

2.2.3.7 Concentraciones

La clorhexidina suele presentarse en dos concentraciones, al 0.12 % y al 0.2 %, se recomienda realizar un buche con 10 ml de producto a una concentración del 0.2 % y de 15 mL al 0.12 %, esto es debido a la dosis total de clorhexidina ya que 10 mL al 0.2 % libera 20 mg y 15 mL al 0.12 % libera 18 mg, observándose que los resultados con ambas formulaciones son igual de efectivos. (30)

Las últimas investigaciones van encaminadas a conseguir una formulación de clorhexidina en medio no alcohólico igual de efectiva que la formulación de la misma en solución alcohólica. Según el estudio de se consigue con una combinación de clorhexidina al 0.12 % sin alcohol a la que se añade cetilpiridinio al 0.005 % (nueva formulación de Perio Aid), resultando igual de efectiva en el control de la formación de nueva placa que clorhexidina con alcohol al 0.12 % (Perio Aid) y que clorhexidina con alcohol al 0.2 % (Corsodyl). (30)

2.2.3.8 Indicaciones

Está indicado como agente antiplaca, para el tratamiento de gingivitis y periodontitis, en cirugía periodontal, como irrigador en alveolitis, como desinfectante en estomatitis por dentaduras (candidiasis subplaca), como tratamiento de ulceraciones aftosas y como coadyuvante en halitosis. Su uso se recomienda dos veces al día, como enjuague oral debe ser usado por lo menos 30 segundos. No se debe ingerir y debe expectorarse después de enjuagarse. (31)

2.2.3.9 Efectos secundarios

El efecto colateral más frecuente en la utilización de clorhexidina es la tinción de dientes, partes blandas de la mucosa, dorso de la lengua y restauraciones. (29)

Otro efecto secundario de los enjuagues con clorhexidina es la alteración del sentido del gusto como la hipogeusia y disgeusia, también se observa sensación de quemazón, sequedad de tejidos blandos, y lesiones descamativas y ulcerosas de la mucosa gingival. Además un efecto colateral frecuente reflejado por los usuarios de colutorios de clorhexidina es su desagradable sabor amargo. (31)

2.2.3.10 Interacciones

Además de la potencial inactivación parcial o total de clorhexidina debido a una inadecuada formulación galénica, debemos considerar la inactivación parcial que se produce utilizando en la misma formulación asociaciones con fluoruro sódico esto ha sido contrastado por distintos estudios. (29)

Otra interacción importante es la que presenta clorhexidina con laurilsulfato sódico, empleado como excipiente en numerosos dentífricos, por lo que se recomienda el cepillado al menos 30 minutos antes de la aplicación de clorhexidina. (29)

2.4. Terminología básica

- **Súber:** Variedad de tejido protector o epidérmico, formado por células muertas, que cubre externamente a los vegetales de más de un año, especialmente a los árboles.
- **Perennifolios:** Planta que continua creciendo luego de haberse reproducido, significando generalmente que vive por varios años.
- **Emenagogo:** Sustancia que pueden estimular el flujo sanguíneo en el área de la pelvis y el útero.
- **Entomófila:** Planta cuya polinización se hace por medio de los insecto.
- **Agregación:** Agrupación de partículas sólidas formando un conjunto homogéneo.
- **Bactericida:** Sustancia que destruye a las bacterias.
- **Hipogeusia:** Disminución del sentido del gusto.
- **Disgeusia;** Alteración en la percepción del gusto.

2.4. Hipótesis

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tiene actividad antibacteriana en comparación a la clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio "in vitro".

2.4.1. Hipótesis nula

El aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) no tiene actividad antibacteriana en comparación a la clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio "in vitro".

2.5. Variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION	VALOR
Aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (V. Independiente)	Categórica	Percepción organoléptica.	Nominal	Aceite esencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> al 100 %.
Actividad antibacteriana (V. Dependiente)	Numérica continua	Dimensión del halo de inhibición. (medido en mm)	Razón	0 – 50 mm
Clorhexidina (V. Control)	Categórica	Percepción organoléptica.	Nominal	Clorhexidina al 0.12%
Agua destilada (V. Control)	Categórica	Percepción organoléptica.	Nominal	Agua destilada Estéril
Tiempo de exposición (V. Control)	Numérica discreta	Tiempo transcurrido desde la siembra (horas)	Nominal	72 y 120 horas

2.6 Definición operacional de términos

Actividad antibacteriana: Es la acción de eliminar bacterias o inhibir su crecimiento, en nuestro caso *Streptococcus mutans*.

Efecto inhibidor: Capacidad que tendrá nuestro aceite esencial de disminuir la actividad catalítica de una enzima, por lo que obtendremos un valor midiendo el halo formado al aplicar el aceite esencial sobre la bacteria ya sembrada.

Sustancia antimicrobiana: Es una sustancia (aceite esencial de canela) que mata o inhibe el crecimiento de bacterias, en nuestro caso *Streptococcus mutans*.

Siembra: Técnica de laboratorio que consistente en la colocación del *Streptococcus mutans* en el agar Muller Hinton con el fin de estudiar sus características macroscópicas y obtener un crecimiento abundante para realizar el ensayo microbiológico con las sustancias antimicrobianas.

Incubación: Es el tiempo necesario para que se dé el crecimiento y desarrollo de la cepa de *Streptococcus mutans* a una temperatura de 37 °C a las 72 y 120 horas.

Tiempo: Determinamos dos tiempos, uno a las 72 y otra a las 120 horas en las cuales se medirán los diámetros de los halos de inhibición.

Lectura: Procedimiento de laboratorio que consiste en trasladar los resultados obtenidos en las placas Petri por medio de un pie de rey, midiendo los diámetros de los halos de inhibición; plasmándolos en la ficha de recolección de datos.

3. CAPITULO III: DISEÑO Y MÉTODO

3.1. Tipo y nivel de investigación

El presente estudio debido a la intervención del investigador es de tipo experimental “*in vitro*”; prospectivo, por la recolección de datos; longitudinal, ya que la variable de estudio es medida en dos ocasiones para realizar una comparación.

El nivel de investigación de este estudio es explicativo.

3.2. Población y muestra

Población: Se trabajó con cepas estándares de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 procedentes de American Type Culture Collection (ATCC), empleadas para evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 100 %, en comparación a la clorhexidina al 0.12% (DENTODEX®).

Muestra: Se aplicó la siguiente fórmula para hallar el tamaño muestral (comparación de medias) para universo finito.

Dónde:

$$n = \frac{Z^2 * N * p * q}{e^2 * (N-1) + (Z^2 * p * q)}$$

Z = Nivel de confianza

p = Porcentaje de la población con el atributo deseado

q = Porcentaje de la población que no tiene el atributo deseado
Porcentaje de la población con el atributo deseado = 1 - p

N = Tamaño del universo

e = Error de estimación máximo aceptado.

n = Tamaño de la muestra.

Reemplazando, se obtuvo el siguiente resultado:

Ingreso de datos:

Z =	1.96
p=	50%
q=	50%
N=	44
e =	10%

Tamaño de muestra:

30.39

En conclusión, los elementos necesarios para realizar la presente investigación, fueron 30 placas para cada muestra.

Criterios de selección

- **Criterios de inclusión:**

Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

- **Criterios de exclusión:**

Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que dieron indicación de contaminación.

3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.3.1. Técnicas

3.3.1.1 Obtención del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*

El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* se obtuvo de la empresa Essential Oils Perú, la cual expide un certificado de pureza. (Ver Anexo 1)

El transporte y la conservación del aceite se realizaron siguiendo el protocolo expedido por la empresa Essential Oils Perú. (Ver Anexo 2)

3.3.1.2 Reactivación de la cepa bacteriana

La reactivación de las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 se realizó con el medio Caldo Thioglicolato de Sodio e incubadas a 37°C por 24 horas, donde se estableció su viabilidad por la turbidez del Caldo, luego fue sembrada en Agar tripticosa de soya, mediante la técnica de diseminación en superficie, e incubada a 37°C por 72 horas, para luego ser identificada por sus características macroscópicas y microscópicas mediante la técnica de tinción Gram la cual verificó la pureza de las cepas. (Ver Anexo 3)

3.3.1.3 Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo Agar Muller Hinton fue preparado según las instrucciones del fabricante repartiéndose luego el medio en las 30 placas Petri (100 mm x 15 mm) a razón de un espesor de 4 mm por placa; tanto para el aceite de canela, la

clorhexidina al 0.12% y 10 placas para el control negativo (agua destilada estéril) siendo un total de 70 placas.

Se dejaron solidificar a temperatura ambiente por 15 minutos, se rotularon las placas en la parte posterior con el nombre de cada sustancia a investigar (aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* al 100 %, clorhexidina al 0.12% y agua destilada estéril).

Se realizó el control de esterilidad incubando el medio de cultivo a 37°C por 24 horas.

(Ver Anexo 3)

3.3.1.4 Prueba de Sensibilidad: Método de difusión en agar por pozo. (10)

3.3.1.4.1 Preparación del Inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo se utilizó una suspensión de sulfato de bario (0,5 en la escala de Mac Farland) como estándar de turbidez. Se tomaron 5 colonias aisladas del agar tripticasa de soya (cultivado 24 horas antes) y se procedió a ajustar el inóculo en caldo tripticasa de soya por comparación visual hasta la turbidez ($1 \times 10^5 \times 10^6$ UFC/mL) equivalente al tubo N° 0,5 en la escala de Mac Farland. (Ver Anexo 3)

3.3.1.4.2 Método de siembra

Se procedió a depositar 100 µL de la suspensión bacteriana sobre el medio de Muller Hinton (presente en la placa Petri con 4 mm de espesor de medio) y se dispersó por técnica de hisopado en todas direcciones. (Ver Anexo 3)

3.3.1.4.3 Inoculación del principio activo

Se emplearon 80 µL del aceite esencial de canela al 100 %, los cuales fueron depositados en pozos (realizados con la base de puntas de pipeta) de 6 mm de diámetro y 4 mm de espesor, presentes en el agar Muller Hinton.

También fueron depositados 80 µL de clorhexidina al 0.12% (control positivo) y agua destilada estéril (control negativo), respectivamente (Ver Anexo 3). Se trabajó con placas Petri individuales con la finalidad de poder determinar con exactitud el diámetro de los halos de inhibición; evitando sesgos a la hora de la medición de los halos evitando la superposición, la cual se presenta en el uso de placas compartidas.

3.3.1.4.4 Incubación

Las placas Petri con Agar Muller Hinton conteniendo los pozos con el aceite esencial de canela al 100 % fueron incubados a 37°C por 72 horas.

La lectura se realizó utilizando un calibrador vernier o regla pie de rey a las 72 y 120 horas, tomando como referencia los bordes máximos de los halos de inhibición; siendo las mismas placas empleadas para la medición a las 72 y 120. (Ver Anexo 3)

3.3.1.4.5 Eliminación de restos biológicos

Posterior a la lectura las placas fueron embaladas en bolsas rojas y llevadas a autoclave a 121°C por 15 minutos a 15 libras de presión; luego un personal calificado de la institución lo llevó al depósito de desechos de la universidad donde se esperó a la empresa especialista para el recojo y transporte, siendo almacenada por menos de una semana.

La universidad trabaja con la empresa Ecology Service, quien se encargó de la eliminación final, mediante proceso de incineración.

3.3.2 Instrumentos

Ficha de recolección de datos (Ver Anexo 4)

3.4. Procesamiento y análisis de datos

Para interpretar los datos del presente trabajo de investigación, de acuerdo a los objetivos e hipótesis; se compararon los resultados obtenidos entre los grupos que presentaron aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) y los que presentaron clorhexidina al 0.12%: utilizando el método de análisis estadístico.

Los análisis se realizaron con el Software SPSS V. 20 (IBM SPSS Statistics 20). Se empleó un análisis descriptivo bivariado para obtener los promedios, desviaciones estándar de las variables numéricas continuas.

Se aplicó la prueba estadística T de Student para muestras pareadas, entre el grupo de estudio (aceite esencial de “canela”) y el grupo de control positivo (clorhexidina al 0.12%). Los resultados que se obtuvieron son presentados en cuadros y gráficos de acuerdo con los objetivos señalados.

3.5. Aspectos éticos

- Certificado de pureza del aceite esencial expedida por la empresa Essencial Oils Perú. (Ver Anexo 1)
- Certificado de conservación del aceite esencial expedida por la empresa Essencial Oils Perú. (Ver Anexo 2)

- Solicitud a la escuela Académica profesional de Odontología para la autorización del uso de material didáctico y ambientes de laboratorios de la Universidad Norbert Wiener para la ejecución de la tesis. (Ver Anexo 5)
- Normas de bioseguridad del laboratorio de microbiología de la UPNW. (Ver Anexo 6)
- Normas de eliminación y disposición de residuos comunes y especiales. (Ver Anexo 7)

4. CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

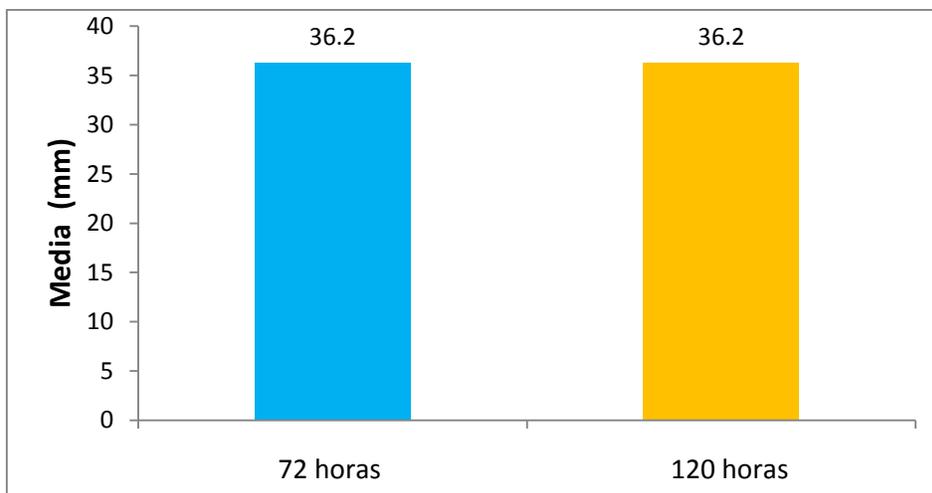
4.1. Resultados

Tabla 1. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.

Variable	n	Mínimo	Máximo	Média	D.E.
Canela a las 72 horas	30	28,20	48,70	36,22	5,6
Canela a las 120 horas	30	28,20	48,70	36,22	5,6

T-Student (p 1,00)

Grafico 1. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.



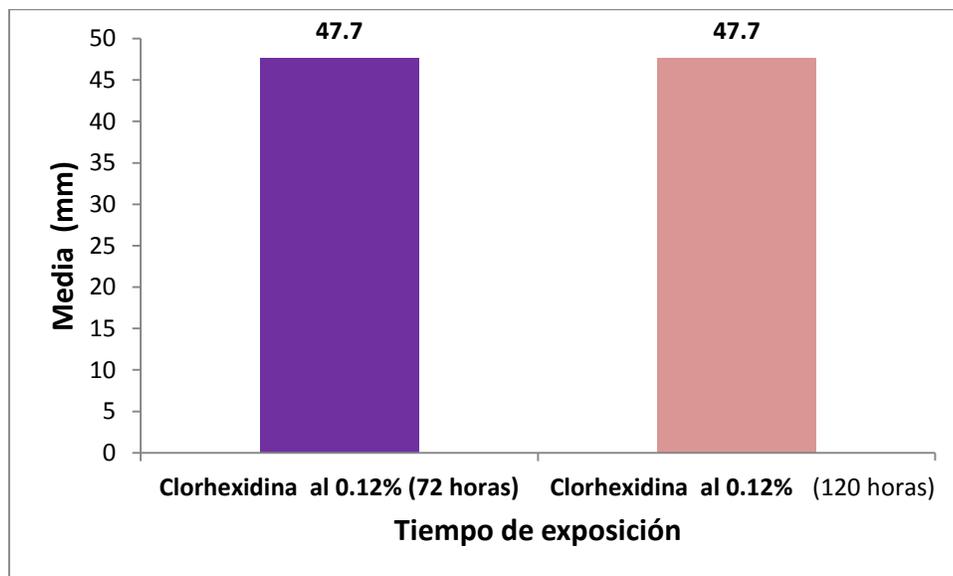
La actividad antibacteriana de la canela (*cinnamomun zeylanicum*) al 100% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, a las 72 y 120 horas fueron de $36,22 \pm 5,6$ mm para ambas mediciones. A un nivel de significancia de 5% no se encontró diferencias significativas (p 1,00).

Tabla 2. Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.

Variable	n	Mínimo	Máximo	Média	D.E.
Clorhexidina a las 72 horas	30	38,00	58,00	47,65	4,6
Clorhexidina a las 120 horas	30	38,00	58,00	47,65	4,6

T-Student (p 0,99)

Grafico 2. . Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.



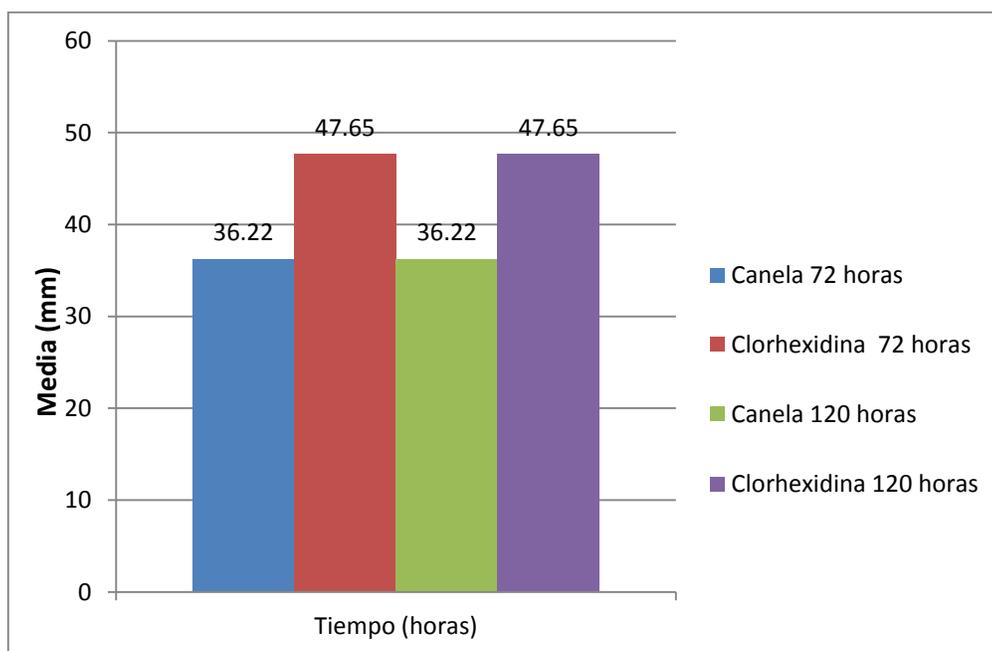
La actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*, a las 72 y 120 horas fueron de $47,65 \pm 4,6$ mm para ambas mediciones. A un nivel de significancia de 5% no se encontró diferencias significativas (p 0,99).

Tabla 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% en comparación de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.

Comparación de Sustancias	n	Media	D.E.
Canela 100% (72 horas)	30	36,22	5,6
Clorhexidina al 0.12% (72 horas)	30	47,65	4,6
Canela 100% (120 horas)	30	36,22	5,6
Clorhexidina al 0.12% (120 horas)	30	47,65	4,6

T-Student (p 0,00)

Gráfico 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% en comparación de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro* a las 72 y 120 horas.



La actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% a las 72 y 120 horas ($36,22 \pm 5,6\text{mm}$) fueron menores que la clorhexidina al 0.12% a las 72 y 120 horas ($47,65 \pm 4,6\text{mm}$) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*. A un nivel de significancia de 5% se encontró diferencias significativas ($p < 0,000$).

4.2. Discusión

En el presente estudio se determinó que el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% tiene actividad antibacteriana sobre bacterias Gram positivas (*Streptococcus mutans*), mediante el ensayo microbiológico de difusión en agar por pozo, obteniéndose a las 72 horas un halo de inhibición de $36,22 \text{ mm} \pm 5,6 \text{ mm}$ de diámetro. Así mismo el estudio realizado por Cerga L. (2015) obtuvo un halo de inhibición menor de $22,93 \text{ mm} \pm 0,12 \text{ mm}$, tras su ensayo microbiológico con aceite esencial de (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*; confirmando la acción del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre bacterias Gram positivas anaerobios facultativas.

García K.(2015) demostró el efecto inhibitorio de la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% sobre *Enterococcus faecalis*, patógeno oportunista Gram positivo de la cavidad oral; obteniendo un halo de inhibición de $28,75 \text{ mm} \pm 2,24 \text{ mm}$ de diámetro, el cual difiere con el presente trabajo realizado al 100% en el que se halló un halo de inhibición mayor de $36,22 \text{ mm} \pm 5,6 \text{ mm}$ de diámetro para cepas de

Streptococcus mutans ATCC 25175; confirmando la acción del aceite esencial de canela sobre bacterias Gram positivas anaerobios facultativas.

En el estudio realizado por Sanchez B. y Luján C. (2013) en Trujillo demostraron que el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) carece de efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 al 100%; el cual, difiere de los resultados obtenidos en la presente investigación; donde se demuestra el efecto inhibitorio del aceite esencial de canela al 100%, con halos de inhibición promedio de 36,22 mm de diámetro sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

El estudio realizado por Vera G. (2013) demostró el efecto inhibitorio de la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% donde obtuvo un halo de inhibición de 35,37 mm de diámetro sobre *Staphylococcus aureus*, patógeno oportunista Gram positivo de la cavidad oral; concordando con el presente trabajo realizado al 100% en el que se halló un efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, coco Gram positivo; con un halo de inhibición de 36,22 mm de diámetro.

El *Streptococcus mutans* es sensible a la clorhexidina, siendo empleada preventivamente, en el tratamiento de pacientes con alto número de esta bacteria en la cavidad oral, con el propósito de reducir su número y evitar la generación de caries. Con relación a la clorhexidina al 0.12%, en el presente estudio se obtuvo un halo de inhibición de $47.6500 \text{ mm} \pm 4.56575 \text{ mm}$ a las 72 horas. Solano XK, Moya TJ, Zambrano-Gutiérrez (2016) obtuvieron un halo de inhibición promedio de $16.13 \text{ mm} \pm 1.24 \text{ mm}$ sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175., empleando la técnica microbiológica de difusión en disco; siendo el resultado, menor que el

obtenido en nuestro estudio por medio de la técnica microbiológica de agar en pozos, ya que el empleo de esta técnica permite la libre difusión de las sustancias polares como es el caso de la clorhexidina a través del medio de cultivo; no viéndose afectada la difusión como en el caso de la técnica de agar en disco, debido a que las sustancias polares reaccionan con la celulosa presente en la composición del disco de difusión.

En el estudio realizado por Cerga L. (2015) obtuvo un halo de inhibición de 26.09 mm de diámetro, tras su ensayo microbiológico con Gluconato de clorhexidina al 2% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, mediante la técnica microbiológica de difusión en agar por pozos; sin embargo los resultados obtenidos difieren de los obtenidos en el presente estudio, empleando la misma técnica, debido probablemente al tipo de cepa empleada en este caso *Enterococcus faecalis* a pesar de usar una concentración mayor de Gluconato de clorhexidina 2% por lo que se puede observar que el efecto es mayor (halos de inhibición) cuando se utiliza *Streptococcus mutans*.

Este estudio permite valorar la propiedad antimicrobiana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente al principal microorganismo responsable de la caries dental el *Streptococcus mutans*. Teniendo en cuenta la aceptación que existe por la medicina natural por parte de la población y de acuerdo a los resultados finales se puede optar por medidas de prevención y/o tratamiento que incluyan al aceite esencial de canela en pastas o colutorios, no sin antes realizar estudios sobre modelos *in vivo* durante el tratamiento de la caries dental.

5. CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Se determinó que el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% presenta actividad antimicrobiana sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 y 120 horas.
2. Se determinó que la Clorhexidina al 0.12% presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 y 120 horas.
3. La actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% es menor que la Clorhexidina al 0.12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 72 y 120 horas.

5.2. Recomendaciones

1. Continuar con el estudio del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) debido a su actividad antibacteriana frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, con ensayos en pacientes; en estudio “*in vivo*”.
2. Se debe valorar la actividad antibacteriana del aceite esencial canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente a otras bacterias Gram positivas y Gram negativas, de tal modo se cubrirá casi todo el espectro bacteriano, frente a bacterias de importancia clínica.

3. Realizar estudios comparativos entre las diferentes especies de *Cinnamomum*.

4. Se recomienda realizar estudios para la elaboración de colutorios y pastas dentales teniendo como principio activo el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*).

5. Se recomienda realizar estudios *in vivo* para poder determinar la citotoxicidad del aceite esencial de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) por uso crónico.

REFERENCIAS

1. Liébana J. Microbiología Oral. 2ed. Madrid:McGraw-Hill.Interamericana de España;2002.
2. Negroni M. Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica.2ed.Buenos Aires. Médica Panamericana; 2009.
3. Chumpitaz R, Ghezzi L. Prevalencia e incidencia de caries a partir de vigilancia epidemiológica realizada a escolares en Chiclayo, Perú. Kiru.2013 Jul-Dic; 10(2):107–15.
4. Graciano M, Correa Y, Martínez C, Burgos A, Ceballos J, Sánchez L. *Streptococcus mutans* y caries dental en América Latina - Revisión sistemática de la literatura. Rev. Nac de Odontol. 2012;Vol 8(14)
5. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. Rev. CES Odont. 2013; 26(1) 44-56.
6. Cáceres, *et al.* Actividad Antifúngica *in vitro* de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. **Rev. mex. Fitopatol.** 2013;Vol 31(2)
7. Sánchez C, Luján M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial y del extracto acuoso de canela (*cinnamomum zeylanicum*) sobre *Cándida albicans* y *Streptococcus mutans*. Sciéndo 16(1):68-78, 2013.
8. Vera G. Efecto antimicrobiano in vitro de tres concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Cándida albicans*. , Trujillo, 2013. [Tesis para

- optar el grado de Bachiller en medicina]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.
9. Pitarch C. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales: Estudio in vitro del aromagrama de 85 aceites esenciales. *Natura Medicatrix* .2000; Vol 1(58):26-31.
 10. Cueva J. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 in vitro. Lima 2016. [Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Privada Norbert Wiener.
 11. Aizaga S. Efecto antifúngico del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Cándida albicans* ATCC 10231. Quito 2017. [Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador.
 12. Rocha R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis, para optar el título de Cirujano Dentista]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2016.
 13. Solano X, Moya T, Zambrano M. Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero”. *Odontología*. 2016; Vol19(2).
 14. García K. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum Zeylanicum* (canela) sobre el *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Trujillo 2017. [Tesis para optar el grado de maestro]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

15. Mendoza S. Efecto antimicrobiano del extracto oleoso de *Cinnamomum zeylanicum* “canela” sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con *Ceftazidima*, estudio in vitro. . Trujillo 2017. [Tesis para optar título de Médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo.
16. Cerga L. Efecto inhibitor del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) y *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) en diferentes concentraciones en comparación con gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. Lima 2014 [Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Privada Norbert Wiener.
17. Garcia K. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro. Rev. Oficial SIMIYKITA. 2015, 2(3): 9-15.)
18. Marca M. Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* breyn “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538, Tacna, 2012. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Perú: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna.
19. Gómez A; López M. Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 3 - 1. (2009):33 – 45.
20. García E et al. Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangenh) K. Koch]. Rev. Mex de Fitopatol, 2006; Vol 24(1):8-12.

21. Herrera C, García O. Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. BISTUA. 2006; Vol 4(2):13 – 19.
22. Padrón B; Oranday A; Rivas C; Verde M. Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. Ciencia UANL. 2003; Vol 6(3):333 - 338.
23. Quiñones J, Duque J, Gato I, Fuentes. Asociación del *Streptococcus mutans* y lactobacilos con la caries dental en niños. Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas “Juan Guiteras Gener”. Cuba. 2007.
24. Pedro D, Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2010;9(2): 156-166.
25. Kuklinski C. Farmacognosia, Editorial Omega, 2003, Barcelona, España.
26. Gutiérrez Juan. Eficacia de cicatrización con el aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* (canela) versus el apósito convencional (COE-PAK) en ratas albinas. Lima, 2011. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional Federico Villareal.
27. Sánchez C, Luján M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial y del extracto acuoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre *Candida albicans* y *Streptococcus mutans*. SCIÉENDO. 2013; Vol 16(1):68-78.
28. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. Av Periodon Implantol. 2006; Vol 18(1):31-59.
29. Delucchi y Hurrell.. *Cinnamomum glanduliferum* y *C. verum* (Lauraceae) naturalizadas en la Argentina. Bonplandia. 2016; Vol 25(1): 33 - 41.

30. San Román I. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. [Tesis, para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2013.
31. Purca T. Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. [Tesis, para optar el título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2013.

ANEXOS

ANEXO N°1



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - La Molina, Lima
Telf: (051) 736 9840
ventas@eopperu.com
www.EopPeru.com

Dr. Carlos Michell Galvez Ramirez,
Director encargado de la EAP Odontología
Universidad Privada Norbert Wiener

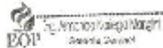
Presente.-

De nuestra consideración, reciba los saludos cordiales a nombre de Essential Oils Perú.

Por medio de la presente tenemos a bien certificar que el producto ACEITE ESENCIAL DE CANELA EOP (*Cinnamomum zeylanicum*) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de ANGEL JORGE LUIS BARRIENTOS con DNI N° 41510075 y código de alumno N° 2008100469 para su utilización en la investigación "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175. ESTUDIO IN VITRO".

Atentamente,

Ing. Armando Noriega Mangini
Gerente General
Essential Oils Perú

ANEXO N°2



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - Camacho
La Molina - Lima
Telf: (051) 736 9840
ventas@eopperu.com
www.AceitesEsenciales-eop.com

Protocolo de conservación de aceites esenciales EOP

Los Aceites Esenciales (AE) EOP son 100% puros y naturales. No contienen en su constitución aditivos químicos ni conservantes. Son producidos por medio de destilación por arrastre de vapor y mantenidos en condiciones óptimas de almacenamiento pudiendo tener un tiempo de vida útil de hasta 5 años según sea el caso.

Recomendaciones de almacenamiento y conservación:

- ✓ Mantenerlos en frascos de vidrio de color oscuro, ámbar de ser posible.
- ✓ Mantenerlos con tapón y tapa para evitar la entrada constante de aire.
- ✓ Mantenerlos alejados de la luz natural y en especial de la luz ultravioleta ya que algunos compuestos son fotosensibles y pueden llegar a oxidarse.
- ✓ Se deben conservar en lugares frescos, evitando cambios bruscos de temperatura, enfriamientos y calentamientos continuos.

El tiempo de vida útil promedio es de 5 años. Sin embargo las características aromáticas se mantienen intactas por un tiempo aproximado de 1 año en la mayoría de los casos.

Observaciones:

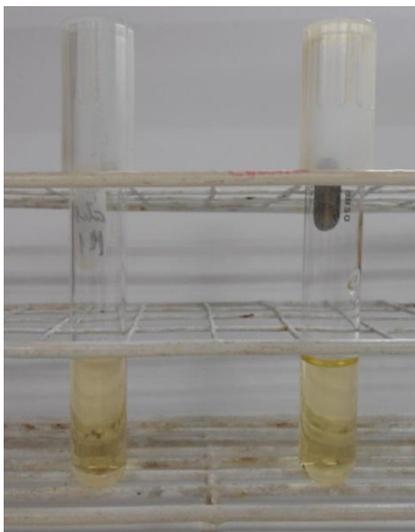
- ✓ Los AE cítricos son más propensos a la oxidación por lo que tienen un tiempo de vida menor. Para su mejor conservación se sugiere conservarlos a temperaturas entre los 4-10°C.
- ✓ Los AE de anís, hinojo y otros de la familia *apiaceae*, tienden a solidificarse a bajas temperaturas, no implicando esto su deterioro. Para ellos, es recomendable mantenerlos a temperatura ambiente.
- ✓ Los AE de vetiver y algunos maderables tienden a cambiar de aroma con el tiempo, fenómeno conocido como maduración.

Anexo N° 3

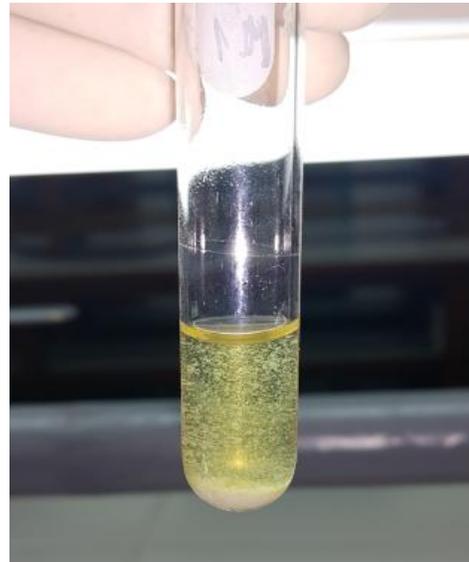
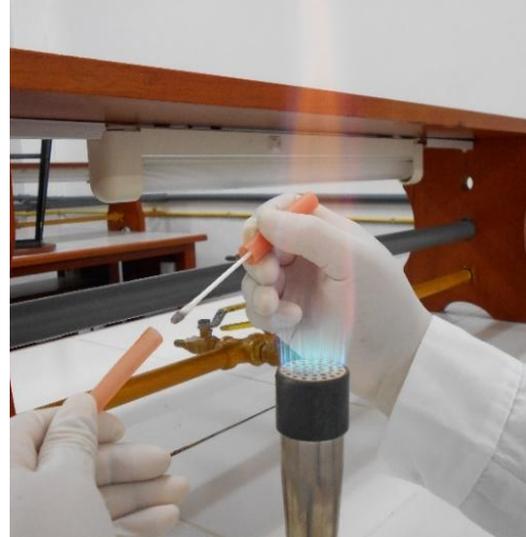
1. Reactivación de la cepa bacteriana



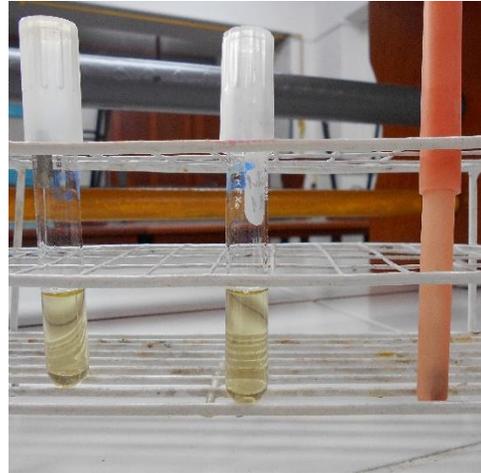
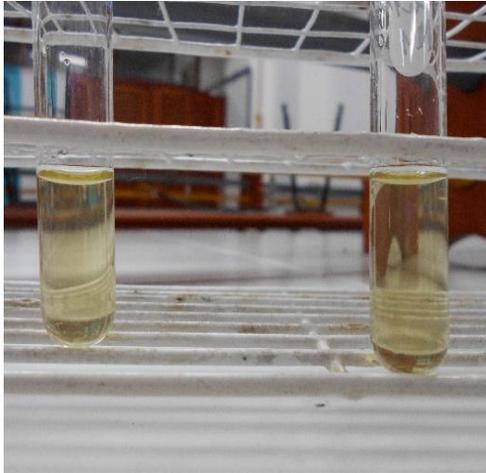
Streptococcus mutans ATCC 25175



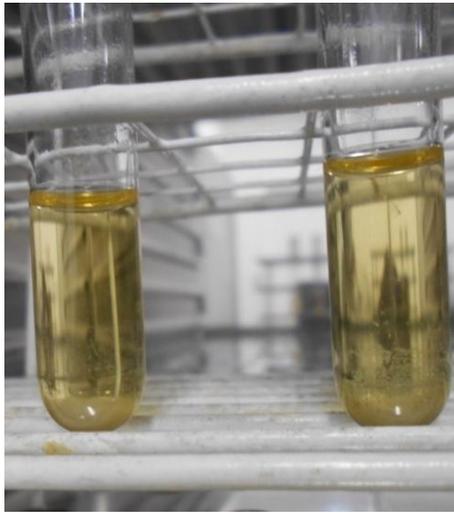
Caldo Thioglicolato de sodio



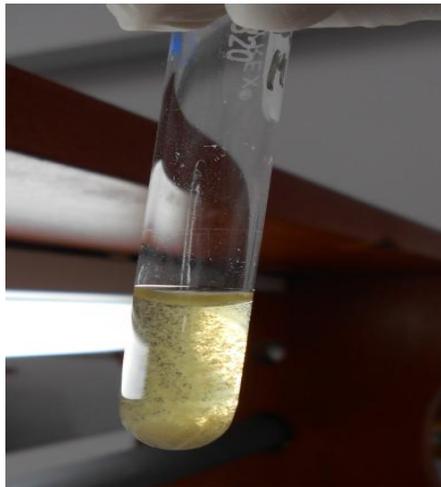
Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en caldo
Thioglicolato de sodio



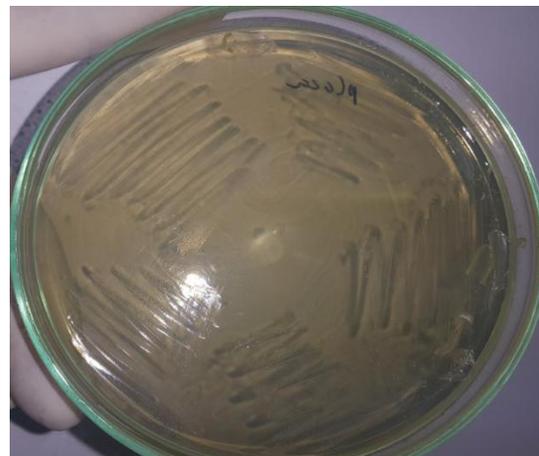
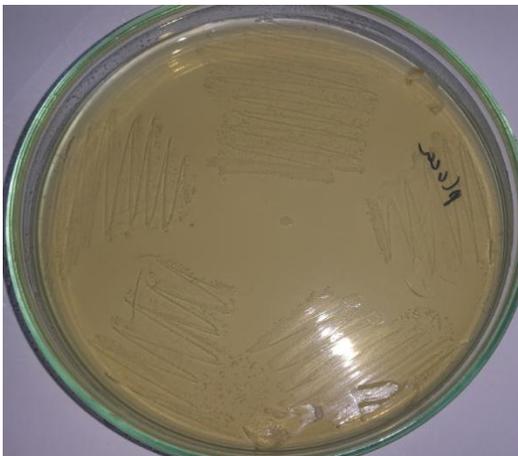
Incubación de cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en caldo Thioglicolato de sodio a 37°C por 24 horas para su reactivación.



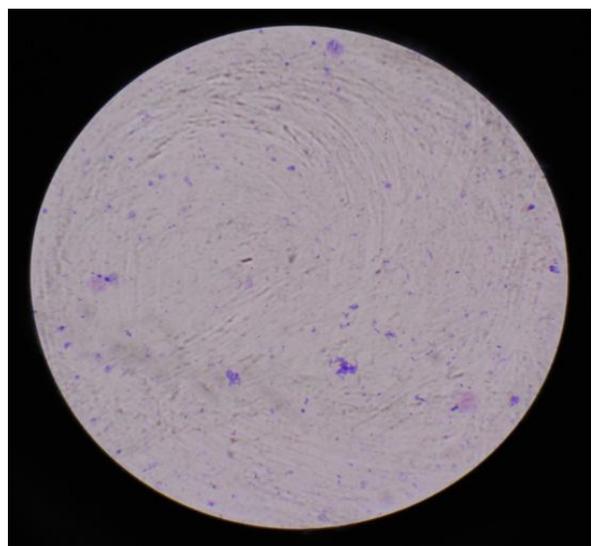
Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 reactivada en caldo
Thioglicolato de sodio a 37°C durante 24 horas.



Siembra de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en Agar tripticasa de
soya



Siembra de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en Agar triptica de soya por 24 horas a 37°C



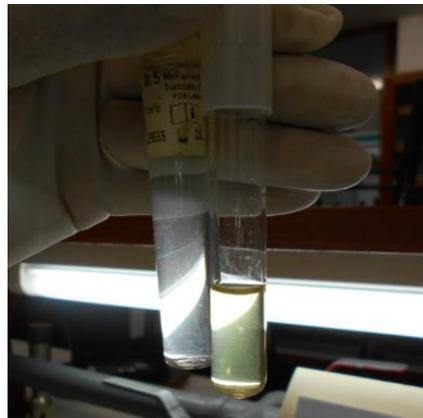
Identificación mediante las características microscópicas y tinción Gram

2. Preparación de los medios de cultivo



Preparación de los medios de cultivo y pozos en agar

3. Preparación del Inóculo



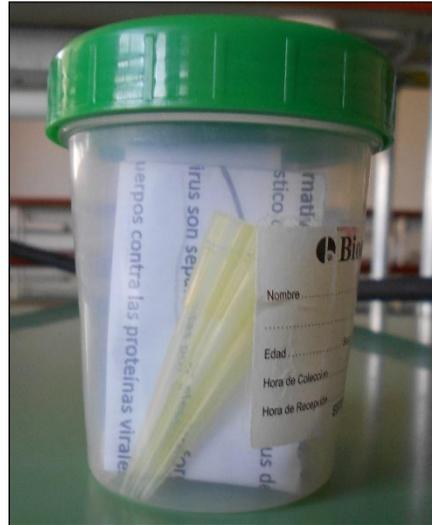
Preparación de la turbidez en Escala de Mc Farland 0.5

4. Método de siembra

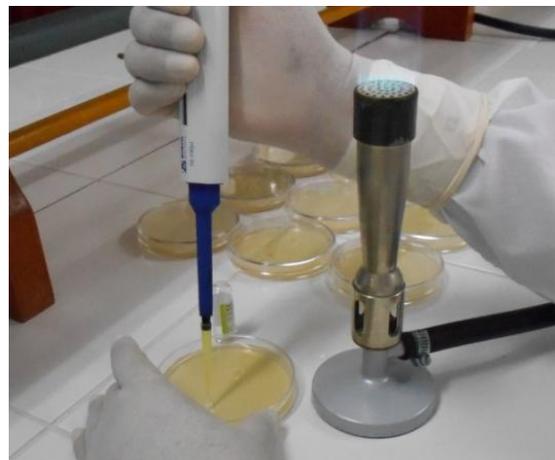
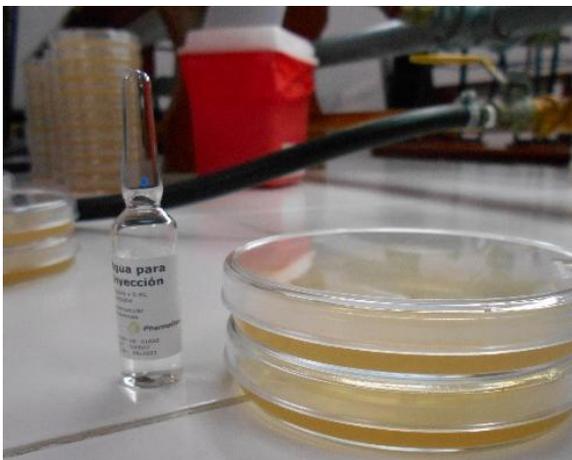


Siembra del *Strptococcus mutans* ATCC 25175
mediante técnica de hisopado

5. Inoculación del principio activo

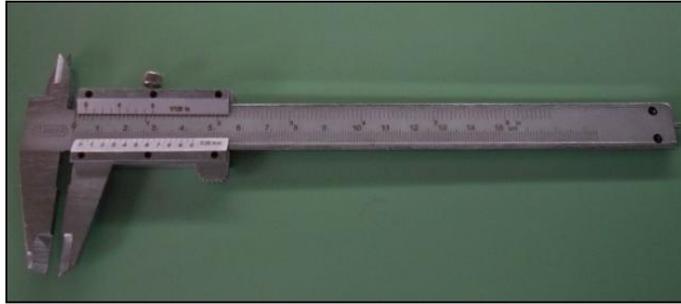


Sustancias ensayadas (clorhexidina al 0.12%, agua destilada estéril y aceite esencial de canela al 100%) e instrumentos para su inoculación

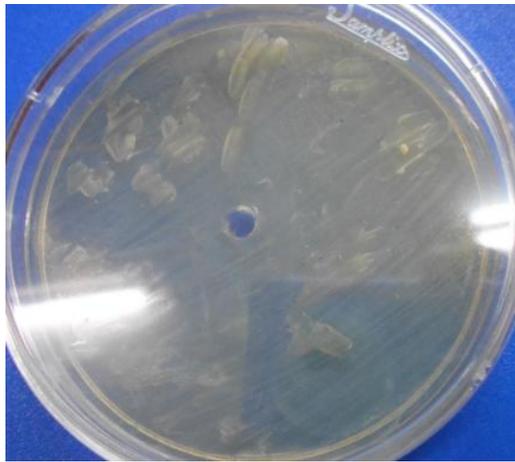


Placas Petri sembradas e inoculadas con 80 μ L de las sustancias ensayadas.

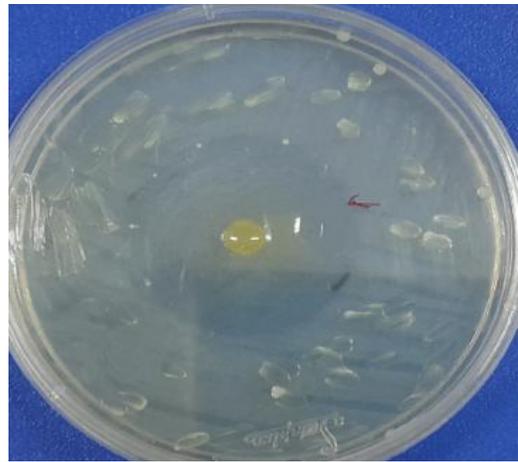
6. Lectura de placas



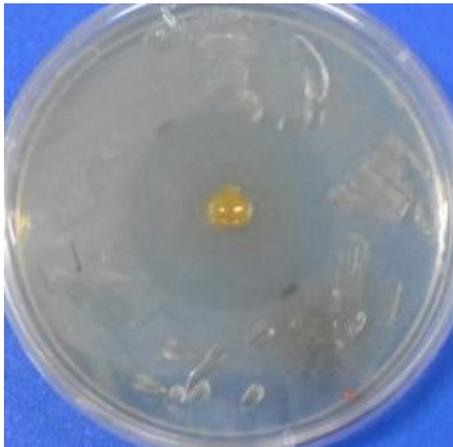
Calibrador vernier o regla Pie de rey



Agua destilada estéril
(Control negativo)



Halo de inhibición (mm) de la clorhexidina
al 0.12% a las 72 horas. (Control positivo)



Halo de inhibición (mm) de aceite esencial de
Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 100% a las 72



Medición del diámetro de los halos de inhibición a las 72 horas.

ANEXO N°4

Tabla de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (mm)

Muestra	Aceite esencial de (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) "Canela"		Clorhexidina al 0.12 %		Agua destilada estéril		Muestra	Aceite esencial de (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) "Canela"		Clorhexidina al 0.12 %		Agua destilada estéril	
	72 Horas	120 horas	72 horas	120 horas	72 horas	120 horas		72 horas	120 horas	72 horas	168 horas	72 horas	120 horas
1							16						
2							17						
3							18						
4							19						
5							20						
6							21						
7							22						
8							23						
9							24						
10							25						
11							26						
12							27						
13							28						
14							29						
15							30						

ANEXO Nº 5

Lima, 21 de Julio del 2017

Dra. C.D. Esp. Vergara Pinto, Brenda Roxana

Director de la E.A.P de Odontología

Por medio de la presente yo: Ángel Jorge Luis Barrientos; bachiller de odontología de la Universidad Privada Norbert Wiener; solicito se me otorgue una carta de presentación dirigida al área de material didáctico y laboratorios de la Universidad Privada Norbert Wiener. Para la ejecución de mi proyecto de investigación titulado: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE

Streptococcus mutans ATCC 25175. ESTUDIO IN VITRO". Con el objetivo de realizar pruebas microbiológicas relacionadas con mi proyecto de investigación; bajo la supervisión de mi asesora la Lic. Elizabeth Pareja Cuadros.

El tesista cuenta con sus materiales; para lo cual se solicita sólo el ambiente de trabajo y la estufa.

Sin otro particular me despido atentamente de Ud.



Elizabeth Pareja Cuadros
DOCENTE ASESOR

LUIS BARRIENTOS ANGEL JORGE
DNI: 41510075

Mg. C.D. Carlos Gálvez Ramírez
CCP

ANEXO Nº 6



PROTLABN-05 (59.5)

NORMAS DE SEGURIDAD Y BIOSEGURIDAD PARA TRABAJO EN LABORATORIOS

1. Ventilar el ambiente, revisar las instalaciones eléctricas y el sistema de tuberías, que nos garanticen un trabajo seguro, prestar atención a los procedimientos y técnicas que se van a utilizar en la práctica.
2. Aplicar las Normas de seguridad, bioseguridad, además las normas y leyes afines.
3. Usar el mandil blanco manga larga (guardapolvo) dentro de las instalaciones del área de Laboratorio y Material Didáctico, evitar utilizar brazaletes, collares y aretes largos, cabellos sueltos.
4. Mantener el laboratorio limpio, cumplir con la norma de eliminación y disposición de residuos y las normas y leyes afines.
5. No beber, fumar, guardar alimentos durante el desarrollo de las prácticas. Lavarse las manos antes y después de cada práctica.
6. Lavar el material con agua destilada antes de iniciar sus experiencias en el laboratorio.
7. Utilizar guantes descartables y mascarillas para manipular muestras biológicas, material infeccioso, líquidos biológicos (sangre, esputo, etc.)
8. Utilizar una pipeta por cada reactivo o lavar varias veces con agua a chorro y finalmente con agua destilada antes de volverla a utilizar. No pipetear con la boca, utilice las bombillas de succión.
9. Lea con detenimiento las etiquetas de los reactivos, determine si son sustancias químicamente puras (ácidos, corrosivos), porcentuales, molares, normales, reactivos preparados, etc.
10. Utilizar las campanas extractoras para todos los procesos de trabajo con reactivos, especialmente con aquellos que son peligrosos. Ejemplo: ácido clorhídrico, amoníaco, ácido sulfúrico, entre otros.
11. Al encender un mechero abra lentamente la llave del gas hasta obtener una llama moderada y mantener la distancia prudente, de ocurrir un probable incendio utilizar los extintores que se encuentran cerca de la puerta de salida, y en los pasadizos, evacue el laboratorio, de la señal de alarma a los responsables del área.
12. Tener en cuenta las probables reacciones de los reactivos, siempre consultar con el docente o responsable sobre el procedimiento, que se va a realizar, ante cualquier incidente como derrame o salpicadura limpiar inmediatamente y notificar al docente y/ responsable, si son sustancias peligrosas.



inflamables apagar los mechero o material comburente que pueda producir chispas.

13. Descartar y/o almacenar los reactivos neutralizados, diluidos, o inactivados; así evitará las reacciones violentas, las sustancias sólidas descartarlas de acuerdo a la Norma de eliminación de residuos.
14. Si se produce la rotura de un frasco de reactivo, avisar inmediatamente al responsable y jefe de área
15. Mantener las puertas cerradas de los laboratorios, no permitir el ingreso de persona ajenas al grupo de prácticas o colaboradores del área.
16. Toda exposición y/o accidente notificar inmediatamente al docente, Jefe de Área ó responsables respectivos, quienes tomaran las acciones del caso.

Recuerde que Ud. está trabajando en un laboratorio y debe hacerlo de manera responsable, para cuidar su salud y la de sus compañeros.



**VICERRECTORADO
LABORATORIO Y MATERIAL DIDÁCTICO**

ANEXO N° 7



PROTLABN-06 (59.6)

NORMAS DE ELIMINACIÓN Y DISPOSICIÓN DE RESIDUOS COMUNES Y ESPECIALES.

Normas a cumplir por los usuarios de Laboratorios de ciencias y ambientes afines.

I.- CLASIFICACIÓN Y ELIMINACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS.

RESIDUOS LÍQUIDOS ESPECIALES

Líquidos orgánicos y otros: Diluir con abundante agua y eliminar directamente al desagüe.

Solventes (tolueno, éter, benceno, metanol, nitrobenzono, acetona): Colocar los solventes en los frascos rotulados correspondientes ubicados en los laboratorios para su desecho respectivo por una empresa autorizada, no mezclar los reactivos.

Líquidos infecciosos (sangre, secreciones, sobrenadantes de los cultivos: bacterias, hongos, virus, mohos).- Almacenar los materiales que contengan los microorganismos anteriormente citados en un recipiente que contenga lejía o betagen R82F (4ml en 1 lt de agua) por 10 minutos y eliminar el líquido contaminado al desagüe, embalar el recipiente con cintas de seguridad y desechar.

RESIDUOS SÓLIDOS ESPECIALES

Material de vidrio roto - Triturar el vidrio hasta 10 cm. de diámetro y colocar en el recipiente habilitado para el desecho de vidrios del almacén de reactivos, asegurar con cinta de embalaje.

Material de vidrio contaminado.- Prolongar el proceso de autoclavado por una hora a 121°C y 1,5 atmósferas de presión para volver a utilizar.

Agares, caldos: Autoclavar y colocar los desechos en la bolsa roja y colocar al tacho rojo.

Sales, óxidos, hidróxidos.- las sales se pueden reciclar, separar los residuos de los óxidos e Hidróxidos, colocar en una bolsa y colocarlo en la bolsa amarilla y tacho amarillo.

RESIDUOS SÓLIDOS COMUNES

Plásticos (venoclisís, volutrol, sondas Foley y similares).- Rotular y almacenar en una bolsa de plástico para su desecho en bolsa y tacho rojo.

OBJETOS PUNZANTES Y CORTANTES

Jeringas, agujas, lancetas.- Después de su uso colocar la jeringa en una caja de seguridad tetrapack, sacar el capuchón, para su desecho independiente, asegurar la caja llena con agujas para su desecho.

MATERIAL Y TEJIDOS BIOLÓGICOS

Piezas y tejidos biológicos: Colocar las muestras en frascos de vidrio y tapa hermética ancha con formol al 40 % y después de su uso eliminar a la fosa común.



Animales menores.- Colocar el animal muerto a una bolsa verde con cal para su disposición final en la fosa común por el personal responsable.

Frascos con heces.- Agregarlos formol sal o formol al 10 % para poder hacer el examen, luego del Análisis autoclavar y colocarlo en la bolsa roja y tacho rojo.

Algodones usados.- Después de su uso colocar en un recipiente que contenga lejía o betagen R82F (4 mL en L de agua) por 10 minutos, colocarlo en la bolsa roja, tacho rojo.

RESIDUOS COMUNES.- Como son las bolsas plásticas, papeles, etc colocar en una bolsa y tacho azul

II.- DISPOSICIÓN FINAL

- El personal de limpieza recoge los residuos sólidos diariamente y lo traslada al ambiente de bioseguridad N° S 06 ubicado en el sótano.
- La disposición de los tachos es la siguiente:
Lado Derecho: Residuos sólidos especiales de laboratorios.
Lado frontal: Reactivos orgánicos y biológicos (Cafeterías y otros).
Lado Izquierdo: Residuos comunes. Pasadizos, aulas y servicios higiénicos.
- Los residuos especiales son transportados y tratados por las EPS-ERS
- El residuo biocontaminado y tóxico es rotulado por el personal especialista antes de ser trasladado a la fosa común de residuos.

