



UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER

ESCUELA DE POSGRADO

EFFECTO INHIBIDOR DE LAS CONCENTRACIONES
MÍNIMAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA Y ORÉGANO
EN COMPARACIÓN CON SUSTANCIAS
ANTIMICROBIANAS USADAS EN LA TERAPIA PULPAR
FRENTE A CEPAS DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO *IN*
VITRO. LIMA 2014.

Tesis para optar el Grado Académico de:

DOCTOR EN SALUD

Presentada por:

Mg. FEDERICO MARTIN MALPARTIDA QUISPE

LIMA – PERÚ

2017

Tesis

EFFECTO INHIBIDOR DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA Y ORÉGANO EN COMPARACIÓN CON SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS USADAS EN LA TERAPIA PULPAR FRENTE A CEPAS DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO *IN VITRO*. LIMA 2014.

ASESORA:

Dra. Anita Kori Aguirre Morales

DEDICATORIA

A Dios porque siempre está con nosotros, haciendo de nuestra vida una demostración de fe.

A mi hermosa familia Julissa, Federico André y Samuel Martín.

Al esfuerzo y motivación de mis padres Martha y Federico por darme su amor e inculcarme valores.

A mi hermano Miguel por sus bromas, enseñanzas y cariño demostrados desde siempre.

A mis suegros Adelina y Nicolás por su apoyo, respeto y consideración.

A mis abuelos Marciano, Daría, Isabel, Máximo y mi tío Antonio, mi eterno agradecimiento por su amor incondicional, sabiduría, paciencia, tolerancia y buen humor. Que Dios los cuide por siempre en su Reino.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Privada Norbert Wiener, mi alma mater y segunda casa desde hace más de 10 años.

A la Dra. Anita Kori Aguirre Morales por su amistad y asesoría en la presente tesis.

A la Srta. Nadia Fuster Mateo por su invaluable apoyo en la ejecución de la investigación.

A la Ing^o Jessica Leguía Aréstegui, Jefe de la Oficina de Laboratorios y Material Didáctico de la Universidad Privada Norbert Wiener, por su amistad y generosidad al facilitar las instalaciones del laboratorio de microbiología de la Universidad.

A la Bióloga Georgette Callirgos Sáez, por su asesoría y supervisión en la recolección, producción y mantenimiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (Orégano).

Al Dr. Mario Carhuapoma Yance, por su apoyo y asesoría en la metodología de la presente investigación

Al Dr. Ronald Ordinola Zapata por sus consejos y selección bibliográfica.

Al Dr. Luis E. Chávez de Paz por proporcionar mayor peso científico al presente trabajo de investigación con sus aportes bibliográficos.

Al Dr. Alexander N. Schmidt-Lebuhn por la generosidad de brindar sus artículos científicos para la realización de la presente tesis.

	ÍNDICE GENERAL	Pág
Título		ii
Dedicatoria		iii
Agradecimiento		iv
Índice general		v
Índice de tablas y gráficos		vii
Resumen		xi
Abstract		xii
Introducción		xiii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA		16
1.1. Descripción de la realidad problemática		16
1.2. Identificación y formulación del problema		17
1.2.1. Problema general		17
1.2.2. Problemas específicos		18
1.3. Objetivos de la investigación		20
1.3.1. Objetivo general		20
1.3.2. Objetivos específicos		21
1.4. Justificación de la investigación		23
1.5. Limitaciones de la investigación		26
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO		27
2.1. Antecedentes de la investigación		27
2.2. Bases legales		33
2.3. Bases teóricas		35
2.4. Formulación de hipótesis		74
2.4.1. Hipótesis general		74

2.4.2. Hipótesis específicas	74
2.5. Operacionalización de variables e indicadores	76
2.6. Definición de términos básicos	77
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	81
3.1. Tipo y nivel de la investigación	81
3.2. Diseño de la investigación	81
3.3. Población y muestra	81
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	82
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	85
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	86
4.1. Procesamiento de datos: Resultados	86
4.2. Discusión de resultados	110
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	115
Conclusiones	115
Recomendaciones	118
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
ANEXOS	147
Anexo N° 1: Certificados de pureza de los aceites esenciales	147
Anexo N° 2: Protocolo de conservación de los aceites esenciales	149
Anexo N° 3: Fotografías	150
Anexo N° 4: Fichas de recolección de datos	154
Anexo N° 5: Normas de eliminación de residuos comunes y especiales	156
Anexo N° 6: Cronograma de actividades	157
Anexo N° 7: Presupuesto	159
Anexo N° 8: Matriz de consistencia	161

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Pág.

Tabla N° 1: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .	86
Tabla N° 2: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> .	86
Tabla N° 3: Medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	87
Gráfico N° 3: Medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	87
Tabla N° 4: Efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	88
Gráfico N° 4: Efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	88
Tabla N° 5: Medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	89
Gráfico N° 5: Medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	89

Tabla N° 6: Efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	90
Gráfico N° 6: Efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	90
Tabla N° 7: Efecto inhibidor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	91
Gráfico N° 7: Efecto inhibidor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	91
Tabla N° 8: Medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	92
Gráfico N° 8: Medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	92
Tabla N° 9: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	93
Gráfico N° 9: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	93
Tabla N° 10: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	94
Gráfico N° 10: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.	94
Tabla N° 11: Efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en	95

comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.

Gráfico N° 11: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas. 99

Tabla N° 12: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas. 101

Gráfico N° 12: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas. 106

Tabla N° 13: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) 108

al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Gráfico N° 13: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de 109 *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto inhibitor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Para tal efecto se reactivaron los *E. faecalis* (ATCC 29212) que fueron utilizados en las dos etapas del estudio: 1.- Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ambos aceites esenciales. 2.- Determinación del efecto inhibitor de estos aceites esenciales en comparación a sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar. En la primera etapa del estudio se encontró que la CMI del aceite esencial de muña fue 10% y aceite esencial de orégano fue 30%. En la segunda etapa, los *E. faecalis* fueron sembrados en 56 placas petri que contenían el medio de cultivo *Mueller Hinton* con pozos de 6 mm. de diámetro donde se vertieron 100 ul. de aceite esencial de muña al 100%, aceite esencial de muña al 10% (CMI), aceite esencial de orégano al 100%, aceite esencial de orégano al 30% (CMI), hipoclorito de sodio al 5%, clorhexidina al 2% (gel), clorhexidina al 2% (solución), Calcifar - P® y Tween 20. Las placas se incubaron a 37°C realizándose la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla pie de rey a las 24 y 48 horas. Para el análisis de los resultados se utilizaron las pruebas de ANOVA y Tukey. Se concluye que la CMI del aceite esencial de muña y orégano tienen efecto inhibitor frente a *E. faecalis* a las 24 y 48 horas, sin embargo su efecto es menor que la Clorhexidina al 2% (solución).

PALABRAS CLAVE: aceite esencial, *Minthostachys mollis*, muña, *Origanum vulgare*, orégano, efecto inhibitor bacteriano.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the inhibitory effect of minimum concentrations of essential oil of *Minthostachys mollis* (muña) and *Origanum vulgare* (orégano) comparing them with antimicrobial substances used in pulp therapy against strains of *Enterococcus faecalis*. For this purpose, the *E. faecalis* (ATCC 29212) strains were reactivated and used in the two stages of the study.

1. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of both essential oils.
2. Determination of the inhibitory effect of these essential oils compared to antimicrobial substances used in pulp therapy. In the first stage, it was found that the CMM of muña essential oil was 10% and the CMM of the oregano essential oil was 30%. In the second stage, *E. faecalis* were seeded in 56 petri dishes containing Mueller Hinton culture medium with wells of 6mms. of diameter filled with 100 ml of 100% and 10% (CMI) muña essential oil, 30% and 100% (CMI) of oregano essential oil, sodium hypochlorite at 5%, chlorhexidine gel at 2% and chlorhexidine solution at 2%, Calcifar - P ® y Tween 20. The petris were incubated at 37 ° C performing the measurement of the inhibition halos with a Vernier caliper or caliper rule at 24 and 48 hours. For the statistics analysis ANOVA and Tukey tests were used. We concluded that the CMM of muña and oregano essential oils have inhibitory effect against *E. faecalis* at 24 and 48 hours, however its effect is less than 2% chlorhexidine (solution).

KEY WORDS: Essential oil, *Minthostachys mollis*, muña, *Origanum vulgare*, orégano, Bacterial inhibitory effect.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento endodóntico tiene como objetivo la antisepsia del sistema de conductos radiculares. Sin embargo, en muchos casos a pesar de un tratamiento de conductos meticuloso, estos presentan bacterias persistentes, predisponiendo al fracaso del tratamiento endodóntico. Estas bacterias se caracterizan por ser facultativas Gram-positivas que incluyen *Enterococos*, *Streptococos* y *Lactobacilos*, presentándose una periodontitis apical persistente. Por ello, durante la preparación quirúrgica de conductos radiculares se colocan medicamentos intraconducto que buscan eliminar estos microorganismos entre citas, sin embargo, el *Enterococcus faecalis* subsiste a este medio, inclusive dentro de los túbulos dentinarios, así como en las pequeñas grietas o tortuosidades de la compleja morfología del sistema de conductos radiculares.

El propósito de este estudio fue determinar el efecto inhibitor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis* y nos abrirá una puerta de posibilidades en la terapéutica natural de piezas dentarias con necrosis pulpar para la reducción de los fracasos endodónticos ocasionados por infecciones persistentes.

La presente tesis se encuentra organizada en 5 capítulos cuyo contenido es el siguiente:

En el capítulo I denominado planteamiento del problema se presenta una realidad problemática que ocurre en los tratamientos de conductos radiculares con necrosis pulpar, donde a pesar que el Odontólogo sigue un protocolo correcto de

endodoncia, se manifiesta la periodontitis apical crónica persistente cuya bacteria de mayor prevalencia es el *Enterococcus faecalis*, siendo pertinente la búsqueda de una sustancia natural efectiva para la prevención y tratamiento de esta enfermedad que ocasiona los fracasos endodónticos. Además, se formula el problema en forma de un interrogante cuya respuesta se evidencia posteriormente, cumpliendo con los objetivos que también se consolidan en este capítulo.

En el capítulo II que corresponde al marco teórico, se amplía la descripción del problema, considerando estudios previos cuyos resultados y conclusiones fueron registrados en los antecedentes de la investigación. El sustento teórico científico de la investigación se elaborará a manera de una pared cuyos ladrillos estarán bien colocados guardando coherencia y lógica en toda su estructura, haciendo que este componente de la investigación otorgue consistencia y evidencia científica al estudio. Una parte medular del presente trabajo también será planteado en este capítulo como son la hipótesis y las variables que guiarán las acciones de la investigación al convertir lo conceptual en algo fáctico, es decir posible de medir.

En el capítulo III se describe la naturaleza del estudio, el tipo y nivel de investigación, además de la técnica e instrumentos para la recolección de datos, donde se hace un relato de las acciones realizadas en el laboratorio, uso de reactivos, preparación de sustancias para el cultivo, estandarización de procedimientos y control de calidad.

En el capítulo IV se realizó la presentación de resultados según cada objetivo específico y la discusión, comparando los resultados de la presente investigación con los antecedentes, acotando las razones de las diferencias o similitudes de la comparación entre resultados.

En el capítulo V se concluye la investigación considerando la relación con los

objetivos específicos, asimismo se presentó las recomendaciones que se basan en continuar con esta línea de investigación ya trazada en la búsqueda de una sustancia eficaz para evitar la periodontitis apical crónica persistente y por ende asegurar el éxito de todo tratamiento endodóntico.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La endodoncia es una disciplina de la odontología que trata las patologías del órgano dentino-pulpar, así como la consecuente afección de los tejidos periodontales circundantes, por lo que el objetivo fundamental del tratamiento endodóntico consiste en prevenir, diagnosticar y tratar la enfermedad pulpar y periapical, preservando las estructuras dentarias y como consecuencia, en la función y equilibrio del sistema estomatognático.

Cabe resaltar que el principal factor etiológico de las enfermedades pulpares y periapicales son los microorganismos, por ello es imprescindible la eliminación de éstos mediante los procedimientos de irrigación-aspiración y conformación del sistema de conductos radiculares.

Luego del tratamiento de conductos radiculares, cuando se logra la correcta antisepsia de los mismos, usualmente la reabsorción ósea producida por una periodontitis apical crónica cede con el paso de los meses; sin embargo este proceso de cicatrización no se evidencia si estamos en presencia de una periodontitis apical persistente, que se manifiesta a pesar de utilizar diferentes sustancias antimicrobianas intraconducto durante el tratamiento de una necrosis pulpar, siendo la más utilizada el hidróxido de calcio, hipoclorito de sodio o clohexidina que tiene un alto poder antimicrobiano, manteniendo su efectividad por mucho tiempo dentro del sistema de conductos radiculares.

En la periodontitis apical persistente existen microorganismos en un número muy limitado (generalmente una sola especie), ya que no todos los microorganismos son capaces de sobrevivir a un hábitat con nutrientes restringidos, a diferencia de los microorganismos Gram positivos anaerobios facultativos como los *Enterococcus faecalis* que son predominantes.

En los últimos años se ha incrementado notablemente las investigaciones con el afán de encontrar drogas quimioterápicas a partir de plantas medicinales de uso tradicional con mejor comportamiento biológico, por ello ha despertado la atención el uso de sustancias de origen natural como una alternativa en la medicación intraconducto, ya que existen evidencias científicas del efecto inhibidor de los aceites esenciales sobre diferentes clases de bacterias y hongos, habiéndose experimentado escasamente su acción frente a *Enterococcus faecalis*, es así como los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano), podrían ser una posibilidad para tal fin. Por lo tanto el presente estudio es congruente con la línea de investigación de la Universidad que consiste en realizar trabajos destinados a principios aplicativos en la carrera profesional, cuyo uso redundará positivamente en la salud bucal de la población.

1.2. Identificación y formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio *in vitro*. Lima 2014?

1.2.2. Problemas específicos

Primera Etapa:

1. ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*?
2. ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*?

Segunda Etapa:

3. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?
4. ¿Cuál es el efecto inhibitorio de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente al cultivo bacteriano de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?
5. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?

6. ¿En qué medida se dará el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.
7. ¿Cuál es el efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.
8. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.
9. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.
10. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.
11. ¿Cuál es el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas?.
12. ¿Cuál es el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare*

(orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas?.

13. ¿Cuál es el efecto inhibitorio de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas?.

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto inhibitorio de las concentraciones mínimas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

1.3.2. Objetivos específicos

Primera Etapa:

1. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.
2. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

Segunda Etapa:

3. Registrar la medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
4. Determinar el efecto inhibitorio de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
5. Registrar la medida del halo de inhibición formado el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

6. Cuantificar el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
7. Determinar el efecto inhibidor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
8. Registrar la medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
9. Cuantificar el halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
10. Cuantificar el halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.
11. Evaluar el efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.
12. Evaluar el efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al

2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas.

13. Comparar el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

1.4. Justificación de la investigación

Los resultados nos permitirán descubrir una alternativa natural para la medicación intraconducto, evitando la aparición de la periodontitis apical crónica persistente y por consiguiente el fracaso endodóntico; asimismo, aumentaría las posibilidades de sustancias antimicrobianas utilizadas en endodoncia, obteniendo conductos radiculares con una adecuada antisepsia, previniendo la posibilidad de contaminación o recontaminación microbiana.

Las sustancias antisépticas de origen natural como los aceites esenciales, son presentados en la mayoría de antecedentes en diferentes concentraciones sin considerar la concentración mínima inhibitoria (CMI), por ello en el presente estudio se hallará la CMI de cada uno, dato que será de utilidad en el campo farmacéutico para preparar posibles antimicrobianos en base a este producto natural. Por otra parte, son escasos los estudios donde se han probado la

acción antimicrobiana de estas plantas en *Enterococcus faecalis*, tomando en cuenta su alta supervivencia.

La presente tesis servirá como evidencia científica al profesional odontólogo para seleccionar una medicación intraconducto adecuada que pueda ser efectiva contra los *Enterococcus faecalis*, asimismo, marcará el principio de futuras investigaciones basadas en el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de plantas frente a bacterias patogénicas de las enfermedades bucales. Otro factor importante es que el hallazgo de un efecto inhibitor de las CMI del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) y CMI del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*, tendría gran relevancia ya que su producción industrial no sería muy costosa (tomando en cuenta que el frasco con 10 cc. de aceite esencial puro tiene un costo de 40 soles y la clorhexidina al 2% en gel tiene un valor de 200 soles con 5 cc. aproximadamente) y aumentaría las posibilidades de sustancias antimicrobianas utilizadas en endodoncia, brindando trabajo al campesino peruano que siembra y recolecta estas plantas.

Es necesaria la presente investigación, porque la literatura sugiere que la infección persistente y la infección secundaria son las causas principales del fracaso endodóntico no dando mayor importancia a factores no microbiológicos, intrínsecos y extrínsecos, además los reportes clínicos manifiestan una preponderancia de los fracasos endodónticos cuando no se realiza una adecuada antisepsia del sistema de conductos radiculares, especialmente en casos de necrosis pulpar. Además, la utilización de una nueva sustancia natural

para la medicación intraconducto derivado de plantas que crecen abundantemente en nuestro país nos permitirán descubrir una alternativa natural para la medicación intraconducto, evitando la aparición de la periodontitis apical crónica persistente y por consiguiente el fracaso endodóntico, redundando positivamente en la rentabilidad de la empresa nacional ya que es un rubro aún no explotado por la industria farmacéutica mundial. Además la OMS (Organización Mundial de la Salud) manifiesta que las plantas medicinales son la mejor fuente para la generación de nuevos medicamentos.

El estudio fue factible por la disponibilidad del investigador para realizar personalmente la fase experimental y recolección de datos. Las sustancias fueron adquiridas en el mercado, sin embargo cabe resaltar que fue complicado conseguir aceites esenciales con certificado de pureza y con aval de un experto en la producción de los mismos, ya que en el Perú existen muchas casas comerciales que ofertan aceites esenciales sin certificados ni protocolos de conservación que los avalen para investigación; asimismo, la cepa de *Enterococcus faecalis* fue importada de Estados Unidos ya que pertenece a la ATCC (American Type Culture Collection) con la codificación 29212.

1.5. Limitaciones de la investigación

Limitaciones externas: Con respecto a los aceites esenciales hubo al principio una incertidumbre para ubicar una empresa con las debidas normas de recolección, conservación y pureza de la muestra. Sin embargo, se encontró la empresa Essentials Oils Perú quien expide un certificado de pureza por cada aceite esencial firmado por la Bióloga Georgette Callirgos.

Además, la información sobre la Periodontitis Apical Persistente es escasa, por ello se ha considerado toda la literatura pertinente priorizando el rigor científico de esta.

Limitaciones internas: El diseño de la investigación se limita a una fase experimental *in vitro*, aún no se ha probado las sustancias con seres vivos ya que primero se debe hallar concentraciones mínimas inhibitorias para pasar a la siguiente etapa en cumplimiento de la Declaración de Helsinki.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes Internacionales

Ardila M *et al* (2009) evaluaron la actividad antibacteriana frente a *Clostridium perfringens* (ATCC: 13124) por el método de Kirby Bauer en Sulfito Polimixina Sulfadiacina Agar (SPS Agar) de los aceites esenciales y extractos vegetales obtenidos con solventes orgánicos de diferente polaridad a partir de *Allium sativum* (ajo), *Coriandrum sativum* (cilantro), *Eugenia Caryophyllata* (clavo de olor), *Origanum vulgare* (orégano), *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Thymus vulgaris* (tomillo), utilizando la vancomicina como control. Los extractos obtenidos de *Origanum vulgare* y *T. vulgaris* no presentaron inhibición para este microorganismo. (1)

Oliveira J *et al.* (2009), demostraron la actividad antibacteriana in vitro de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. y *Origanum majorana* L. sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativo, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp. aisladas de pacientes con conjuntivitis. Los resultados mostraron un efecto inhibitorio prominente en todas las cepas bacterianas. (2)

Toscano J *et al* (2009) demostraron la eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *O. marjorana* sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativo, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella spp.* aislados de pacientes con conjuntivitis. Los resultados mostraron un efecto inhibitor prominente en todas las cepas bacterianas, señaladas por las grandes zonas de inhibición del crecimiento de bacterias con halos de entre 15 a 32mm. el efecto inhibitor *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* y *S. aureus* proporcionaron una eliminación total del inóculo bacteriano en un tiempo máximo de 24 horas de exposición. Estos resultados mostraron la eficacia antibacteriana y apoyaron la posibilidad de usarlo como un potente compuesto antimicrobiano. (3)

Herrera D *et al.* (2008), evaluaron el efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 1495 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 del hidróxido de calcio, iodoformo y la asociación ambos; con diferentes vehículos: solución fisiológica, lidocaína al 2% con epinefrina, polietilenglicol 400 y paramonoclorofenol mediante la prueba de difusión en agar por pozos. Los resultados mostraron que el iodoformo tuvo acción antibacteriana sólo cuando fue utilizado el paramonoclorofenol como vehículo, atribuyéndose la acción antibacteriana a este último, siendo esta semejante a la acción antibacteriana mostrada por el hidróxido de calcio puro y en asociación con el iodoformo. El iodoformo mostró mayor inhibición frente a *P. aeruginosa* en comparación a la acción mostrada frente a *E. faecalis*. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre la acción antibacteriana del hidróxido de calcio puro y asociado al iodoformo, independientemente del vehículo utilizado. Se concluye

que el efecto antibacteriano del hidróxido de calcio sobre *E. faecalis* y *P. aeruginosa* prevalece al mostrado por el iodoformo y que la asociación de ambos no altera ese resultado. (4)

Machado M *et al.* (2007), tuvieron como objetivo, evaluar *in vitro* por el método de la dilución en cultivo, la actividad antibacteriana del paramonoclorofenol alcanforado, la solución de clorhexidina al 2% y el extracto de própolis al 50% frente al *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados demostraron que el Paramonoclorofenol Alcanforado y la solución de Clorhexidina al 2% poseen acción antibacteriana sobre todas las bacterias testeadas y que el extracto de Própolis al 50% posee actividad antibacteriana sobre *S. aureus*, pero no posee sobre *E. faecalis* ni *P. aeruginosa*. (5)

Medeiros L *et al* (2005) Estudiaron el efecto antibacteriano de los aceites esenciales del *L.sidoides*, *C. citratus*, *C. sonderianus*, *C. argyrophyloides* y *C. zehntneri* frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli* en diferentes concentraciones de 10ul. y 20ul. Observándose que el aceite esencial de *L. sidoides* presenta un alto poder antibacteriano seguido del *C. citratus*. El *C. citratus* tiene una CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) de 5% para las dos primeras bacterias (*S. aureus* y *P. aeruginosa*) pero para la tercera (*E. coli*) fue de 15%. (6)

Salaverry G *et al.* (2005), evaluaron *in vitro* la capacidad antiséptica de los vapores del paramonoclorofenol alcanforado en seis microorganismos

frecuentemente aislados de la microbiota endodóntica, realizando recuentos del inóculo a las 0, 24 y 72 horas. En las condiciones del ensayo, el paramonoclorofenol alcanforado mostró eficaz acción bactericida frente a microorganismos anaeróbicos. No se observó actividad bactericida frente a *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*, aunque no hubo incremento en el número de colonias vivas. (7)

Peñalver P *et al* (2005) realizaron un ensayo in vitro donde midieron la actividad antimicrobiana de cinco aceites esenciales: el orégano español (*Coridothymus capitatus*), la ajedrea (*Satureja montana*), la mejorana española (*Thymus mastichina*), tomillo (*Thymus zygis*) y el orégano (*Origanum vulgare*) frente a cepas de las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella essen*, patógenas en aves, y a cepas tóxicas a nivel intestinal, de *E. coli*, *Salmonella choleraesuis*, patógenas en cerdos. El aceite esencial que presentó la actividad antimicrobiana mayor contra las cuatro cepas de *Salmonella* fue el de *Origanum vulgare* seguido por *Thymus zygis*. (8)

Amorim C *et al.* (2004), estudiaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del digluconato de clorhexidina y el paramonoclorofenol frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia* ATCC 33563, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Porphyromonas endodontalis* ATCC 35406, *Prevotella denticola* ATCC 35308 y *Prevotella melaninogenica* ATCC 33563, utilizando el método de dilución en agar. Concluyendo que la mayor CMI del paramonoclorofenol fue frente a *E. faecalis*, entretanto *E. coli* fue el

microorganismo más susceptible, asimismo la mayor CMI del digluconato de clorhexidina fue frente a *P. aeruginosa*, entretanto *E. coli* y *P. denticola* fueron los microorganismos más susceptibles. Como los valores de CMI observados son mucho menores que las concentraciones usadas normalmente en la terapia endodóntica, se sugiere que ambos agentes son efectivos en la reducción microbiana de los conductos radiculares. (9)

Pardina S *et al.* (2004), estudiaron in vitro el efecto antimicrobiano de la irrigación con hipoclorito de sodio al 4% y clorhexidina al 2% de conductos radiculares infectados con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, teniendo como resultado el mismo porcentaje de dientes desinfectados (83,3%). (10)

Ferreira C *et al.* (2002), determinaron la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio al 10%, paramonoclorofenol alcanforado, digluconato de clorhexidina al 2% y detergente de aceite de ricino al 10% mediante pruebas de dilución en caldo frente a bacterias anaerobias estrictas: *Prevotella nigrescens* ATCC 33563, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Clostridium perfringens* ATCC 13124 y *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 obteniendo así la CMI y CMB. Concluyendo que el digluconato de clorhexidina es el más eficaz, con la CMI más baja, seguido del detergente de aceite de ricino, paramonoclorofenol alcanforado y el hidróxido de calcio. Los *C. perfringens* y *B. fragilis* fueron las bacterias más resistentes a todos los agentes. (11)

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Huari G (2014), evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en *Streptococcus mutans*, utilizando el método de difusión en agar por discos, concluyendo que el aceite esencial de muña tuvo efecto inhibitor al 100%, 50% y 25%. (12)

González J *et al* (2013), realizaron una investigación que tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de muña frente a *Streptococcus mutans*. Encontrando que el aceite esencial tuvo efecto antibacteriano y su concentración mínima inhibitoria fue de 0,31 uL/mL. (13)

Cano C *et al.* (2008), demostraron la actividad antimicótica del aceite esencial de muña, mediante el método de difusión en agar por pozos, midiendo la inhibición del crecimiento fúngico de *Candida albicans* ATCC 32148, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporun canis*, probablemente por la acción de los monoterpenos encontrados: pulegona, mentona y limoneno. (14)

Díaz K (2005), estudió la actividad antibacteriana *in vitro*, mediante la prueba de difusión en agar por discos de papel de filtro impregnados del aceite esencial de la *Minthostachys mollis* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus spp.* ATCC 10746, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ATCC 43718 y *Actinomyces spp.* ATCC

15214. Concluyó que la *Minthostachys mollis* tiene acción antibacteriana frente a las cinco especies bacterianas estudiadas. (15)

Méndez K (2004), comparó la efectividad antibacteriana del aceite esencial del *Schinus Molle Linneo* frente al paramonoclorofenol alcanforado en cepas de *Streptococcus oralis* CCUG27680, *Enterococcus faecalis* OMGS3372 y *Fusobacterium sp.* mediante la prueba de difusión en agar por discos. Demostrando que el aceite esencial del *Schinus Molle Linneo* presentó un mayor efecto antimicrobiano frente al *Streptococcus oralis* comparado con el paramonoclorofenol alcanforado, asimismo el efecto fue similar frente al *E. faecalis* y *Fusobacterium sp.* (16)

Inga A, Guerra B (2000), demostraron mediante un estudio las propiedades bactericidas / bacteriostáticas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *B. cereus* MC, *Salmonella typhi*, *S. sonnei* MC, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *K. pneumoniae* ATCC 10031. Además de la acción fungistático/funguicida para *Fusarium moniliforme* y *Aspergiüus niger*. (17)

2.2. Bases legales

Artículo 1 y 7 de la Constitución Política del Perú, “Derecho fundamental de la persona”, se encuentra la defensa de la persona humana y el respeto de su dignidad, considerando el derecho a la protección y salud.

Ley N° 27657 Art. 2° De la naturaleza del Ministerio de Salud. El Ministerio de Salud es un órgano del Poder Ejecutivo, que conduce, regula y promueve la intervención del Sistema Nacional de Salud, con la finalidad de lograr el desarrollo de la persona humana a través de la promoción, protección, recuperación y rehabilitación de su salud y del desarrollo de un entorno saludable, con pleno respeto de los derechos fundamentales de la persona, desde su concepción hasta su muerte natural.

Ítem 6.4 del Manual de Bioseguridad en Laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos del Instituto Nacional de Salud, referente a desinfección y esterilización de campo de trabajo, materiales y equipos. Considerando los productos químicos de desinfección especialmente derivados fenólicos y normas para esterilización de instrumentos.

Ítem 6.7 del Manual de Bioseguridad en Laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos del Instituto Nacional de Salud, referente a manejo de desechos de laboratorio.

Ítem 7.3 del Manual de Bioseguridad en Laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos del Instituto Nacional de Salud, referente a las normas de bioseguridad como uso de mascarilla, guantes, gorro y lentes de protección.

Artículo 2° de la Ley del Cirujano Dentista N° 27878 donde refiere que el odontólogo como profesional de la Ciencias de la Salud presta sus servicios en forma científica, técnica y sistemática en los procesos de promoción,

prevención, recuperación y rehabilitación de la salud bucal, contribuyendo a elevar la calidad de vida y lograr el bienestar de la población en general.

2.3. Bases teóricas

2.3.1 MICROBIOLOGÍA EN ENDODONCIA

El objetivo de la microbiología endodóntica es el de utilizar los hallazgos obtenidos en el laboratorio para mejorar el manejo clínico de las infecciones pulpo-periapicales mediante el estudio de los microorganismos que provocan cuadros patológicos en este nivel. (18)

Cabe resaltar que los microorganismos son considerados el principal agente etiológico, a pesar que la pulpa dentaria puede desencadenar una respuesta inflamatoria a los estímulos de naturaleza física, térmica o química. (19)

Por lo tanto, las patologías pulpares y periapicales suelen ser un resultado directo o indirecto de la presencia de bacterias y otros microorganismos en el medio bucal (20, 21, 22, 23, 24), siendo responsables de su desarrollo y persistencia a pesar del tratamiento endodóntico. (21, 22, 23, 24, 25, 26)

Si la dentina está expuesta al medio bucal es inevitable la invasión de los túbulos dentinarios, esto ocurre por lesiones cariosas, procedimientos restauradores o periodontales, fisuras de esmalte o dentina y traumatismo dental. (27, 28, 29)

Sin embargo, las bacterias asociadas a la caries dental difieren de las asociadas en la infección pulpar. (27)

Esto sugiere que muchas de las especies en la cavidad bucal no poseen las propiedades necesarias para invadir los túbulos dentinarios y sobrevivir dentro de este microambiente (27). Entonces, para que un microorganismo pueda establecerse en el sistema de conductos radiculares y consecuentemente participar en la etiopatogenia de las lesiones perirradiculares requiere de ciertas características: (30)

- a. El microorganismo debe presentarse en un número suficiente para iniciar y mantener la lesión perirradicular.
- b. El microorganismo debe poseer factores de virulencia, la cual debe expresarse durante la infección del conducto radicular.
- c. El microorganismo debe estar localizado espacialmente en el sistema de conductos radiculares de tal manera que sus factores de virulencia puedan ganar acceso a los tejidos perirradiculares.
- d. El ambiente del sistema de conductos radiculares debe permitir la supervivencia y crecimiento del microorganismo y proveer señales que estimulen la expresión de virulencia.
- e. Los microorganismos inhibidores deben estar presentes en bajo número o ausentes en el microambiente del sistema de conductos radiculares.
- f. El hospedero debe desarrollar una estrategia de defensa a nivel de los tejidos perirradiculares, con la finalidad de inhibir la diseminación de la infección. Este proceso dará como resultado un daño tisular.

Además, diversos ensayos clínicos reportan la existencia de bacterias aún después de una meticulosa preparación biomecánica debido a la complejidad

anat6mica del sistema de conductos radiculares y las limitaciones en el acceso de los agentes terap6uticos. (18, 31, 32, 33)

De esta manera, los microorganismos pueden subsistir en el interior de los t6bulos dentinarios y en las irregularidades de los conductos radiculares. Si existe suficiente n6mero de bacterias remanentes y un microambiente adecuado, estas pueden multiplicarse y restablecer la infecci3n en el sistema (19). Dichos microorganismos residuales intervienen en el fracaso del tratamiento endod6ntico (34), as6, muestras de dientes obturados con frecuencia presentan bacterias facultativas Gram positivas que incluyen *Enterococos*, *Streptococos* y *Lactobacilos* (34, 35) 6sto sugiere que son m6s resistentes al tratamiento endod6ntico.

Evidencias cient6ficas sugieren que un restringido grupo de especies microbianas presenta mayor prevalencia en las diferentes formas de lesiones perirradiculares (24, 34, 36, 37, 38, 39, 40). Esta asociaci3n sugiere un papel patog6nico de las mismas.

G6nero de pat6genos endod6nticos com6nmente asociados a diferentes formas de lesiones perirradiculares. Tomado de Siqueira, 2002.

Infecciones primarias		Infecciones secundarias o persistentes ³	Infecciones extrarradiculares ⁴
Lesi3n perirradicular cr3nica ¹	Absceso perirradicular agudo ²		
<i>Bacteroides</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobacterium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	

<i>Eubacterium</i>			
<i>Actinomyces</i>			
<i>Campylobacter</i>			
1. Sunqvist 1976, 1992, Baumgartner 1991, Gomes 1996, Haapasalo 1986, Le Goff 1997, Machado 2000, Rôças 2001, Siqueira 2000. 2. Machado 2000, Rôças 2001, Siqueira 2001a, 2001b, 2001c, Sunqvist 1989, van Winkelhoff 1985. 3. Molander 1998, Peciulienė 2000, Sunqvist 1998, Waltimo 1997, Siren 1997. 4. Happonen 1986, Sjogren 1988.			

(19)

2.3.1.1. Microambiente intrarradicular

Las características del microambiente intrarradicular restringe el establecimiento de microorganismos provenientes de la microbiota oral, donde las interacciones bacterianas (que se traduce en el intercambio de nutrientes entre diversas especies, haciendo que los productos metabólicos de ciertas bacterias determinen el crecimiento o eliminación de otras) y el suplemento nutricional (que es el tejido pulpar degenerado, el cual tiene gran importancia en la fase inicial de la colonización bacteriana) son factores determinantes del desarrollo de la infección. (19, 39, 41)

Además el exudado inflamatorio que contiene elementos séricos y hemáticos, así como la saliva aportarán elementos que fomentarán el crecimiento bacteriano. (22, 41)

Un punto también importante es la baja disponibilidad de oxígeno en los conductos radiculares infectados que es un factor muy selectivo de la microbiota endodóntica, especialmente cuando no existe comunicación cámara pulpar-cavidad bucal, en particular en las porciones apicales donde el bajo potencial de óxido-reducción en el tejido necrótico favorece en un principio el

crecimiento de bacterias anaerobias facultativas y posteriormente anaerobias estrictas. (18, 41)

2.3.1.2. *Enterococcus faecalis*

Los nuevos conceptos de resistencia bacteriana en endodoncia están mostrando el importante papel de los *Enterococcus faecalis* (42), que son cocos gram positivos que pueden presentarse por separado, en parejas o en cadenas cortas (43). Son anaerobios facultativos, que poseen la capacidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno. (44, 45)

Una característica notable la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias. (43, 44, 46, 47)

Los *E. faecalis* son ecológicamente tolerantes y tienen la capacidad de sobrevivir a duras condiciones (48), raramente están presentes en la periodontitis apical primaria donde se encuentran entre un 4 y 40% (45), en cambio son los microorganismos dominantes en la periodontitis apical después del tratamiento de conductos, ya que su prevalencia ha demostrado ser de 24 al 77%. (34)

Son organismos persistentes que constituyen una pequeña proporción de la flora en los conductos radiculares sin tratamiento. Sin embargo es frecuente encontrarlo en un alto porcentaje de los fracasos endodónticos (43) donde las pruebas de cultivo para su detección en periodontitis apical persistente resultó de 24 a 70%, encontrándose en forma consistente porcentajes más elevados (67-77%) cuando un método de detección con técnica de PCR (Reacción en

cadena de polimerasa) es utilizado (45). Este resulta ser más rápido, más sensible y más exacto que los métodos de cultivo convencionales (49, 50). Además es capaz de sobrevivir como un sólo microorganismo o como un componente importante de la flora (34, 35, 46, 51), en el sistema de conductos radiculares con infecciones persistentes (42), siendo capaz de reprimir la acción de los linfocitos, contribuyendo al fracaso endodóntico.

Tiene la capacidad de soportar períodos prolongados de hambre hasta que una nutrición adecuada se disponga de la oferta. Una vez disponible, las células hambrientas son capaces de recuperarse mediante la utilización de suero (del hueso alveolar o ligamento periodontal) como fuente de nutrición. (52, 53)

La habilidad por parte de los *E. faecalis* para causar enfermedades periapicales crónicas y fracasos en dientes tratados endodónticamente puede deberse a su capacidad de invadir los túbulos dentinarios y mantenerse viable dentro de estos. (43)

Además los estudios de Ribeiro *et al* y De Melo Maltos *et al*, demuestran que el *E. faecalis* es capaz de trasladar bacterias del sistema de conductos radiculares a los ganglios linfáticos submandibulares de ratones libres de gérmenes, esta vía de infección sugiere que puede desempeñar un papel en la patogénesis de infecciones oportunistas en los pacientes. (46, 54, 55)

La erradicación del *E. faecalis* del conducto radicular sigue siendo un desafío, mientras que la clorhexidina y combinaciones de algunos medicamentos son una promesa (48), la presencia de diversos componentes de la matriz dentinaria, el colágeno de tipo I, la hidroxiapatita y el suero alterarán su efecto antibacteriano. (56)

2.3.1.3. Supervivencia y Factores de virulencia

Los enterococos catabolizan una variedad de fuentes de energía como: hidratos de carbono, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y muchos ceto ácidos (44), pueden sobrevivir a ambientes extremos de pH alcalino y concentraciones de sal (44, 47). Resisten además, las sales biliares, detergentes, metales pesados, el etanol, azida y la desecación (44).

Los *E. faecalis* pueden ser recuperados en medios limitados de nutrientes por periodos extensos, el número de colonias residuales parece ser un factor significativo en la supervivencia de esta bacteria, cantidades >10⁸ cfu/ml pueden sobrevivir por más de 4 meses en agua, cantidades <10⁶ cfu/ml resulta en una pérdida de la viabilidad, aunque puede ser reactivada rápidamente por suero humano, el cual puede estar presente en el fluido dentinario de los tercios apicales radiculares. (52, 57)

Se ha demostrado que los *E. faecalis* en los túbulos dentinarios pueden resistir apósitos intracanal de hidróxido de calcio de más de 10 días. (58, 59, 60, 61)

Cabe mencionar que estudios realizados por Haapasalo *et al* y Portenier *et al*, utilizando el modelo de la dentina en polvo han demostrado que la presencia de la dentina tiene un efecto inhibitor sobre diversas concentraciones de medicamentos intraconducto incluyendo hidróxido de calcio, hipoclorito de sodio, clorhexidina, yodo y yoduro de potasio. (62, 63)

Esta bacteria es capaz de compartir sus factores de virulencia, lo que contribuye a su supervivencia y la capacidad de causar enfermedad. (64).

Factores de virulencia del *Enterococcus faecalis*.

• Soporta largos periodos de privación nutricional
• Se une a la dentina e invade los túbulos dentinarios.
• Altera la respuesta del hospedero.
• Suprime la acción de los linfocitos.
• Posee enzimas líticas, citolisinas, sustancia de agregación, feromonas y ácido lipoteicoico.
• Utiliza suero como fuente de nutrición.
• Resistente a los medicamentos intraconducto. Ej. Ca(OH)_2 - Mantiene la homeostasis del pH. - Las propiedades de dentina disminuyen el efecto del hidróxido de calcio.
• Compite con otras células.
• Forma un biofilm.

(46)

Estos factores pueden o no contribuir a las características innatas de los *E. faecalis* para causar enfermedad. Ya que es menos dependiente de factores de virulencia, se basa más a su capacidad para sobrevivir y persistir como un agente patógeno en el sistema de conductos radiculares (45).

2.3.1.4. *E. faecalis* y película periapical

La microbiología se ha basado en el estudio de los microorganismos como formas únicas, flotando en un medio líquido, sin embargo, está ampliamente reconocido que la mayoría de los microorganismos encontrados en la naturaleza se encuentran asociados entre ellos y con la superficie que los rodea, formando organizaciones microbianas denominadas biopelículas (cuyo término en inglés es Biofilm), donde se establecen interacciones activas entre sus habitantes y el medio ambiente circundante. (65, 66)

Se ha demostrado que los enterococos, al igual que otros microorganismos Gram-positivos, son capaces de adherirse y formar biopelículas sobre superficies de plástico. Sin embargo, varios factores responsables de la formación de biopelículas y su mantenimiento son desconocidos. El Biofilm bacteriano rara vez se elimina totalmente, incluso en individuos con una competente respuesta inmune innata y adaptativa. (48)

La agregación de los microorganismos en biopelículas tiene implicaciones clínicas distintas desde el punto de vista del tratamiento, por lo que es importante conocer la susceptibilidad que tiene la misma a las distintas fases de la terapia endodóntica, así como las nuevas estrategias utilizadas para la eliminación de éstas. (65)

E. faecalis es capaz de formar un biofilm que permite a las bacterias ser mil veces más resistente a la fagocitosis, anticuerpos y los antimicrobianos (67) que otros modos de crecimiento (68), por ejemplo; cuando se halla como bacteria planctónica (suspendida en un medio líquido y no adherida a ninguna superficie) (43, 68), esta biopelícula posee una arquitectura compleja y su desarrollo es modulado por el medio ambiente que hace prevalecer sus condiciones. (69)

Además posee un medio de adhesión cuando contactan célula-célula, facilitando el intercambio plásmido entre las cepas donantes y receptoras, donde la sustancia de agregación desempeña un papel importante. De esta forma, el material genético, como los de la resistencia a antibióticos se puede transferir entre las cepas de *E. faecalis* a otras especies. (48)

El resultado de tales hallazgos puede contribuir enormemente a entender los mecanismos por los cuales una colonia de diferentes cepas microbianas puede

resistir el tratamiento químico-mecánico incluido en la terapia de conductos radiculares. (18)

La capacidad de los patógenos para formar biopelículas depende de los atributos de la superficie y pueden variar de acuerdo a las condiciones ambientales y nutricionales prevalecientes. (19, 69)

Cuando los *E. faecalis* crecen en condiciones de aerobiosis y en un ambiente rico en nutrientes, se evidenció la formación de una biopelícula amorfa irregular. El examen de biopelículas formadas bajo un ambiente aerobio y limitado de nutrientes, mostró señales de degradación de la superficie dentinal y calcificación de la biopelícula con células bacterianas viables adheridas a estas estructuras. Lo más destacado de estos resultados es la capacidad del *E. faecalis* de resistir largos períodos de inanición y la sugerencia de que la alteración en el microambiente del conducto radicular como sucede en el tratamiento endodóntico, puede estimular la calcificación de las biopelículas, lo que implica que la mineralización de la matriz brinda un refugio a los microorganismos viables. (70)

Hay muchos beneficios para el estilo de vida comunitario de la bacteria en una biopelícula, por ejemplo, las bacterias funcionando juntas en estas agregaciones son capaces de degradar nutrientes molecularmente complejos que no podrían ser eficientemente degradados por una bacteria individualmente. (71)

Algunas investigaciones han reportado la presencia de biopelículas (biofilms) de *E. faecalis* en el sistema de conductos de dientes monorradiculares extraídos y que habían sido obturados con cemento a base de Hidróxido de Calcio (43, 72). La formación de la biopelícula constituye una evidencia

contundente de que el *E. faecalis* puede colonizar los conductos radiculares medicados. (43, 70, 73, 74)

Si la formación de biopelículas que contienen *E. faecalis* ocurre in vivo, ello pudiera considerarse como un mecanismo que permite a este microorganismo resistir al tratamiento antimicrobiano (43).

2.3.2. PERIODONTITIS APICAL PERSISTENTE

La salida de las sustancias irritantes de los conductos radiculares infectados hacia los tejidos perirradiculares, inicia las lesiones perirradiculares y es causa de su persistencia. Los principales factores irritantes de estos tejidos se dividen en biológicos (diversos microorganismos y virus) y no biológicos (mecánicos, térmicos o químicos). (75, 76, 77)

Las enfermedades perirradiculares de origen pulpar se inician como una periodontitis apical que puede ser aguda o crónica. Si es aguda habrá dolor a la percusión de la pieza dentaria comprometida y la inflamación estará circunscrita a la región apical del ligamento periodontal. Si es crónica generalmente el paciente no refiere dolor, revelando incluso en las pruebas clínicas ausencia de sensibilidad a la percusión. Ambas patologías pueden ocasionar reabsorción del hueso alveolar, aunque con mayor prevalencia en la periodontitis apical crónica. (75, 76, 77, 78)

Cabe resaltar que la periodontitis apical crónica puede originarse también por el tratamiento inadecuado de los conductos radiculares y derivar en granuloma perirradicular que histológicamente consta de tejido inflamatorio de granulación con capilares pequeños y fibroblastos. Múltiples fibras de tejido conjuntivo que

reemplaza el ligamento periodontal. (76, 77) o quiste perirradicular que histológicamente es una cavidad central revestida de epitelio escamoso estratificado. La luz del quiste contiene un líquido pálido eosinófilo y en ocasiones algunos residuos celulares. (76, 77)

La periodontitis apical aguda puede evolucionar a un absceso apical agudo, así como también este puede aparecer como la agudización de un granuloma perirradicular o quiste perirradicular. (79)

El absceso apical agudo es un proceso inflamatorio-infeccioso en los tejidos perirradiculares de los dientes, que se acompaña de la formación de exudado dentro de la lesión. Una causa frecuente es una afluencia rápida de microorganismos o sus productos, desde el sistema de conductos radiculares. El paciente puede o no mostrar tumefacción que puede ser localizada o difusa. Al examen clínico se revela diversos grados de sensibilidad a la percusión y a la palpación. (75, 76, 77)

La diseminación de la respuesta inflamatoria hacia el hueso esponjoso ocasiona resorción ósea apical debido a la presión causada por la acumulación de exudado dentro de los tejidos limitantes, el dolor es intenso. Con mayor frecuencia la tumefacción permanece localizada, aunque puede tornarse difusa y diseminarse de forma amplia. (80)

El lugar del área de la tumefacción es determinado por la relación del ápice del diente afectado con las inserciones musculares. El proceso de supuración busca líneas de menor resistencia y con el tiempo perfora la placa cortical. Cuando llega a los tejidos blandos, la presión sobre el periostio se libera y por lo general se reducen los síntomas. (75, 76, 77)

Provocando a continuación la aparición de un absceso apical crónico donde ya se forma un trayecto fistuloso que drena en forma continua o intermitente. Esto se manifiesta como una estoma sobre la mucosa bucal o en ocasiones, sobre la piel de la cara. El exudado también puede drenar a través del surco gingival del diente afectado, imitando una lesión periodontal con “bolsa”. (76, 77, 78)

Las pruebas de vitalidad son negativas, debido a que la pulpa está necrosada. Al examen radiográfico revelará pérdida ósea a nivel del ápice del diente afectado. (75, 76, 77)

2.3.2.1. Evolución de la Periodontitis Apical Persistente

Muchos microorganismos que se encuentran en los conductos radiculares infectados pueden haber estado presentes originalmente en la pulpa necrótica y sobrevivir a los procedimientos de limpieza químico-mecánica. Estos pudiesen estar localizados en conductos no tratados, ramificaciones, túbulos dentinarios, irregularidades y áreas no instrumentadas del sistema de conductos radiculares. (81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88)

Las influencias ambientales que operan en los conductos radiculares durante el tratamiento permiten que ciertos microorganismos sobrevivan y dependiendo de diversos factores, induzcan al fracaso del mismo. (86)

Además es probable que el suministro de nutrientes a las bacterias ubicadas en las ramificaciones y deltas apicales se mantenga inalterado después del tratamiento endodóntico. Sin embargo, las bacterias presentes en los túbulos dentinarios e istmos pueden sufrir una drástica reducción del sustrato. En algunas regiones anatómicas, las bacterias quedan atrapadas por el material

de obturación y generalmente mueren o se evita que proliferen hacia los tejidos periapicales. (19, 76)

El sistema de conductos radiculares está en abierta comunicación con los tejidos periapicales (ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar) por las vías del foramen apical, conductos laterales y accesorios. Los metabolitos y productos tóxicos son producidos principalmente por las bacterias presentes dentro del sistema de conductos radiculares y se difunden a los tejidos periapicales desencadenando la respuesta inflamatoria (periodontitis apical), la cual se caracteriza por resorción del hueso alveolar. (27, 89)

Clínicamente los casos de periodontitis apical persistente pueden presentarse tanto asintomáticos como sintomáticos. Pinheiro et al. Analizaron la relación existente entre los microorganismos involucrados en esta patología y la sintomatología asociada. Estos autores apuntan que de un total de 60 casos, sólo cinco refirieron dolor agudo. El resto no manifestó dolor espontáneo, sin embargo, veinte de estos reseñó historia de dolor. (90)

Desde el punto de vista radiográfico, para diagnosticar esta patología, se debe estar en presencia de un diente tratado endodónticamente, cuyo material de obturación pueda ser evidenciado en el espacio de los conductos radiculares radiográficamente. Esta obturación puede ser aceptable o inaceptable, lo que indica que no es indispensable que el tratamiento se aprecie defectuoso para presentar una periodontitis apical persistente (19)

Las actividades biológicas de esta enfermedad pueden afectar ligamento periodontal, lámina dura, hueso esponjoso, hueso cortical y estructura radicular. (91, 92, 93, 94)

Los cambios en la mineralización y estructura del hueso adyacente al sitio de inflamación constituye la base de los procedimientos diagnósticos radiográficos para la detección y monitorización de la periodontitis apical crónica (19, 92, 93) El ligamento periodontal provee el espacio para el infiltrado celular inicial. Este sirve como punto de partida de los procesos resorptivos así como de punto final de los procesos de cicatrización. Un ligamento periodontal ensanchado está asociado con inflamación inicial o residual y aparece como signo de inflamación crónica (93), en ocasiones, asociado a un ligero exceso de material de obturación en casos de dientes endodónticamente tratados donde persiste la toxicidad o la colonización microbiana. (95)

La superficie radicular también puede ser afectada por resorción consecuente a la lesión al cemento. Esto puede ocasionarse tras periodontitis apicales de larga data, tanto en dientes tratados endodónticamente como no tratados. La forma del ápice radicular quedará permanentemente alterada. (93, 96)

La resorción ósea apical, identificada radiográficamente como una imagen radiolúcida, es una característica diagnóstica importante de la periodontitis apical. Las bacterias y sus productos son considerados el principal agente etiológico de la necrosis pulpar y las lesiones periapicales. (21, 23, 24, 97)

Sjögren *et al.* estudiaron el papel de los microorganismos persistentes en el resultado y pronóstico del tratamiento endodóntico no quirúrgico. Este trabajo reveló que el estado microbiológico del sistema de conductos radiculares al momento de la obturación es un factor crítico en la determinación del resultado del tratamiento. El porcentaje de éxito en casos de obturación con cultivos negativos fue de un 94%, lo que se consideró estadísticamente significativo en comparación con un 68% de éxito en casos con cultivos positivos. (88)

En los dientes tratados endodónticamente que no presentan lesión alguna al momento de la obturación, pero se desarrollan posterior al tratamiento, ésta se presenta generalmente después del primer año. (19, 93)

La cicatriz apical también puede desarrollarse después del tratamiento de conductos no quirúrgico así como después de la cirugía endodóntica, causando problemas en el diagnóstico de la periodontitis apical persistente. (93, 98)

En 1999, Nair *et al.* publicaron seis casos con diagnósticos presuntivos de periodontitis apical persistente, de los cuales, tras la evaluación histológica, fueron evidenciados dos de ellos como cicatriz apical. (98)

Las cicatrices apicales post-quirúrgicas, pueden disminuir en tamaño su apariencia y presentar una o más de las siguientes características: identificación de estructura ósea dentro de la rarefacción, la imagen puede ser irregular e inclusive estar rodeada por un borde de hueso compacto, la lesión puede estar localizada asimétricamente alrededor del ápice y la conexión de la lesión con respecto al ligamento periodontal puede ser angulada. (19, 93)

El tiempo de evaluación para la determinación de la cicatrización de la periodontitis apical crónica es definitivo ya que la cicatrización es un proceso dinámico. (99, 100)

Consecuentemente el resultado del tratamiento observado después de un período de tiempo corto, difiere del observado en períodos de tiempo más largos. (100, 101)

La evaluación a un año aporta información significativa. A los dos años de evaluación (99), período utilizado en la mayoría de los estudios, se reflejan los resultados del tratamiento endodóntico con suficiente precisión (19). Sin

embargo, se requieren entre 3-4 años para registrar un resultado estable del tratamiento. (99, 100, 102)

2.3.3. CAUSAS DE LOS FRACASOS ENDODÓNTICOS

La literatura sugiere que la infección persistente intrarradicular y la infección secundaria son las causas principales del fracaso endodóntico no dando mayor importancia a factores no microbiológicos, intrínsecos y extrínsecos. (26)

Problemas comunes que puede conducir al fracaso endodóntico son: el insuficiente control aséptico, la falta de un diseño apropiado del acceso endodóntico, falta de localización de conductos radiculares, la falta de instrumentación y la fuga temporal o permanente de cementos de obturación (96, 103)

Incluso cuando los más altos estándares y el más mínimo cuidado de los procedimientos se cumplen, las fallas siguen produciéndose, debido a la complejidad anatómica del sistema de conductos radiculares (96), donde existen regiones que no se puede debridar ni obturar con los instrumentos existentes, materiales y técnicas. (35)

Los microorganismos encontrados en la zona intrarradicular son agentes etiológicos esenciales de la periodontitis apical. (64, 96)

Cuando el tratamiento de conductos se realiza correctamente, la curación de la lesión periapical normalmente ocurre con la regeneración ósea, que se caracteriza por la reducción gradual de la radiolucidez en el área periapical evidenciada en las radiografías (88, 96, 100, 102, 104, 105, 106, 107, 108); sin

embargo, por diversas razones, una completa cicatrización del hueso o la reducción de la radiolucencia periapical no puede producirse. Estos casos post-tratamiento son comúnmente denominados “fracasos endodónticos”. (96)

Sólo unas pocas especies se han encontrado en el conducto radicular de los dientes que han sido objeto de adecuado tratamiento endodóntico pero que, sobre el seguimiento, puesto de manifiesto la persistencia, la lesión se evidenciará con una radiolucidez periapical de cuadro clínico asintomático. Las bacterias que se encuentran en estos casos son predominantemente cocos Gram-positivos, varillas y filamentos. (34, 90, 108, 109)

Cabe destacar que la persistencia de la infección microbiana en la porción apical del sistema de conductos radiculares es la causa principal de fracasos endodónticos en los casos tratados correctamente (110, 111, 112)

El tratamiento de la periodontitis apical, por lo tanto, tienen por objeto la erradicación bacteriana. Porque la limpieza y la configuración de los procedimientos por sí solos no son fiables para eliminar las bacterias (113, 20, 114), por tal razón es importante colocar un agente antibacteriano como medicación intraconducto después de la instrumentación biomecánica. (114)

Recientemente, la capacidad del hidróxido de calcio para erradicar por completo especies bacterianas dentro del sistema de conductos radiculares se ha cuestionado. Por ejemplo, algunos estudios refieren que la dentina puede inactivar la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio (63, 114, 115) y un estudio clínico (114, 116) demostró que el número de bacterias gram positivas aumentó después de su medicación por la eliminación eficiente de las bacterias gram negativas. (116, 117)

Hipotéticamente, de acuerdo con estos autores, las bacterias sobrevivientes en el momento de la obturación, estarían predestinadas a morir, llevando al éxito del tratamiento endodóntico debido a que el material obturador las confinaría al interior de los túbulos dentinarios, imposibilitando que alcancen los tejidos periapicales (88). Sin embargo, varios estudios demostraron que las bacterias localizadas en el interior de los túbulos dentinarios a nivel del tercio apical del conducto radicular, en casos de dientes con lesión periapical crónica, logran alcanzar los tejidos periapicales a través de los túbulos dentinarios y cementoblastos, siendo el cemento apical de naturaleza celular el que permita la difusión bacteriana. En los casos de retratamiento fueron encontradas bacterias en los conductos radiculares, en diversas cantidades y tipos diferentes. (118)

Considerando que las bacterias y sus productos no son frecuentemente alcanzados por la acción de la instrumentación biomecánica; específicamente aquellas localizadas en los túbulos dentinarios, ramificaciones apicales, áreas de reabsorción y las que forman parte del biofilm apical, el uso de un medicamento de acción prolongada antibacteriano es recomendado para la completa desinfección del sistema de conductos radiculares de dientes con lesión periapical crónica. (118, 119, 120, 121)

Así, el control de la infección antes de la obturación debe ser obligatorio, realizando el tratamiento endodóntico por lo menos en dos sesiones, colocando en el conducto radicular un medicamento de acción prolongada con la finalidad de combatir no solamente la infección remanente en el conducto radicular, sino principalmente, aquella situada profunda y difusamente en la estructura dental

interna, áreas inaccesibles a la instrumentación biomecánica y a los antibióticos administrados sistémicamente.(29, 118, 122, 123)

Frente a este hecho, los investigadores están en búsqueda de un producto que se difunda por todo el sistema de conductos radiculares, capaz de actuar a distancia, destruyendo los microorganismos aerobios y anaerobios o dejando el medio impropio para su desarrollo y que tenga propiedades de máxima biocompatibilidad. (118)

Aunque el hidróxido de calcio posee una potente acción antibacteriana, este material es efectivo solamente sobre los microorganismos anaerobios estrictos (118, 124, 125, 126, 127, 128) y poco eficaz contra aerobios facultativos (*E. faecalis*). (61, 118, 129, 130)

Cabe resaltar que en las infecciones primarias el *E. faecalis* se asocia con lesiones perirradiculares crónicas significativamente más a menudo que con abscesos perirradiculares agudos (45, 46) y que su frecuencia en la persistencia de las lesiones perirradiculares ha demostrado ser mucho mayor. (45, 46)

2.3.4. MEDICAMENTOS INTRACONDUCTO

Son agentes con acción farmacológica aplicados en el conducto radicular como coadyuvantes a la antisepsia del sistema de conductos radiculares. Estos incluyen a las sustancias irrigantes utilizadas durante la instrumentación y a los apósitos intraconducto. Sin embargo según Ørstavik el término medicamento intraconducto describe mejor a los apósitos intraconducto. (131)

El uso de un medicamento intraconducto se considera uno de los pasos más importantes de la terapia endodóntica para obtener y mantener la desinfección del sistema de conductos radiculares después de la instrumentación y antes de la obturación, incrementando significativamente las posibilidades de lograr un tratamiento endodóntico exitoso. (31, 132, 133)

Tiene como objetivo principal reducir el número de microorganismos, como parte de la asepsia controlada en conductos radiculares infectados y su rol es secundario a la limpieza y conformación del conducto radicular. En este sentido, se plantea que cuando la instrumentación biomecánica es combinada con la colocación de un medicamento por un período de tiempo apropiado antes de la obturación, las bacterias pueden ser eliminadas más efectivamente. La falta de una medicación intraconducto disminuye el porcentaje de éxitos en los dientes con conductos infectados. (31, 115, 124, 130, 134, 135, 136, 137)

Un medicamento intraconducto ideal debe cumplir con los siguientes requisitos (138):

- Destruir todos los microorganismos del conducto radicular
- Tener un efecto antimicrobiano duradero
- No ser afectado por el material orgánico.
- Ayudar a la remoción del tejido orgánico.
- Penetrar en el sistema de conductos radiculares y los túbulos dentinarios.
- No irritar los tejidos perirradiculares ni tener toxicidad sistémica.
- Tener propiedades inocuas.
- Inducir una barrera de calcificación en la unión con los tejidos perirradiculares.

- No tener efecto en las propiedades físicas del material de obturación temporal.
- No difundirse a través del material de obturación temporal.
- Fácil colocación y remoción.
- Ser radiopaco.
- No manchar el diente.

Se consideran dos tipos de funciones de los medicamentos intraconductos:

- Función principal: Antimicrobiana.
- Funciones secundarias:

Control del dolor y la inflamación.

Neutralizar el tejido debridado.

Control del exudado.

Formación de tejido óseo.

Control de la resorción radicular.

Controlar la filtración del material de obturación. (139)

La decisión de cuándo y qué usar como medicación intraconducto, depende del diagnóstico clínico y pronóstico a largo plazo. La medicación intraconducto puede estar indicada en el tratamiento de dientes infectados por: (75, 140)

1. Anatomía compleja, con múltiples zonas inaccesibles a la instrumentación y posiblemente, a la irrigación.
2. Periodontitis con reabsorción del ápice, con cráteres en donde anidan bacterias inaccesibles al tratamiento.
3. Casos de sobreinstrumentación.

4. Solución irrigadora irritante sobre el 1/3 apical.
5. Por razones de comportamiento ó psicológicas del paciente.

Según el mecanismo de acción los medicamentos intraconducto se dividen en dos grupos: (124, 131, 141, 142, 143)

Agentes poco específicos, no selectivos

Dentro de este grupo se encuentran los antisépticos y desinfectantes:

Fenoles: Fenol alcanforado, paramonoclorofenol alcanforado, paramonoclorofenol.

Aldehídos: Formocresol (formaldehído y cresol), glutaraldehído.

Halógenos: Cloro (Hipoclorito de sodio), yodo (yoduro de yodo- potasio).

Bisbiguanidas: Clorhexidina.

Hidróxido de calcio.

Agentes selectivos

Aquí se tiene al grupo de los antibióticos tales como: preparados de sulfas, penicilinas, nitroimidazoles, tetraciclinas, lincomicinas, macrólidos, quinolonas y combinaciones entre ellos. También se tienen en este grupo a las asociaciones antibiótico-corticoesteroide.

Antibacterianos naturales.

2.3.4.1. Clorhexidina

Es un antiséptico que pertenece al grupo de compuestos halogenados formado por dos guanidas unidas a un puente de metileno con seis carbonos, es activa

contra aerobios y anaerobios, bacterias Gram positivas y Gram negativas así como hongos principalmente *Candida albicans* (144), levaduras y virus. (5, 42, 144, 145, 146, 147, 148)

El gluconato de clorhexidina, actualmente utilizada, ha mostrado ser eficaz como agente antimicrobiano (149, 150, 151) presenta relativa ausencia de toxicidad (152) y actúa como agente bacteriostático o bactericida de acuerdo a la concentración en que sea utilizada. (60)

Tiene como ventajas: su relativa baja toxicidad en concentraciones hasta 2%, no provoca efectos colaterales al contrario del hipoclorito de sodio, posee substantividad, mayor penetración en los túbulos dentinarios, acción detergente y largo espectro antimicrobiano que hacen de ella una buena alternativa para la medicación intraconducto. El uso de la clorexidina todavía puede ser de fundamental importancia en casos de periodontitis apical persistente al tratamiento endodóntico. (42)

Cabe destacar que el gluconato de clorhexidina al 2% es capaz de eliminar la mayoría de las películas formadas por *E. faecalis* de 1 a 3 días (140, 153), permaneciendo con una actividad antimicrobiana residual hasta 168 horas después de la preparación biomecánica. (132, 154)

Con gluconato de clorhexidina al 2% de concentración en gel o líquido, es eficaz para reducir o eliminar completamente al *E. faecalis* de los conductos radiculares y túbulos dentinarios (46, 155, 156, 157), adaptándose mejor a las irregularidades de las paredes del conducto (158). Esto puede atribuirse a su propiedad de sustantividad (100, 154), que es dependiente de su concentración, dosis y pH. (159, 42)

La dentina del conducto radicular adquiere substantividad antimicrobiana después de la exposición al gluconato de clorexidina debido a sus propiedades catiónicas que permiten su adsorción a la hidroxiapatita (62). Esta parece ser la razón de tener función potencial como efectivo medicamento intraconducto (160, 161, 162). La adsorción del gluconato de clorexidina a dientes humanos es generalmente lenta, la interacción prolongada es necesaria para encontrar la saturación de la dentina con el medicamento (42, 155, 160, 161, 162, 163, 164)

2.3.4.2. Mecanismo de acción de la Clorhexidina

El mecanismo antimicrobiano de la clorhexidina se relaciona con su estructura molecular de bisbiguanida catiónica, su disociación dentro del sistema de conductos radiculares produce una molécula catiónica que se une a la membrana celular bacteriana cargada negativamente, causando alteración del equilibrio osmótico, daños a la bomba de sodio y potasio, bloqueo del transporte de calcio y magnesio, filtración de sus componentes intracelulares y muerte celular. En bajas concentraciones es bacteriostática. En altas concentraciones causará la coagulación y precipitación del citoplasma bacteriano, siendo bactericida. (132, 165, 166)

El gluconato de clorhexidina también se une a la hidroxiapatita y tejidos blandos. (42, 159, 160, 167, 168)

Algunos investigadores (42, 44) afirman que el aumento de la permeabilidad celular causada por la alta afinidad del gluconato de clorhexidina a cargas negativas de radicales orgánicos no parece ser el único mecanismo de

citotoxicidad, la síntesis de proteínas también es afectada en diferentes grados por el aumento de su concentración. (42)

2.3.5. ANTIBACTERIANOS NATURALES

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, se ha desplegado un gran interés de parte de los investigadores por estudiar sustancias naturales que poseen algunas propiedades farmacológicas con efecto antimicrobiano.

Se debe destacar que los fármacos a base de derivados de productos naturales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, de forma tal que en general no se acumulan en el organismo y sus efectos indeseables están limitados. (169)

El empleo de plantas como tratamiento de diversos males (Fitoterapia), se registra, desde tiempos muy remotos, basándose en creencias populares y conocimientos tradicionales, transmitidos de generación en generación. Hoy en día, muchas propiedades terapéuticas de diversas plantas han sido demostradas científicamente, en base a la extracción de sus principios activos, con diversas actividades biológicas. (170, 171, 172)

En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos derivados de las plantas (173), entre ellos los aceites esenciales que son denominados esencia

o aceite volátil, que le da un carácter aromático a la planta que lo contiene. Son constituyentes fitoquímicos con predominio volátil y odorífico, de composición química compleja. (14, 174, 175, 176)

2.3.5.1. MUÑA (*Minthostachys mollis*)

La muña es una planta arbustiva leñosa oriunda del Perú su nombre científico es *Minthostachys mollis* de la familia *Lamiaceae* (177, 178), constituida por 300 especies distribuidas en 200 géneros de plantas herbáceas como la menta, hierba buena, matitas como tomillo o arbustos como romero. (179)

Es una especie cuyo cultivo es muy difundido en las regiones andinas, especialmente en Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huancavelica y Puno, donde se la conoce como huayco, huaycho, coa, chancua, poleo o ismuña (55, 178), siendo muy empleada por las comunidades nativas y campesinados de Sudamérica. Además es conocida como peperina en Argentina y orégano en Colombia, encontrándose también en Venezuela, Brasil, Ecuador y Bolivia, habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, crece entre 2500 y 3500 m.s.n.m. (178), donde existe en abundancia, pudiendo ser hallada desde los 500 m.s.n.m. como una simple planta silvestre. (177)

Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: “Polco silvestre”, “coz”, “muña-muña”, “huycha”, “arash muña”, “kon” y “orcco-muña”. (180)

2.3.5.1.1. Características botánicas de la planta

La muña es una planta hemicriptófito que alcanza de 0,80 m. a 1,20 m. frondoso en la parte superior; erecto y pubescente, posee tallos semileñosos, con forma prismática, cuadrilátero y propenso a la lignificación, ostenta flores de colores violáceos, púrpuras ó blancas (177). Su fragancia, recuerda al penetrante olor de la menta. Durante el invierno desaparecen sus hojas para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera. (17)

Sus hojas son opuestas, con pecíolos de 0,5-1 cm. de largo y láminas de 1-5 por 1-3 cm., aovadas, agudas, con bordes enteros o irregularmente aserrados en la mitad superior, cubiertas de una pilosidad breve que se hace más intensa en la cara axial. (181, 182, 183)

Inflorescencias plurifloras más cortas que la hoja axilante. Tiene flores numerosas actinomorfas por verticilastro, pediceladas, dispuestas en cimas pedunculadas axilares, con brácteas foliosas, se encuentran reunidas en cortos racimos. Cáliz levemente cigomorfo con 5 dientes agudos, cara externa vellosa con numerosas glándulas esféricas y cara interna con carpostegio. Corola blanco-amarillenta, de 3-3,5 mm. de largo, levemente cigomorfa, pubescente en la cara interior y en el dorso de los labios. Androceo incluso y gineceo con estilo exerto y dos ramas estigmáticas desiguales, la inferior mayor que la superior. Fruto formado por 4 clusas elipsoides, pardas, finamente reticuladas. (181, 182, 183)

2.3.5.1.2. Composición química

Componentes principales del aceite esencial de la *Minthostachys mollis*

N° pico	Compuestos	Cantidad relativa (%)
1	p-cimoneno	15,42
2	γ-terpineno	16,58
3	Linalool	17,61
4	Acetato de octan-3-ilo	18,31
5	Mentona	19,20
6	Isomentona	19,46
7	Mentol	19,69
8	Pulegona	21,61
9	Trans-pulegol	21,91
10	Acetato de mentilo	22,86
11	Timol	22,97
12	Carvacrol	23,26
13	Trans-acetato de piperitilo	24,51
14	Acetato de timilo	24,62
15	Óxido de piperitenona	24,86
16	δ-elemeno	24,95
17	Acetato de carvacrilo	25,16
18	Acetato de geranilo	25,48
19	Trans-β-cariofileno	27,24
20	α-humuleno	28,06
21	Biciclosesquifelandreno	28,69
22	Biciclogermacreno	29,06

Fuente: (Kalembe y Kunicka, 2003) (184)

Chica *et al.* en el 2006 (185) encontraron 3 compuestos en proporciones significativas: carvacrol, acetato de carvacrilo y trans-β-cariofileno. De éstos, el carvacrol ha sido muy estudiado por su potencial actividad antimicrobiana y antifúngica frente a distintos microorganismos. La inhibición del crecimiento de

muchos patógenos por el carvacrol, ha sido reportada en varios artículos. Asimismo los componentes puros tales como timol, mentol, geraniol, limoneno, pinenos y 1-8-cineol presentaron una marcada actividad antibacteriana y antimicótica según estudios realizados.

2.3.5.1.3. Propiedades y usos

Su alto contenido alimenticio y a la vez condimento ha equilibrado durante milenios la dieta peruana, en chupes y guisos en la culinaria peruana, por su alto valor proteico. Además es un excelente aromatizador, imprescindible en la cocina andina donde la sopa serrana, un chupe de tubérculos andinos (papas, ollucos y ocas principalmente) con muña, es un regalo para el paladar más exquisito. (178) Se sabe que es una especie de múltiples aplicaciones, muchas de las cuales permanecen aún en el misterio. Los médicos de una sociedad ágrafa como la Inca, los galenos amautas, se las llevaron por lo visto consigo. (177)

Sus poderosas propiedades bactericidas (17, 80, 186), han sido útiles, durante milenios, para conservar nuestro tubérculo bandera, la papa contra las plagas en la germinación de sus semillas y también, durante su almacenamiento porque tiene un fuerte efecto repelente sobre los "gusanos de tierra" que devoran los tubérculos, tallos, hojas y es antimoho; de igual manera protege al maíz, col y cebolla. (177)

En algunos lugares de Colombia la emplean como repelente contra las pulgas y podría igualmente utilizarse para el control del gorgojo del frijol. (185)

Su aceite esencial se utiliza contra la gusanera de las papas y del maíz, para combatir piojos y pulgas, la babosa, en los cultivos de hortalizas, los piojos del repollo y en el campo pecuario es utilizado para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos y ganado, además para curar sarna en equinos y camélidos. (179)

Es recomendable también para la fumigación de insectos molestos como zancudos y moscas. (178)

La medicina popular no podía dejar de beneficiarse con tantas virtudes curativas y alimenticias. Así, su empleo como infusión o mate (hojas y flores) es imprescindible para aliviar malestares estomacales, flatulencias, afecciones diarreicas, vómitos y afecciones reumáticas, además posee propiedades sedantes y hemostáticas (170, 177, 187)

En casos de soroche o mal de altura ayuda a liberar los bronquios y disipar el mareo. (178)

Estimula la prevención de la mayoría de problemas respiratorios y ayuda a descongestionar las vías respiratorias (164), es excelente contra la halitosis (188) y para combatir jaquecas (179).

Tiene propiedades carminativas por lo que es aconsejable contra las flatulencias que padecen especialmente los niños y bebés, aunque su uso es para todas las edades. Asimismo ayuda a eliminar los parásitos intestinales. (178)

Hieronymus en su obra *Plantae diaphoricae florum argentinæ* (1882) menciona su empleo con éxito contra el cólera, por parte de los serranos de Córdoba. También se emplea como saborizante y aromatizante en la elaboración de licores y bebidas amargas (189)

Los hueseros logran recuperaciones asombrosas aplicando su aceite esencial en luxaciones y frotaciones antirreumáticas, en las enfermedades crónicas del aparato respiratorio. (177)

En recientes investigaciones efectuadas por laboratorios de Austria y Suiza se ha descubierto que su composición química favorece la curación de innumerable afecciones a los ojos, tales como la catarata, degeneración macular, la miopía. Y favorece la agudeza en la visión. (177)

Los indígenas del Perú la emplearon como resolutiva de tumores y sus hojas mezcladas con chilca eran recomendadas en fracturas de huesos. (189)

Es así como las hojas de muña contribuyen en la curación de fracturas, luxaciones y tumores ocasionados por golpes. (178),

Quizás uno de sus usos menos conocidos, es la fabricación de la pólvora llamada Q'oa Muña; elaborada a partir de sus tallos leñosos cargados con su resina. Esta pólvora del ande es utilizada en algunas comunidades de Ayacucho en los fuegos artificiales durante las fiestas patronales. (177)

2.3.5.1.4. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de los aceites esenciales no se conoce en toda su extensión. Se sabe que protegen a las plantas contra los agentes externos y que en general tienen una elevada capacidad antioxidante. Observaciones realizadas al microscopio electrónico han mostrado una rotura de la membrana celular de los microorganismos sensibles a su acción, aunque se desconocen de momento los procesos que la provocan.

La actividad de estos productos sobre el desarrollo de los microorganismos se puede clasificar en dos apartados:

- Actividad antifúngica: control del crecimiento de los hongos filamentosos y levaduras.
- Actividad antibacteriana: control del desarrollo de bacterias. En general, las dosis precisas para el control antibacteriano son más elevadas que para el control antifúngico.

Se ha reportado que las bacterias Gram negativas son menos resistentes a la acción de los aceites que las Gram positivas como resultado de las cadenas alifáticas como sustituyentes en los anillos fenólicos de los componentes del aceite (185). Asimismo, este efecto está asociado con aceites esenciales que contengan carvacrol y timol los cuales tienen mayor rendimiento antibacterial. (1, 190, 191)

Se ha reportado en literatura que los compuestos químicos encontrados en el aceite esencial de la esta planta tales como los fenoles isoméricos: carvacrol y el timol pueden tener características antimicrobianas similares, el bajo pH de estas moléculas y su naturaleza hidrofóbica posiblemente conducen a una mejor unión a las áreas hidrofóbicas de las proteínas (192) y la bicapa lipídica de la membrana citoplasmática bacteriana que causan la pérdida de su integridad, salida del material celular tal como iones, Adenosin Trifosfato (ATP) y ácidos nucleicos. (193)

2.3.5.2. ORÉGANO (*Origanum vulgare*)

Origanum vulgare (Labiata) “orégano” es una planta originaria de la región mediterránea de Europa. Su cultivo es muy difundido en Grecia, Italia, España, Turquía, Francia, Albania, Yugoslavia y Marruecos. En América, los principales productores son: México, Brasil, Chile y Costa Rica. En el Perú, los centros de mayor producción se encuentran en el departamento de Tacna con 1 091 ha., seguido por Moquegua con 328 ha. y Arequipa con 286 ha. En el departamento de Arequipa, existe un crecimiento considerable de áreas agrícolas destinadas a este cultivo, siendo las provincias de mayor producción Caylloma con 194 ha.; y Arequipa (Chiguata y Quiscos) con 92 ha. En el departamento de Moquegua, las principales zonas productoras se encuentran en los distritos de Carumas con 98 ha., Cuchumbaya con 76 ha., San Cristóbal con 53 ha., Torata con 37 ha. y Puquina con 36 ha. (194). Las hojas y sumidades floridas se aplican en el campo farmacéutico debido a las propiedades tónicas, amargoexcitantes, antisépticas, diuréticas y antiespasmódicas. Sobre el poder antiséptico de los aceites esenciales de plantas pertenecientes especialmente a las familias Labiadas hay amplia información. Todas contienen un compuesto o principio activo propio pero varios compuestos son comunes a numerosas especies. Las plantas de uso tradicional ofrecen posibilidades para la búsqueda de principios bioactivos o Etnomedicina siendo una alternativa de uso de antisépticos estándar. (122)

2.3.5.2.1. Etimología

El nombre del género *Origanum* proviene de los vocablos griegos *oros*, que significa montaña y *ganos*, alegría, en referencia al bello aspecto que esta planta le da a las regiones donde crece.

Nombres comunes en algunos países o idiomas:

Español: orégano de España, fluriéngano, mejorana bastarda, mejorana silvestre.

Inglés: common marjoran. Wild marjoran, oregano. (195)

2.3.5.2.2. Descripción de la planta

Planta herbácea. Los tallos son erectos, de unos 90 cm o más, generalmente ramificados. Las hojas son ovaladas. Sus flores están dispuestas en espiga de verticilastros. El cáliz, punteado de glándulas amarillas, con 5 dientes iguales, es piloso. La corola de 4-7 mm, es bilabiada, con el labio superior entero o escotado y el inferior trilobulado, blanco o rojo-púrpura. Florece desde julio hasta septiembre. (196)

2.3.5.2.3. Ecología y corología

Caméfita que vive en lugares secos y montañosos formando pequeñas matas aisladas, suele aparecer en bordes de caminos, bosques poco densos y sus linderos, hasta los 2,000 m de altitud. Tiene preferencia por los suelos calizos, es raro encontrarla en terrenos silíceos. (197)

2.3.5.2.4. Cultivo

El orégano se cultiva con fines comerciales en gran parte del mundo pero, la mayor parte de la planta destinada al consumo, procede de plantas silvestres recolectadas en la región mediterránea y especialmente, en el sur de Italia. El cultivo suele durar de 6 a 8 años, aunque a partir del primer año su rendimiento disminuye. Se multiplica por semillas que germinan fácilmente. La siembra debe hacerse en semillero, previamente abonado, hacia finales de febrero. Se trasplantará al terreno de asiento hacia finales de marzo. (198)

2.3.5.2.5. Características

Características morfológicas

El cáliz tubuloso es de color violáceo. La corola es bilabiada de color rosa o púrpura, con el tubo más largo que el cáliz, el labio superior es escotado y el inferior trilobulado. Las brácteas son alargadas, ovaladas, herbáceas, de color rojo-violáceo en la superficie externa y más claras en la interna, con los nervios prominentes en la superficie externa. Las hojas, de color verde, el tallo es cuadrangular, de color verde amarillento, con áreas rojizas pilosas. (199)

Características organolépticas

Olor aromático. Sabor un poco amargo. (200)

2.3.5.2.6. Composición química

Contiene aceite esencial, cuya composición puede variar según su procedencia. Generalmente contiene fenoles (timol y carvacrol); hidrocarburos monoterpénicos (limoneno, a y b-pineno, pcimeno); sesquiterpénicos (b-cariofileno y bbisaboleno); linalol y terpinen-4-ol. El orégano procedente del centro de Europa, produce un aceite esencial pobre, o incluso privado de fenoles. También podemos encontrar ácidos fenólicos (cafeico, rosmarínico y clorogénico), taninos, principios amargos, flavonoides (luteolol, kaempferol, diosmetol y derivados del apigenol), triterpenos derivados de los ácidos ursólico y oleánolico. (201, 202)

Se conoce que los componentes activos de plantas, hierbas y especias son compuestos fenólicos. Estos compuestos son probablemente los componentes antimicrobianos mayoritarios presentes en aceites esenciales de las especias. (202)

Algunos aceites esenciales contienen hasta el 85% de componente antimicrobiano mientras que otros componentes pueden estar presentes solo en trazas. El orégano tiene un 80% de carvacrol y 64% de timol, por lo que se determina que tiene más alta cantidad de componente antimicrobiano que el cilantro, canela, romero, clavo y tomillo. (203)

2.3.5.2.7. Acción farmacológica

Se considera espasmolítica, digestiva, carminativa, aperitiva, colerética, expectorante, antiséptica de las vías respiratorias, diurética, tónica. En uso externo es cicatrizante, analgésica, antiséptica y antifúngica. Se reconoce las

propiedades antisépticas de las vías respiratorias, expectorantes, béquicas, carminativas, digestivas, aperitivas, coleréticas, espasmolíticas, diuréticas, antirreumáticas, sedantes y diaforéticas, aunque deja claro que estas acciones no están comprobadas y se incluye en la lista negativa. (201)

El aceite de orégano es un antiséptico excepcional y tiene propiedades caloríficas, secantes, y aromáticas. Se utiliza con frecuencia como un antibiótico con un amplio espectro antibacteriano, asimismo tiene propiedades antivirales y antimicóticas de alta potencia que no se encuentran en los antibióticos estándar. Se toma contra resfriados y gripes, candidiasis, hongos patógenos microscópicos, dolores musculares incluyendo artritis y fibromialgia, prácticamente todos los microbios nocivos incluyendo ántrax y parásitos de todas clases, aun la espiroqueta de la enfermedad de Lyme (producida por bacterias que son huéspedes de la garrapata). Para los padecimientos de los pulmones como por ejemplo asma, tos ferina, pulmonía y tuberculosis, se puede tomar el aceite oralmente y se puede absorber a través del método de vapor. Para las enfermedades externas (Acné, verrugas, soriasis, tiña, caspa, picaduras de abeja y piquetes venenosos), infecciones de dientes y de encías (se frota con los dedos) y para el pie de atleta, se puede aplicar el aceite tópicamente así como también se puede tomar por vía oral. (204)

2.3.5.2.8. Indicaciones

Espasmos gastrointestinales, flatulencia, inapetencia, dispepsias hiposecretoras, diarreas; afecciones de las vías respiratorias como faringitis, bronquitis, traqueítis, toses espasmódicas, asma, enfisema; disquinesias hepatobiliares, colecistitis; amenorreas, dismenorreas. En uso externo está

indicado en inflamaciones osteoarticulares, heridas, úlceras, dermatomicosis, otitis, sinusitis, odontalgias. Su aceite esencial es utilizado en cosmética por su acción antioxidante. (199, 201)

Se indica en infecciones y trastornos de las vías respiratorias y de las vías urinarias, en problemas gastrointestinales y menstruaciones dolorosas. Advierte que su efectividad no está demostrada. (202)

2.3.5.3. MECANISMO DE ACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Los mecanismos de acción de los diversos compuestos orgánicos de las plantas son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles se atribuye a la oxidación de compuestos, los terpenos están involucrados en el rompimiento de la membrana, a través de los compuestos lipofílicos; los alcaloides se intercalan en la doble cadena del ADN, mientras que las lectinas y polipéptidos pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la exclusión competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero.

Se puede decir que el principal mecanismo de acción antibacteriano es la disrupción de la membrana celular bacteriana, mediante tres posibles vías: Aumentando su permeabilidad a pequeños iones, afectando la estabilidad estructural y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, produciendo la muerte del *Streptococcus mutans*. (205)

Además, los aceites esenciales al permeabilizar la membrana celular conduce a la pérdida de iones, al colapso de la bomba de protones y a la disminución del ATP lo cual inevitablemente conduce a la muerte celular; también se ha

encontrado que a nivel citoplasmático puede actuar sobre lípidos y proteínas coagulando dichas moléculas (206).

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

La CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) presentan mayor efecto inhibitor frente a cepas de *Enterococcus faecalis* en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar.

2.4.2. Hipótesis específicas

Primera Etapa:

1. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* es al 10%
2. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* es al 30%

Segunda Etapa:

3. La medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuye al cabo de 24 y 48 horas.

4. El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuye al cabo de 24 y 48 horas.
5. La medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuye al cabo de 24 y 48 horas.
6. El efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuye al cabo de 24 y 48 horas.
7. El efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuye al cabo de 24 y 48 horas.
8. La medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas es nula.
9. La medida del halo de inhibición formado por el Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* se mantiene al cabo de 24 y 48 horas.
10. La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* se mantiene al cabo de 24 y 48 horas.
11. El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) es mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.

12. El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) es mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas.
13. El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al cabo de 24 y 48 horas es mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

2.5. Operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	TIPO	INDICADOR	ESCALA	VALORES
Sustancia antimicrobiana	Categoría. Cualitativa nominal. Independiente	Identificación organoléptica de las sustancias	Nominal	CMI de aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña)
				CMI de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)
				Aceite esencial de muña al 100%

				Aceites esencial de orégano al 100%
				Hipoclorito de sodio al 5%
				Hidróxido de calcio (Calcifar-P®)
				Clorhexidina 2% (gel)
				Clorhexidina 2% (solución)
Efecto inhibidor	Numérica. Cuantitativa. Dependiente	Diámetro del halo de inhibición	Razón	6,1 a 30 mm
Tiempo de exposición	Categoría Cualitativa ordinal. Interviniente	Tiempo de acción antimicrobiana	Ordinal	24 horas 48 horas

2.6. Definición de términos básicos

- Efecto inhibidor: Es el impedimento del crecimiento o destrucción (muerte) de bacterias por la actividad de un agente antibacteriano natural o sintético. Su mecanismo de acción depende de la sustancia antibacteriana; puede ser por aumento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática alterando los procesos esenciales de la célula bacteriana y finalmente provoca su muerte o aprovechando la estructura o función bioquímica entre el huésped

y las bacterias, causando por mecanismos específicos la muerte o inhibición del crecimiento de la bacteria. Para evaluar in vitro el efecto inhibitor se empleará el método de difusión en agar por pozos.

- Sustancia antimicrobiana: son elementos químicos que se utilizan en endodoncia para la antisepsia del sistema de conductos radiculares.
- Aceite esencial: También denominada esencia. Producto de las plantas que comunican a los órganos que las contienen, olor agradable. Químicamente son mezclas complejas de sustancias volátiles, generalmente líquidas, que pueden extraerse por destilación, por arrastre o por vapor de agua. Tienen propiedades como: Antisépticos, digestivos, antiespasmódicos y sedantes.
- Inhibición bacteriana: Se manifiesta con la formación del halo de inhibición bacteriano alrededor de pozos que contienen sustancias antibacterianas en un agar con cultivos microbiológicos en placas petri.
- Cepa bacteriana: Todos los organismos descendientes de un cultivo puro, por tanto, con fenotipo y genotipo definidos.
- Bacterias anaerobias facultativas: Bacterias que se caracterizan por una peculiar versatilidad en el aspecto respiratorio, pues se desarrollan tanto en presencia como en ausencia de oxígeno atmosférico.
- Sistema de Conductos Radiculares: Según la topografía interna de las piezas dentarias, a nivel de la raíz encontramos no sólo uno o dos conductos, de acuerdo a lo afirmado por Hess, Meyer y Robertson, sino que el conducto puede dividirse en numerosos conductos laterales y accesorios (ramificaciones). Por lo tanto, el concepto de "sistema de conductos radiculares", describe mejor esta realidad anatómica.

- Factores de virulencia: Primeramente se explica virulencia como el grado de patogenicidad, que es la capacidad de un microorganismo de producir daño. Por lo tanto, los factores de virulencia bacterianos son las “armas de ataque” que ayudan a la bacteria a invadir al huésped, causar enfermedad, evadir las defensas del huésped, un ejemplo es la presencia de cápsula en la bacteria.
- Bacteria planctónica: Es la forma o estado en que viven las bacterias en la naturaleza que se caracteriza por su libre flotación.
- Concentración Mínima Inhibitoria: Es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.
- Potencial óxido reducción: También denominado Potencial Redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular, por ejemplo: los microorganismos aerobios requieren valores Redox positivos y los anaerobios negativos. Cada tipo de microorganismo solo puede vivir en un estrecho rango de valores Redox.
- Cicatriz apical: Es un tejido cicatrizal en el lugar de formación de hueso, formado a partir de un tejido conectivo fibroso, con gruesos haces de colágeno y fibrocitos fusiformes.
- Caméfito: Es una subdivisión principal de los biotipos de plantas terrestres, que es su proceso de adaptación o convergencia al clima y ambientes diversos, desarrollan una serie de caracteres externos, morfológicos y estructurales. Estos caracteres externos predominantes forman categorías

que son esenciales para el conocimiento de las formaciones y comunidades vegetales de la tierra, son los llamados biotipos. Dentro del sistema de Raunkiaer el biotipo Caméfita es la planta herbácea o leñosa vivaz cuya yemas de reemplazo se encuentran en vástagos por debajo de los 50 cm. de altura, pudiendo variar hasta 20 cm. en climas fríos y un metro en los cálidos. Cabe resaltar que sus yemas muchas veces quedan protegidas por la cubierta nival.

- Adsorción: Es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas de gases, líquidos o sólidos disueltos son atrapados o retenidos en una superficie.
- Hemicriptófita: Proviene del griego que literalmente significa “planta medio escondida”. Son plantas cuyas yemas o brotes apenas asoman sobre el suelo en la época desfavorable y en las que la mayor parte del volumen de cada individuo se encuentra bajo tierra.
- Béquico: Propiedad de una sustancia o planta medicinal que sirve para mitigar la tos.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de la investigación

El tipo de investigación fue experimental, prospectivo, longitudinal y analítico.

El nivel de investigación fue explicativo.

3.2. Diseño de la investigación

El diseño fue experimental porque se controlaron las variables en un ambiente de laboratorio con participación directa del investigador.

3.3. Población y muestra

3.3.1 Población: Bacterias propias de periodontitis apical persistente.

3.3.2 Muestra: Cepas de *Enterococcus faecalis* empleadas para evaluar el efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) en 56 placas Petri para que exista validez estadística.

Cabe resaltar que las sustancias antimicrobianas a comparar también fueron colocadas en las mismas 56 placas Petri según se explica en técnicas e instrumentos de recolección de datos.

3.3.3 Método de selección: Muestreo no probabilístico. Intencional.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

A. Adquisición de los aceites esenciales

Los aceites esenciales de orégano y muña fueron comprados en la empresa Essential Oils Peru de la Bióloga Georgette Callirgos, quien certificó la pureza de los mismos. (Ver anexo N° 1)

Cada frasco contenían 10 ml de aceite esencial conservados de acuerdo a un protocolo de conservación de la misma empresa. (Ver anexo N° 2)

B. Reactivación de la cepa bacteriana

El medio caldo tioglicolato de sodio se utilizó para la reactivación de los *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

La cepa fue reactivada incubándola en el caldo tioglicolato de sodio por 24 horas a 37°C estableciéndose su viabilidad por la turbidez del caldo, luego fue sembrada en agar sangre por 24 horas a 37°C para la identificación mediante las características macroscópicas y la tinción Gram que verificaron la pureza de las cepas. (Ver anexo N° 3)

C. Concentración Mínima Inhibitoria

Se prepara el agar Muller Hinton y se vierte en las 10 placas petri de 100 mm. x 15 mm. hasta un espesor de 4 mm. se dividen las zonas de los pozos rotulándose con las iniciales de las sustancias que serán colocadas; adicionalmente se colocan 2 placas petri más en la estufa a 37°C. por 24 horas. Este procedimiento se realizó para cada aceite esencial, probando diferentes concentraciones, primero mayores y luego, una vez hallado el intervalo menor,

se probaron concentraciones mínimas también en otras 10 placas Petri por cada aceite esencial, hallando la concentración mínima inhibitoria (CMI) (Ver anexo N° 3)

D. Preparación de los medios de cultivo

Luego de hallar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada aceite esencial, se preparó nuevamente el medio de cultivo Mueller Hinton según las instrucciones del fabricante repartiéndose en 56 placas petri (100mm x 15mm) a razón de un espesor de 4 mm. por placa.

Se dejaron solidificar a temperatura de medio ambiente por 15 minutos, se rotularon las placas en la parte posterior con el nombre de la sustancia a investigar (aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, muña al 10%, hipoclorito de sodio, hidróxido de calcio (Calcifar-P), aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de orégano al 30%, clorhexidina al 2% gel y solución, tween 20. Se realizó el control de esterilidad incubando el material a 37°C por 24 horas. (Ver anexo N° 3)

E. Prueba de Sensibilidad

Método de difusión en agar por pozos

Para el ensayo microbiológico se utilizó un método modificado de Kirby- Bauer, que se fundamenta en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido, que se evidencia posteriormente por la formación de halos claros. (189, 211)

Para lo cual se hicieron pozos en el agar mediante perforaciones de 6 mm. de diámetro utilizando sacabocados estandarizados para agar. Se hicieron pozos en cada placa petri, sembrándose 100 ul. de suspensión bacteriana y luego se colocaron el aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) al 100%, aceite esencial de muña al 10% (CMI), aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) al 100%, aceite esencial de orégano al 30% (CMI), hipoclorito de sodio al 5%, gluconato de clorhexidina al 2%, Calcifar - P® y Tween 20 como control, la cual no formó halo de inhibición en ninguna de las placas petri, manteniéndose como constante en 0 mm. garantizando la siembra bacteriana y la formación de halos de inhibición por cada sustancia antimicrobiana. (Ver anexo N° 3)

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 (1×10^6 - 5×10^6 UFC/ml) equivalente al tubo N° 0,5 en la escala de Mac Farland. Luego se procedió a tomar 100 ul. de cada suspensión bacteriana y sembrar en placas petri conteniendo agar Mueller Hinton mediante hisopado uniforme y en todas direcciones girando la placa. (Ver anexo N° 3)

Inoculación del principio activo

En cada pozo se colocó 100 ul. de las soluciones a comparar mediante una micropipeta.

Las placas se incubaron a 37°C incluyéndose dos placas controles para comprobar la viabilidad de las bacterias y la esterilidad del medio, después de las cuales se realizó la medición de los halos de inhibición con un calibrador vernier o regla pie de rey a las 24 y 48 horas. (Ver anexo N° 3)

Las medidas de los diámetros formados por los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos, tanto en la primera etapa como en la segunda etapa del experimento. (Ver anexo N° 4)

Al final del trabajo en laboratorio, se eliminaron las placas Petri, sustancias y elementos biológicos según las normas de eliminación de residuos comunes y especiales de los laboratorios de la Universidad Privada Norbert Wiener. (Ver anexo N° 5)

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los halos de inhibición de cada sustancia se midieron a las 24 horas y se halló un promedio para comparar la efectividad antimicrobiana de cada una, lo mismo se hizo a las 48 horas.

A continuación se comparó cada promedio encontrados para saber su eficiencia en el tiempo.

Los datos fueron procesados en una computadora Pentium Core I5, mediante el programa SPSS. La presentación de resultados se realizó mediante cuadros y gráficos. Las pruebas estadísticas de significancia realizadas fueron la T de student, el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey utilizando un nivel de significancia $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos: Resultados

Tabla N° 1: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

N°	Muña 5,5%	Muña 10%	Muña 10,5%	Muña 15%	Muña 15,5%	Muña 20%	Muña 20,5%
1	6	6,46	6,51	6,58	6,62	6,63	6,63
2	6	6,48	6,5	6,61	6,64	6,64	6,65
3	6	6,5	6,53	6,64	6,66	6,67	6,67

1.- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* fue al 10%.

Tabla N° 2: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

N°	Orégano 25,5%	Orégano 30%	Orégano 30,5%	Orégano 35%	Orégano 35,5%	Orégano 40%	Orégano 40,5%	Orégano 45%	Orégano 45,5%
1	6	6,46	6,47	6,51	6,53	6,55	6,58	6,61	6,63
2	6	6,43	6,45	6,53	6,53	6,56	6,57	6,6	6,64
3	6	6,47	6,47	6,54	6,54	6,56	6,58	6,58	6,63

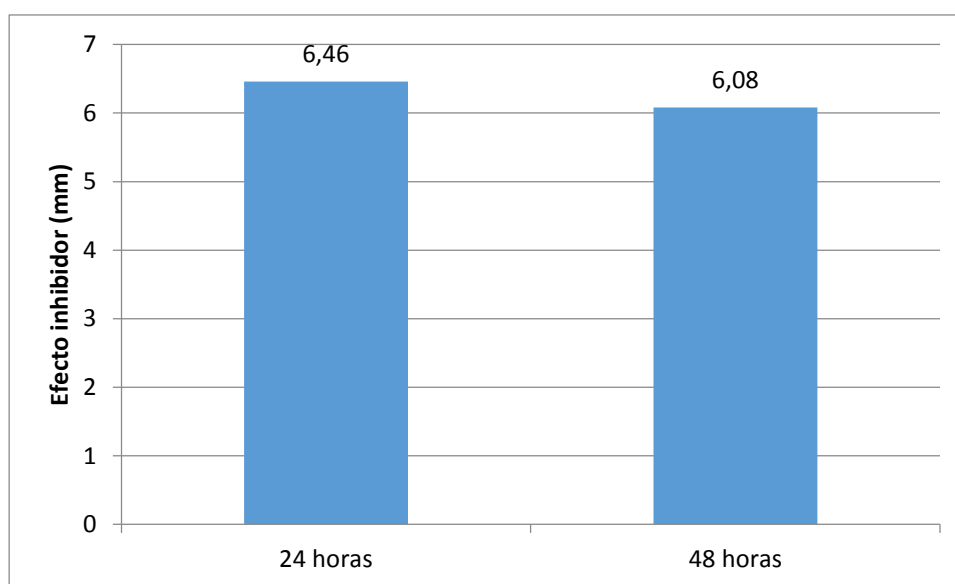
2.- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* fue al 30%.

Tabla N° 3: Medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	6,46	1,27	2,06	0,04*
48 horas	56	6,08	0,50		

*p<0,05 existe diferencia significativa

Gráfico N° 3: Medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



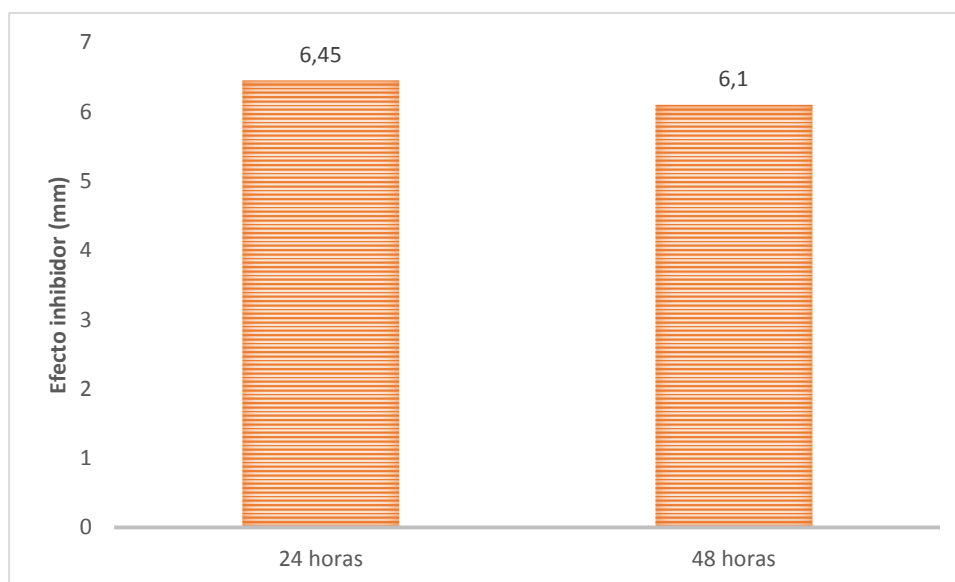
3.- La medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue de 6,46 mm. \pm 1,27 mm. y a las 48 horas de 6,08 mm. \pm 0,5 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa (p<0,05).

Tabla N° 4: Efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	6,45	0,98	2,56	0,01*
48 horas	56	6,10	0,36		

* $p < 0,05$ existe diferencia significativa

Gráfico N° 4: Efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



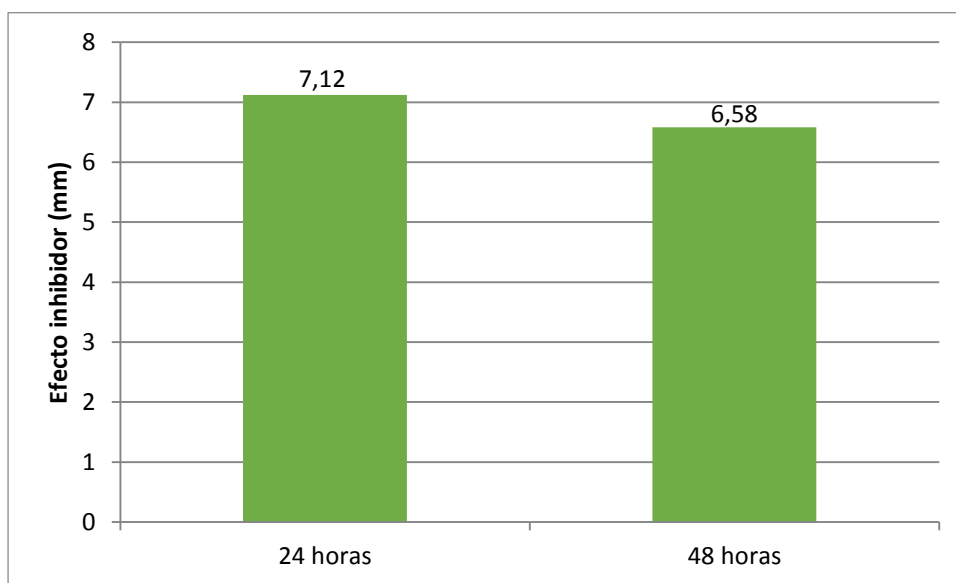
4.- El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue de 6,45 mm. \pm 0,98 mm. y a las 48 horas fue 6,10 mm. \pm 0,36 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabla N° 5: Medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	7,12	0,98	2,63	0,01*
48 horas	56	6,58	1,18		

* $p < 0,05$ existe diferencia significativa

Gráfico N° 5: Medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



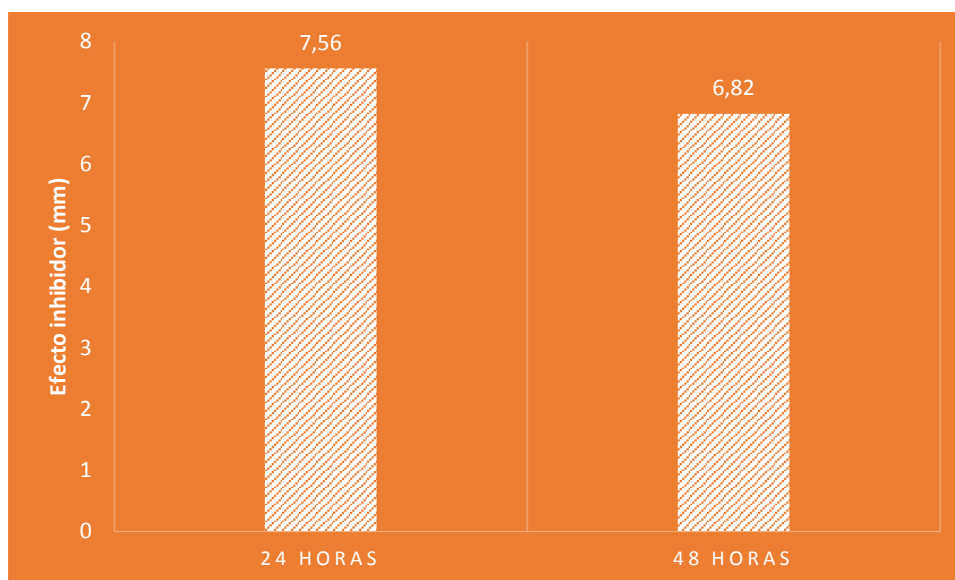
5.- La medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue 7,12 mm. \pm 0,98 mm. y a las 48 horas fue 6,58 mm. \pm 1,18 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabla N° 6: Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	7,56	1,50	2,01	0,04*
48 horas	56	6,82	2,21		

* $p < 0,05$ existe diferencia significativa

Gráfico N° 6: Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



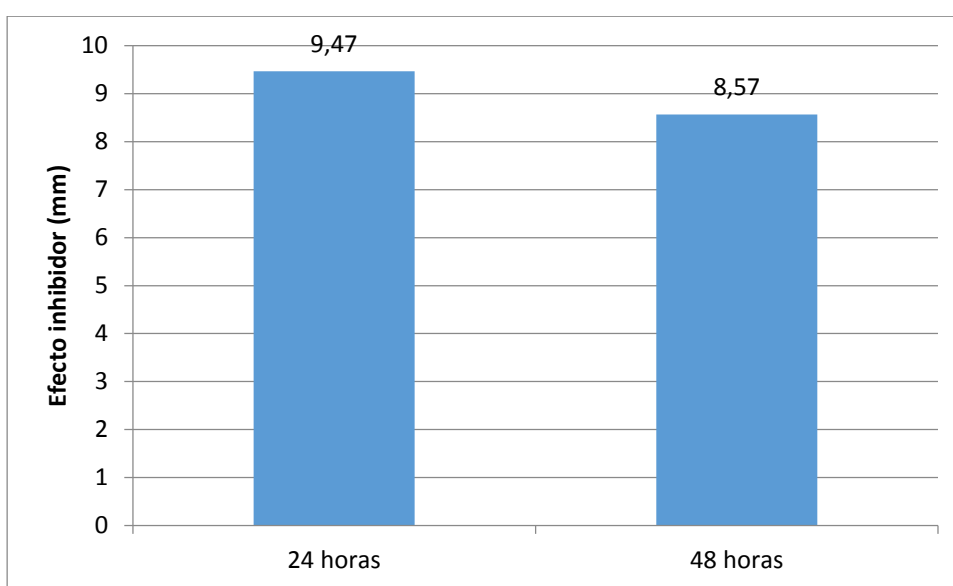
6.- El efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue de 7,56 mm. \pm 1,5 mm. y a las 48 horas fue 6,82 mm. \pm 2,21 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabla N° 7: Efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	9,47	1,63	2,85	0,04*
48 horas	56	8,57	1,69		

* $p < 0,05$ existe diferencia significativa

Gráfico N° 7: Efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



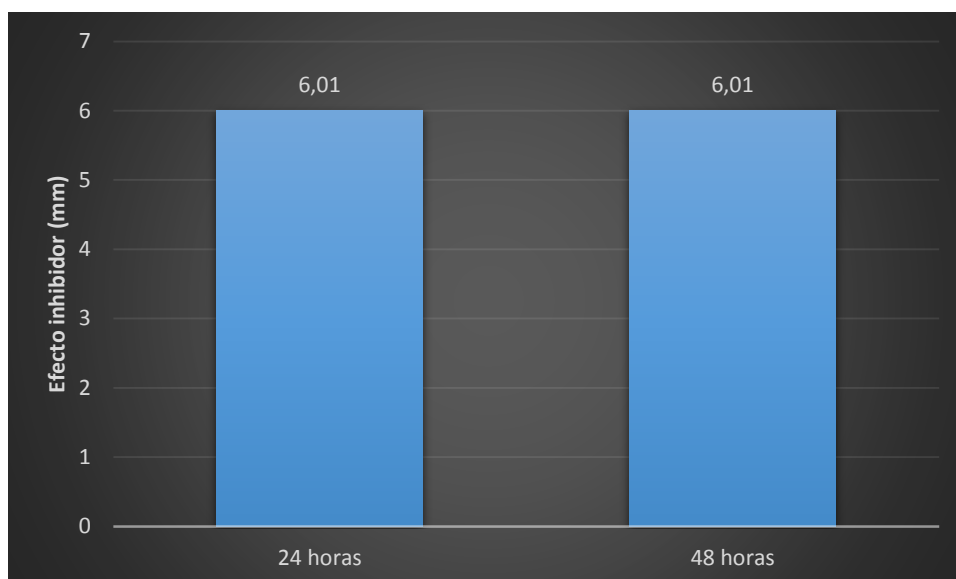
7.- El efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue 9,47 mm. \pm 1,63 mm. y a las 48 horas fue 8,57 mm. \pm 1,69 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Tabla N° 8: Medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Tiempo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	6,01	0,11	0,38	0,70*
48 horas	56	6,01	0,06		

* $p > 0,05$ no existe diferencia significativa

Gráfico N° 8: Medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



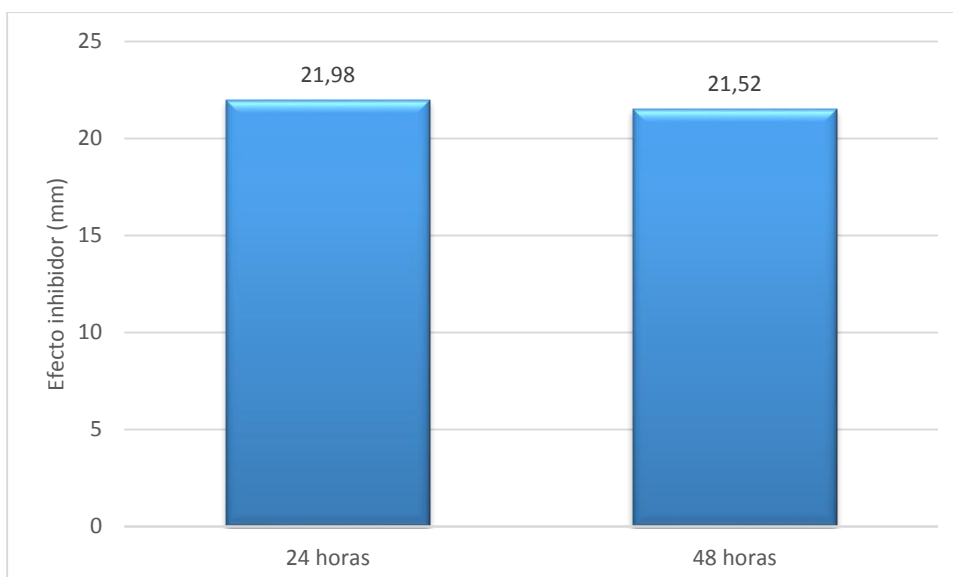
8.- La medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue 6,01 mm. \pm 0,11 mm. y a las 48 horas fue 6,01 mm. \pm 0,06 mm. Diferencia que no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabla N° 9: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Grupo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	21,98	4,29	0,55	0,57
48 horas	56	21,52	4,25		

* $p > 0,05$ no existe diferencia significativa

Gráfico N° 9: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



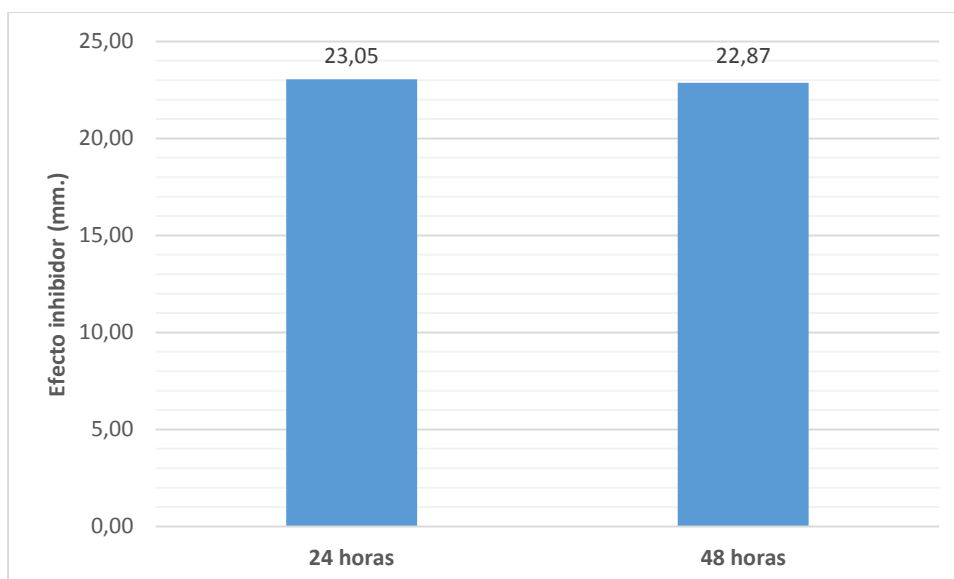
9.- La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue 21,98 mm. \pm 4,29 mm. y a las 48 horas fue 21,52 mm. \pm 4,25 mm. Diferencia que no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabla N° 10: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Grupo	N	Media	Desviación estándar	T	p
24 horas	56	23,05	1,52	0,60	0,54
48 horas	56	22,87	1,64		

* $p > 0,05$ no existe diferencia significativa

Gráfico N° 10: Halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



10.- La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas fue de 23,05 mm. \pm 1,52 mm. y a las 48 horas fue 22,87 mm. \pm 1,64 mm. Diferencia que no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

Tabla N° 11: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.

Sustancia antimicrobiana	N	Media (mm.)	Desviación estándar (mm.)	P
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	56	7,56	1,50	0,000*
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	56	6,45	0,98	
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	56	6,46	1,27	
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	56	7,12	0,98	
Hipoclorito de Sodio al 5%	56	9,47	1,63	
Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	56	6,01	0,11	
Clorhexidina 2% (gel)	56	21,98	4,29	
Clorhexidina 2% (solución)	56	23,05	1,52	

ANOVA: $p=0,000 < 0,05$ existe diferencia significativa

En la tabla se aprecia que existe diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición producidos por las sustancias antimicrobianas.

Test de comparaciones múltiples HSD de Tukey

Sustancia antimicrobiana (I)	Grupos (J)	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	1,10661*	0,043
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	1,10125*	0,043
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	0,43875	0,927
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-1,90589*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	1,54500*	0,001
	Clorhexidina 2% (gel)	-14,41839*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-15,49518*	0,000
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-1,10661*	0,043
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	-0,00536	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-0,66786	0,585
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-3,01250*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	0,43839	0,927
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,52500*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,60179*	0,000
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-1,10125*	0,043
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	0,00536	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-0,66250	0,595
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-3,00714*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	0,44375	0,923
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,51964*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,59643*	0,000

Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-0,43875	0,927
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	0,66786	0,585
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	0,66250	0,595
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-2,34464*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	1,10625*	0,044
	Clorhexidina 2% (gel)	-14,85714*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-15,93393*	0,000
Hipoclorito de Sodio al 5%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	1,90589*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	3,01250*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	3,00714*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	2,34464*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	3,45089*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-12,51250*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-13,58929*	0,000
Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-1,54500*	0,001
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	-0,43839	0,927
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	-0,44375	0,923
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-1,10625*	0,044
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-3,45089*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,96339*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-17,04018*	0,000
Clorhexidina 2% (gel)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	14,41839*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	15,52500*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	15,51964*	0,000

	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	14,85714*	0,000
	Hipoclorito de Sodio al 5%	12,51250*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	15,96339*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-1,07679	0,059
Clorhexidina 2% (solución)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	15,49518*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	16,60179*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	16,59643*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	15,93393*	0,000
	Hipoclorito de Sodio al 5%	13,58929*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	17,04018*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	1,07679	0,059

La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

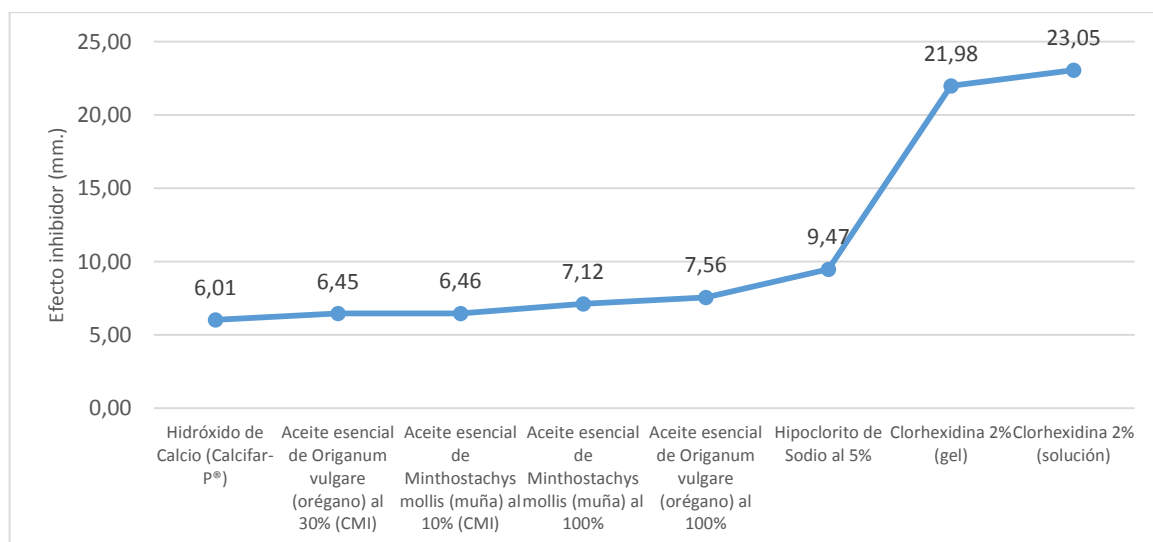
En la tabla se aprecia que la media de los halos de inhibición de la Clorhexidina al 2% (solución) es mayor significativamente que la media de los halos producidos por la Clorhexidina al 2% (gel) ($p < 0,05$), Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p < 0,05$), Hipoclorito de Sodio al 5% ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p < 0,05$) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p < 0,05$).

Asimismo, el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% es significativamente mayor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p < 0,05$); de igual manera el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% es significativamente mayor que el *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®).

También se infiere que los halos de inhibición formados por el Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor significativamente que la media de los halos del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% ($p < 0,05$), aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% ($p < 0,05$) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p < 0,05$).

Finalmente, el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) tuvo menor efecto inhibitor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Gráfico N° 11: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.



11.- El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas tuvo las siguientes características:

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) tuvo un efecto inhibidor mayor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI), Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p<0,05$).

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor mayor que el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p<0,05$).

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10%

(CMI), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Tabla N° 12: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas.

Sustancia antimicrobiana	N	Media (mm.)	Desviación estándar (mm.)	P
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	56	6,82	2,21	0,000*
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	56	6,17	0,59	
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	56	6,08	0,50	
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	56	6,58	1,18	
Hipoclorito de Sodio al 5%	56	8,57	1,69	
Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	56	6,01	0,06	
Clorhexidina 2% (gel)	56	21,52	4,25	
Clorhexidina 2% (solución)	56	22,87	1,64	

ANOVA: $p=0,000<0,05$ existe diferencia significativa

Test de comparaciones múltiples HSD de Tukey

Sustancia antimicrobiana (I)	Grupos (J)	Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	0,65143	0,645
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	0,73714	0,485
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	0,24071	0,998
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-1,75036*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	,81214	0,354
	Clorhexidina 2% (gel)	-14,69911*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,05214*	0,000
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-0,65143	0,645
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	0,08571	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-0,41071	0,954
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-2,40179*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	0,16071	1,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,35054*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,70357*	0,000
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-0,73714	0,485
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	-0,08571	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-0,49643	0,881
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-2,48750*	0,000

	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	,07500	1,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,43625*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,78929*	0,000
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-0,24071	0,998
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	0,41071	0,954
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	0,49643	0,881
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-1,99107*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	0,57143	0,781
	Clorhexidina 2% (gel)	-14,93982*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-16,29286*	0,000
Hipoclorito de Sodio al 5%	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	1,75036*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	2,40179*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	2,48750*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	1,99107*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	2,56250*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-12,94875*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-14,30179*	0,000
Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	-0,81214	0,354
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	-0,16071	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	-0,07500	1,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	-0,57143	0,781
	Hipoclorito de Sodio al 5%	-2,56250*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	-15,51125*	0,000

	Clorhexidina 2% (solución)	-16,86429*	0,000
Clorhexidina 2% (gel)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	14,69911*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	15,35054*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	15,43625*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	14,93982*	0,000
	Hipoclorito de Sodio al 5%	12,94875*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	15,51125*	0,000
	Clorhexidina 2% (solución)	-1,35304*	0,007
Clorhexidina 2% (solución)	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	16,05214*	0,000
	Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	16,70357*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	16,78929*	0,000
	Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	16,29286*	0,000
	Hipoclorito de Sodio al 5%	14,30179*	0,000
	Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	16,86429*	0,000
	Clorhexidina 2% (gel)	1,35304*	0,007

La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

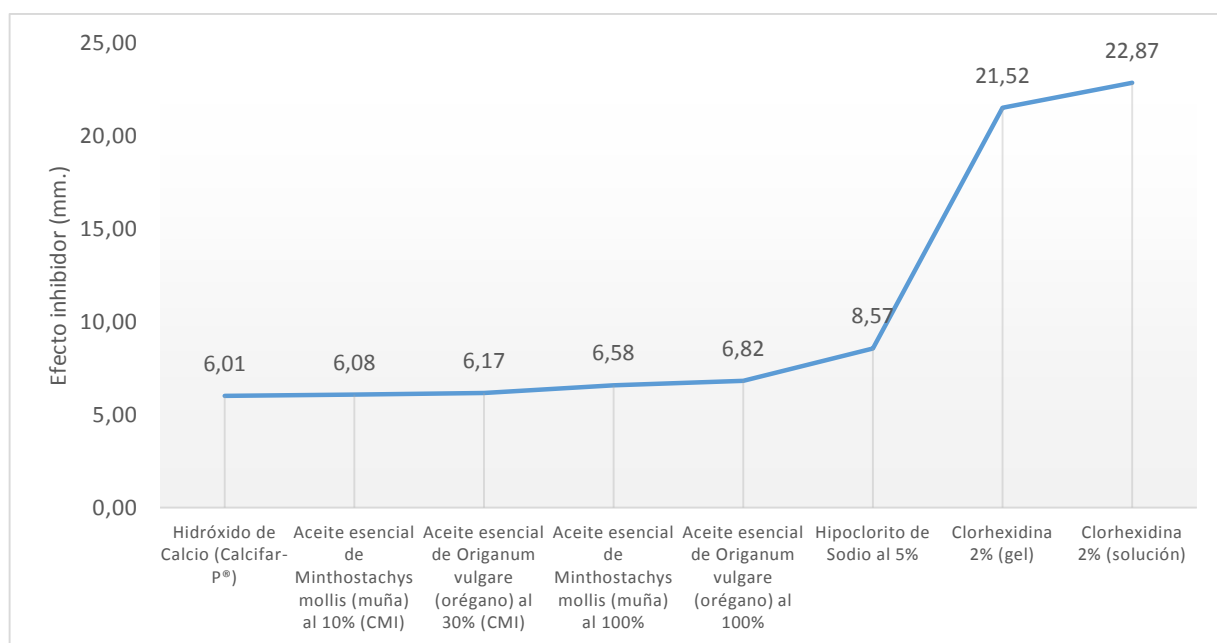
En la tabla se aprecia que la media de los halos de inhibición de la Clorhexidina al 2% (solución) es mayor significativamente que la media de los halos producidos por la Clorhexidina al 2% (gel) ($p < 0,05$), Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p < 0,05$), Hipoclorito de Sodio al 5% ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% ($p < 0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p < 0,05$) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p < 0,05$).

Asimismo, el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% es mayor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p>0,05$), Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p>0,05$), Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% ($p>0,05$) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p>0,05$); de igual manera el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% posee un efecto inhibitor mayor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p>0,05$), *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p>0,05$) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p>0,05$). Diferencias que no fueron estadísticamente significativas.

También se infiere que los halos de inhibición formados por el Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor significativamente que la media de los halos formados por el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% ($p<0,05$), aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) ($p<0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) ($p<0,05$), aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% ($p<0,05$) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) ($p<0,05$).

Finalmente, el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) tuvo menor efecto inhibitor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

Gráfico N° 12: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas.



12.- El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas presentó las siguientes características:

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) tuvo un efecto inhibitor mayor que el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%. Diferencias que no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p<0,05$).

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor mayor que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 10% (CMI) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

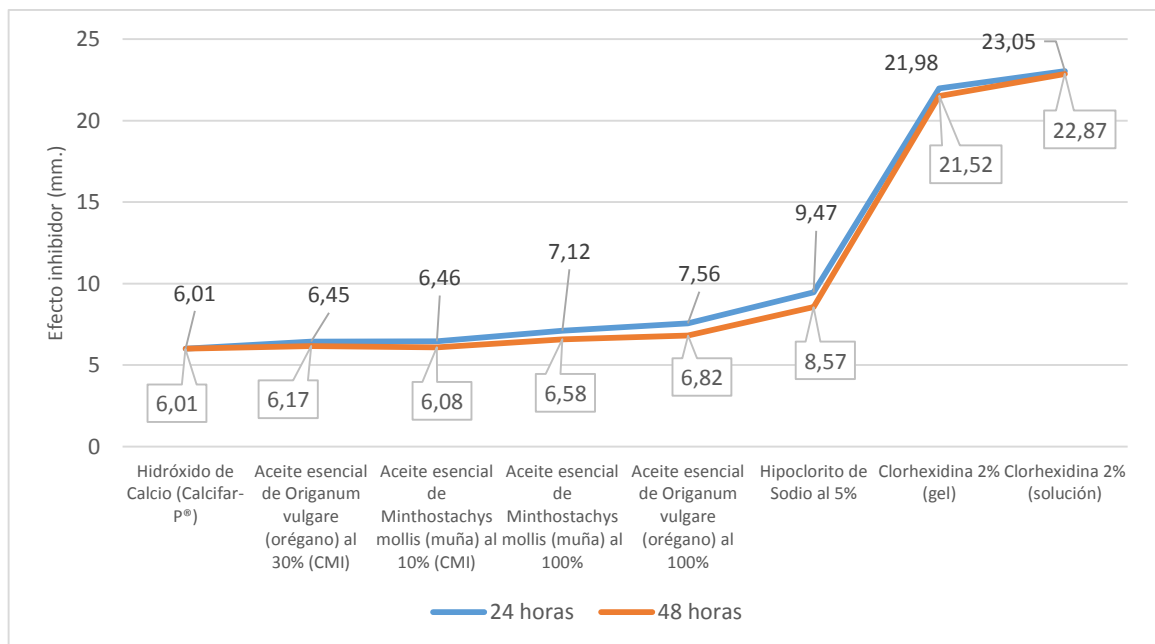
- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p<0,05$).

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 30% (CMI) tuvo un efecto inhibidor menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Tabla N° 13: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.

Sustancia antimicrobiana	Tiempo de exposición			
	24 horas		48 horas	
	Media (mm.)	Desviación estándar (mm.)	Media (mm.)	Desviación estándar (mm.)
Clorhexidina 2% (solución)	23,05	1,52	22,87	1,64
Clorhexidina 2% (gel)	21,98	4,29	21,52	4,25
Hipoclorito de Sodio al 5%	9,47	1,63	8,57	1,69
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 30% (CMI)	6,45	0,98	6,17	0,59
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%	7,56	1,5	6,82	2,21
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 10% (CMI)	6,46	1,27	6,08	0,5
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%	7,12	0,98	6,58	1,18
Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®)	6,01	0,11	6,01	0,06

Gráfico N° 13: Efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas.



13.- El efecto inhibitor de la clorhexidina al 2% (solución) fue mayor que la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Asimismo, todas las sustancias antimicrobianas disminuyeron su efecto inhibitor en el tiempo, a excepción de la clorhexidina al 2%(solución), clorhexidina al 2% (gel) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®).

4.2. Discusión de resultados

En el mundo se realizan muchos estudios con aceites esenciales de plantas consideradas como medicinales por la tradición, en la búsqueda de sustancias naturales que inhiban el crecimiento de bacterias, hongos, virus y parásitos. Asimismo, se tiene conocimiento que la mayor capacidad inhibitoria le confiere ciertos compuestos presentes en su estructura química como: el timol, el carvacrol, el linalool, el aldehído cinámico, la alicina y el eugenol (208, 209, 210)

El creciente interés por el uso de plantas como alternativa para la prevención y tratamiento de enfermedades ha revelado un importante potencial del orégano y la muña, asimismo, se ha demostrado por ejemplo que el orégano contiene sustancias antioxidantes, sino que además puede sustituir los aditivos sintéticos de los alimentos. Los aceites esenciales del orégano son también inhibidores de la mutagenicidad, propiedad que ha despertado el interés por este tipo de hierbas, como posible tratamiento contra el cáncer, sin embargo aún existen escasos estudios respecto a sus propiedades antimicrobianas. Por ello, en la presente tesis no sólo se busca evaluar la acción inhibitoria frente a *Enterococcus faecalis* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% y *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, sino también el de sus concentraciones mínimas inhibitorias comparándolas con el poder antimicrobiano de diversas sustancias sintéticas de uso odontológico de probada efectividad.

En el presente estudio se encontró que la clorhexidina al 2% se mantiene como una sustancia antimicrobiana de primera elección frente a *Enterococcus faecalis* tal como lo demuestra Machado, Souza, Rezende y Santos en el 2007 (5), Amorim *et al.* (2004) (9), Pardina *et al.* (2004) (10) quien inclusive logró un

83,3% de efectividad junto con el Hipoclorito de Sodio al 4%, Ferreira *et al.* (2002) (11), entre otros. Asimismo, Huari (2014) (12) obtuvo mayor halo de inhibición con la Amoxicilina que el aceite esencial de muña al 100% frente a *Streptococcus mutans*.

Al probar los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, cocos anaerobios facultativos, Gram-positivos, que son prevalentes en la periodontitis apical persistente, se obtuvo efecto inhibitor tal como lo demuestra Huari (2014) (12), y Díaz (2005) (15), donde evidenciaron que el aceite esencial de muña presenta halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans*, que son bacterias cocos anaerobios facultativos Gram-positivos al igual que los *E. faecalis*; coincidiendo con Inga y Guerra (2000) (17), que utilizó *Staphylococcus aureus* (cocos anaerobios facultativos, Gram-positivo). En el caso de Oliveira *et al.* (2009) (2) demostraron la efectividad inhibitoria del aceite esencial de orégano sobre bacterias gram positivas, coincidiendo con Toscano J *et al* (2009) (3), quienes demostraron su efecto inhibitor en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo*, así como Peñalver *et al* (2005) (8) quienes concluyeron que el aceite esencial de orégano presentó actividad antimicrobiana en bacterias patogénicas a nivel intestinal.

El método utilizado para medir cuantitativamente el efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), así como de sus concentraciones mínimas inhibitorias y demás sustancias antimicrobianas testeadas fue el de difusión en agar por pozos debido a la consistencia de las sustancias, pudiendo emplearse también este método para otros compuestos como lo podemos observar en los estudios

realizados por Baldwin *et al.* (2009) (211), Arashiro y Anzardo (2009) (212), Cano *et al.* (2008) (14), Herrera *et al.* (2008) (4), Ardila *et al.* (2009) (1), Milos, Mastelic, Jerkovic (2000) (213) y Medeiros *et al.* (2005) (6).

Es así como se ha corroborado que el aceite esencial de muña y orégano es efectiva inclusive contra hongos.

Cabe resaltar que la actividad antimicrobiana de las plantas medicinales depende del tipo, composición y concentración de la especie microbiana o del aceite esencial, el tipo de microorganismo en cuestión, la composición del sustrato, las condiciones de procesamiento y almacenamiento de la planta (214).

Es importante resaltar que no se han encontrado referencias de algún estudio donde se evalúe el efecto inhibitor del aceite aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), considerando sus concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) frente a *Enterococcus faecalis* y comparándolas con Hipoclorito de Sodio al 5%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución), sustancias de uso odontológico que tienen una comprobada propiedad antimicrobiana avalada en diferentes estudios.

Para hallar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) se realizaron diferentes diluciones utilizando como disolvente al Polisorbato 20 o Tween 20, sustancia que además se utilizó como control negativo para garantizar la calidad de la técnica de siembra bacteriana y que la formación de los halos inhibitorios alrededor de los pozos con los aceites esenciales de muña y orégano fueran formados por los mismos, coincidiendo con el estudio de

Rusenova y Parvanov (2009) (215) y Luque (2013) (216) donde utilizaron el Tween 20 en las diluciones de aceites esenciales como tomillo (*Thymus vulgaris*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), menta (*Mentha piperita*) y orégano (*Origanum vulgare*), entre otros, demostrando al igual que la presente investigación la utilización del Tween 20 como efectivo disolvente en estudios experimentales.

Actualmente se realizan investigaciones con plantas medicinales en diferentes partes del mundo, en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para combatir procesos infecciosos, por ejemplo, en pacientes inmunosuprimidos. (217)

El uso de plantas medicinales por el hombre viene de tiempos remotos y en muchos lugares del planeta son usadas como único elemento terapéutico para sus enfermedades, especialmente en zonas pobres donde inclusive las venden a bajo precio en distintos mercados. La fitoterapia durante siglos se ha aplicado utilizando solamente un conocimiento empírico de sus beneficios, sin conocimiento de sus compuestos químicos. Esta realidad ha despertado el interés por investigar con rigor científico los efectos de las plantas medicinales - utilizadas desde nuestros ancestros - en diferentes áreas como la botánica, farmacología y fitoquímica (218) por ello se requieren de estudios multidisciplinarios.

En los últimos años se ha investigado la acción antimicrobiana que las plantas pueden tener sobre bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, levaduras y hongos. (217).

Esta búsqueda se sustenta en que se ha determinado que a pesar que las industrias farmacéuticas han creado nuevos antibióticos en los últimos 30 años,

también se ha aumentado la resistencia de los microorganismos a estas drogas y el uso de los medicamentos sintéticos es incierto en el futuro, por ello es insoslayable elaborar investigaciones dirigidas al descubrimiento de nuevos medicamentos artificiales o naturales. (217, 219).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- ✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y *Origanum vulgare* (orégano) presentan menor efecto inhibidor frente a cepas de *Enterococcus faecalis* en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar, excepto con el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®). Asimismo, se encontró que la Clorhexidina al 2% (solución) fue la sustancia con mayor efecto inhibidor frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

- ✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* fue al 10%.

- ✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* fue al 30%.

- ✓ La medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ La medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ El efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ El efecto inhibidor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ La medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 y 48 horas fue prácticamente nula.

- ✓ La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* se mantuvo al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de *Enterococcus faecalis* se mantuvo al cabo de 24 y 48 horas.

- ✓ El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) fue menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Mientras que el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) fue menor que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Ambos, frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 24 horas.

- ✓ El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) fue menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Mientras que el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) fue menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Ambos, frente a cepas de *Enterococcus faecalis* al cabo de 48 horas.

- ✓ El efecto inhibitor de la clorhexidina al 2% (solución) al cabo de 24 y 48 horas fue mayor que la Clorhexidina al 2% (gel), Hipoclorito de Sodio al 5%, *Origanum vulgare* (orégano) al 100%, aceite esencial de

Minthostachys mollis (muña) al 100%, CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

Recomendaciones

1. Seguir con niveles de investigación superiores como la evaluación de citotoxicidad de los aceites esenciales a diferentes concentraciones.
2. En el futuro, luego de investigaciones que validen su uso clínico, las sustancias antimicrobianas de origen natural podrían aplicarse dentro del Sistema de Conductos Radiculares (SCR) en forma de pasta, gel o solución, mediante la utilización de un vehículo químico que potencializaría su efecto antimicrobiano.
3. Se sugiere realizar un estudio de factibilidad de costos, tomando en cuenta que el frasco con 10 cc. de aceite esencial puro tiene un precio de 40 soles y 5 cc. de clorhexidina al 2% en gel tiene un valor de 200 soles aproximadamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ardila M, Vargas A, Perez J, Mejía L. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Revista Biosalud. 2009; 8: 47-57.
2. Oliveira J, Melo M, Oliveira E, Souza E, Nogueira V, Cavalcante B. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. essential oils in inhibiting the growth of bacterial strains isolated from the patients with conjunctivitis. Braz Arch Biol Technol. 2009; 52(1): 45-50.
3. Toscano J, Melo M, Lima E, Leite E, Nogueira V, Cavalcante B. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. Essential oils in inhibiting the growth of bacterial strains isolated from the patients with conjunctivitis. Brazilian archives of biology and technology an international journal. 2009; 52(1): 45-50.
4. Herrera D, Tay L, Kose C, Andrade T, Rezende E, Kozlowski V, et al. Efecto antibacteriano del hidróxido de cálcio y yodoformo sobre *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Estomatol Herediana. 2008; 18(1): 5-8.
5. Machado M, Souza A, Rezende E, Santos E. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana del Paramonoclorofenol Alcanforado, Clorhexidina al 2% y Extracto de Própolis al 50% sobre tres bacterias encontradas en el interior del canal radicular. Canal abierto: Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile. 2007; N° 15: 16-19.

6. Medeiros L, Fernandez A, De Lima C, Albuquerque E, de Moráis S, Afranio F, Barreira E. Perfil de sensibilidade de bacterias frente a oleos essenciais de algunas plantas do nordeste do Brasil. *Revista Infarma*. 2005; 17, 80-83.
7. Salaverry G, Canzani J, Fernández L, Dadamio J, Bianchini H. Efecto antimicrobiano del paramonoclorofenol alcanforado como medicación endodóntica temporaria. *Rev Asoc Odontol Argent*. 2005; 93(4): 303-7.
8. Peñalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, Romero R, Perea A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS*. 2005; 113(1): 1-6.
9. Amorim C, Aun C, Mayer M. Susceptibility of some oral microorganisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol. *Braz Oral Res* 2004; 18(3): 242-6.
10. Pardina S, Soto C, Durán F, Roig M, Durany N. Efectividad de la clorhexidina y del hipoclorito de sodio en la eliminación de *Enterococcus faecalis* in vitro. 2004; 22(2): 109-15.
11. Ferreira C, Rosa O, Torres S, Ferreira F, Bernardinelli N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J*. 2002; 13(2): 118-22.
12. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans* [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
13. González J, Asmat A, Saavedra C. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Streptococcus mutans*. UPAO Vicerrectorado de Investigación. Boletín de Investigación [revista en

- Internet] 2013 [acceso 18 de agosto de 2014]. Disponible en:
<http://www.upao.edu.pe/investigacionupao/?a=iniver9889>
14. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2008; 25(3): 298-301.
 15. Díaz K. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
 16. Méndez K. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del *Schinus molle* y el paramonoclorofenol alcanforado en bacterias anaerobias facultativas y estrictas de necrosis pulpar [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2004.
 17. Inga A, Guerra B. Efecto del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud [Tesis para optar el título de químico farmacéutico]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2000.
 18. Chávez de Paz L. On bacteria persisting root canal treatment. [Tesis doctoral]. Göteborg-Suecia: Bokbinderi & Tryckeri, The Sahlgrenska Academy at Göteborg University; 2005.
 19. Carlos Bóveda Endodoncia [sede web]. Caracas: Bóveda C; agosto 2004 [acceso 20 de febrero de 2009]. De Aguilar T. Aspectos microbiológicos de la periodontitis apical crónica persistente. Disponible en:

http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odonto invitado_41.htm

20. Dalton B, Ørstavik D, Phillips C, Pettiette M, Trope M. Bacterial reduction with nickel-titanium rotary instrumentation. *J Endod.* 1998; 24(11): 763-7.
21. Kakehashi S, Stanley H, Fitzgerald R. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965; 20(3): 340-9.
22. Kettering J, Torabinejad M. Microbiología e inmunología. En: Cohen S, Burns R, editores. *Vías de la pulpa.* 7a ed. Madrid: Ediciones Harcourt España; 1999. p. 439-51.
23. Möller A, Fabricius L, Dahlén G, Ohman A, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res.* 1981; 89(6): 475-84.
24. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps [Tesis PhD]. Umeå: Odontological Dissertations, Umeå University; 1976.
25. Gomes B, Pinheiro E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, Souza F. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod.* 2008; 34(5): 537-40.
26. Siqueira J, Rôças I. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008; 34(11): 3314-9.
27. Love R, Jenkinson H. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13(2):171-83.
28. Pashley D. Clinical considerations in microleakage. *J Endod.* 1990; 16(2):

70-7.

29. Peters L, Wesselink P; Moorer W. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. *Int Endod J.* 1995; 28(2): 95-9.
30. Siqueira J, Rôças I, Souto R, de Uzeda M, Colombo A. Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 92(4): 451-7.
31. Behnen M, West L, Liewehr F, Buxton T, McPherson J. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod.* 2001; 27(12): 765-7.
32. Byström A, Sündqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J.* 1985; 18(1): 35-40.
33. Kvist T, Molander A, Dahlén G, Reit C. Microbiological evaluation of one and two visit Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: A randomized, clinical trial. *J Endod.* 2004; 30(8): 572-6.
34. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998; 31(1): 1-7.
35. Chávez de Paz L, Dahlén G, Molander A, Möller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J.* 2003; 36(7): 500-8.
36. Gomes B, Lilley J, Drucker D. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J.* 1996; 29(4): 235-41.
37. Rôças I, Siqueira J, Santos K, Coelho A. "Red complex" (*Bacteroides*

- forsythus, Porphyromonas gingivalis, and Treponema denticola) in endodontic infections: a molecular approach. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001; 91(4): 468-71.
38. Sundqvist G, Johansson E, Sjogren U. Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. J Endod. 1989; 15(1): 13-9.
 39. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. J Endod. 1992; 18(9): 427-30.
 40. Waltimo T, Sirén E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. Int Endod J. 1997; 30(2): 96-101.
 41. Bergenholtz G, Crawford J. Microbiología endodóntica. En: Walton R, Torabinejad M. Endodoncia, principios y práctica clínica. México D.F.: Interamericana McGraw-Hill; 1991. p. 287-302.
 42. Teixeira K, Cortes M. Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal. Acta Odontol Venez. 2005; 43(2): 177-80.
 43. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Brizeño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracasos en el tratamiento endodóntico. Acta Odontológica Venezolana [revista en Internet] 2009 [acceso 18 de julio de 2009]; 47(1): [11]. Disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/enterococcus_faecalis_dientes_fracaso_tratamiento_endodontico.asp
 44. Gilmore M, editor. The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance. Washington DC: ASM Press; 2002.
 45. Rôças I, Siqueira J, Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. J Endod. 2004; 30(5): 315-20.

46. Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006; 32(2): 93-8.
47. Tendolkar P, Baghdayan A, Shankar N. Pathogenic Enterococci: new developments in the 21st century. Cell Mol Life Sci. 2003; 60(12): 2622-36.
48. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*-the root canal survivor and 'star' in posttreatment disease. Endodontic Topics. 2003; 6(1): 135-59.
49. Molander A, Lundquist P, Papapanou P, Dahlén G, Reit C. A protocol for polymerase chain reaction detection of *Enterococcus faecium* from the root canal. Int Endod J. 2002; 35(1): 1-6.
50. Siqueira J, Rôças I. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. J Dent. 2003; 31(5): 333-9.
51. Chávez de Paz L, Molander A, Dahlén G. Gram-positive rods prevailing in teeth with apical periodontitis undergoing root canal treatment. Int Endod J. 2004; 37(9): 579-87.
52. Figdor D, Davies J, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. Oral Microbiol Immunol. 2003; 18: 234-9.
53. Love R. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001; 34(5): 399-405.
54. De Melo Maltos S, Ribeiro A, Silva F, Nicoli J, Roque de Carvalho M, Vieira L, et al. Bacterial concentrations determine the ability to implant in the root canal system and translocate to lymph nodes in germ-free mice. J Endod.

- 2003; 29(1): 24-7.
55. Ribeiro A, Barros M, Nicoli J, Carvalho M, Farias L, Bambirra E, *et al.* Experimental root canal infections in conventional and germ-free mice. J Endod. 1998; 24(6): 405-8.
 56. Portenier I, Haapasalo H, Ørstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M. Inactivation of the antibacterial activity of iodide potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heatkilled microbial whole cells. J Endod. 2002; 28(9): 634 -7.
 57. Hubble T, Hatton J, Nallapareddy S, Murray B, Gillespie M. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen binding protein, Ace, on adhesion to dentine. Oral Microbiol Immunol. 2003; 18(2): 121-6.
 58. Evans M, Davies J, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002; 35(3): 221-8.
 59. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. J Dent Res. 1987; 66(8): 1375-9.
 60. McHugh C, Zhang P, Michalek S, Eleazer P. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. J Endod. 2004; 30(4): 218-9.
 61. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol. 1990; 6(4): 142-9.
 62. Haapasalo H, Sirén E, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. Int Endod J.

- 2000; 33(2): 126-31.
63. Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M. Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J.* 2001; 34(3): 184-8.
 64. Jett B, Huycke M, Gilmore M. Virulence of Enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994; 7(4): 462-78.
 65. Carlos Bóveda Endodoncia [sede web]. Caracas: Bóveda C; junio 2007 [acceso 4 de marzo de 2009]. De Goncalves J. Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodónticas. Disponible en:
http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odonto invitado_52.htm
 66. Costerton J, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest.* 2003; 112(10): 1466-77.
 67. Distel J, Hatton J, Gillespie M. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002; 28(10): 689-93.
 68. Costerton J, Stewart P, Greenberg E. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999. 284: 1318-22.
 69. Kristich C, Li Y, Cvitkovitch D, Dunny G. Esp-Independent biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol.* 2004; 186(1): 154-63.
 70. George S, Kishen A, Song P. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2005; 31(12): 867-72.

71. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics*. 2004; 9(1): 27-36.
72. Estrela C, Sydney G, Figueiredo J, Estrela C. Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review. *J Appl Oral Sci*. 2009; 17(1): 1-7.
73. Duggan J, Sedgley C. Biofilm formation of Oral and Endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2007; 33(7): 815-8.
74. Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia E. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of NaOCl, MTAD and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod*. 2007; 33(7): 852-5.
75. Canalda C, Brau E, editores. *Endodoncia, técnicas clínicas y bases científicas*. Barcelona: Masson; 2001.
76. Ingle J, Bakland L, editores. *Endodoncia*. 5ª ed. México D.F.: Interamericana McGraw-Hill; 2004.
77. Rodríguez M. Actividad antibacteriana de cuatro soluciones del extracto de propóleo en bacterias anaerobias frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. 2007.
78. Soares J, Goldberg F, editores. *Endodoncia, técnica y fundamentos*. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2003.
79. Leonardo R, Lia R. Semiología y diagnóstico clínico y radiográfico de las alteraciones periapicales de origen inflamatorio. En: Leonardo M, editor. *Endodoncia, tratamiento de conductos radiculares, principios técnicos y*

- biológicos. 3ª Ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 61-86.
80. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2003; 88(2): 199-204.
 81. Chugal N, Clive J, Spångberg L. A prognostic model for assessment of the outcome of endodontic treatment: Effect of biologic and diagnostic variables. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 91(3): 342-52.
 82. Lin L, Skribner J, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J Endod.* 1992; 18(12): 625-27.
 83. Ray H, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J.* 1995; 28(1): 12-8.
 84. Seltzer S, Bender I, Smith J, Freedman I, Nazimov H. Endodontic failures- an analysis based on clinical, roentgenographic, and histologic findings. I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1967; 23(4): 500-16.
 85. Seltzer S, Bender I, Smith J, Freedman I, Nazimov H. Endodontic failures- an analysis based on clinical, roentgenographic, and histologic findings. II. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1967; 23(4): 517-30.
 86. Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J.* 2001; 34(1): 1-10.
 87. Sirén E, Haapasalo M, Ranta K, Salmi P, Kerosuo E. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J.* 1997; 30(2): 91-5.

88. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997; 30(5): 297-306.
89. Stashenko P. Etiology and pathogenesis of pulpitis and apical periodontitis. En: Ørstavik D, Pitt Ford T, editores. *Essential endodontology, prevention and treatment of apical periodontitis.* 2a ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. p. 42-67.
90. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003; 36(1): 1-11.
91. Andreasen J, Rud J. Correlation between histology and radiography in the assessment of healing after endodontic surgery. *Int J Oral Surg.* 1972; 1(3): 161-73.
92. Barbat J, Messer H. Detectability of artificial periapical lesions using direct digital and conventional radiography. *J Endod.* 1998; 24(12): 837-42.
93. Huuonen S, Ørstavik D. Radiological aspects of apical periodontitis. *Endod Topics.* 2002; 1(1): 3-25.
94. Stheeman S, Mileman P, Van't Hof M, Van der Stelt P. Diagnostic confidence and the accuracy of treatment decisions for radiopaque periapical lesions. *Int Endod J.* 1995; 28(3): 121-28.
95. Pitt Ford T. The effects on the periapical tissues of bacterial contamination of the filled root canal. *Int Endod J.* 1982; 15(1): 16-22.
96. Nair R. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15(6): 348-81.

97. Korzen B, Krakow A, Green D. Pulpal and periapical tissue responses in conventional and monoinfected gnotobiotic rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974; 37(5): 783-802.
98. Nair R, Sjögren U, Figdor D, Sundqvist G. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 87(5): 617-27.
99. Ørstavik D. Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. *Int Endod J.* 1996; 29(3): 150-5.
100. Strindberg L. The dependence of the results of pulp therapy on certain factors. *Acta Odontol Scand.* 1956; 14(21 Supplement): 1-175.
101. Lin L, Pascon E, Skribner J, Gangler P, Langeland K. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 71(5): 603-11.
102. Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod.* 1979; 5(3): 83-90.
103. Sundqvist G, Figdor D. Endodontic treatment of apical periodontitis. En: Ørstavik D, Pitt Ford T, editores. *Essential endodontology, prevention and treatment of apical periodontitis.* 2a ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. p. 242-277.
104. Grahnén H, Hansson L. The prognosis of pulp and root canal therapy: A clinical and radiographic follow-up examination. *Odontol Rev.* 1961; 12: 146-73.
105. Molven O, Halse A. Success rates for gutta-percha and Klorperka N-Ø root

- fillings made by undergraduate students: radiographic findings after 10-17 years. *Int Endod J.* 1988; 21: 243-250.
106. Seltzer S, Bender I, Turkenkopf S. Factors affecting successful repair after root canal therapy. *J Am Dent Assoc.* 1963; 67: 651-62.
 107. Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 1990; 16(10): 498-504.
 108. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85(1): 86-93.
 109. Hancock H, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 91(5): 579-586.
 110. Figdor D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure & pathogenic properties of selected species. Umeå University Odontological Dissertations. Umeå University, Umeå, Suecia. 2002.
 111. Nair R, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990; 16(12): 580-8.
 112. Sjögren U. Success and failure in endodontics. Umeå University Odontological Dissertations. Umeå University, Umeå, Suecia. 1996.
 113. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent*

- Res. 1981; 89(4), 321-8.
114. Sathorn C, Parashos P, Messer H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and meta-analysis *Int Endod J.* 2007; 40(1): 2-10.
 115. Gurney B. Farmacología clínica en endodoncia y medicamentos para el interior del conducto. *Dent Clin North Am.* 1979: 255-66.
 116. Peters L, van Winkelhoff A, Buijs J, Wesselink P. Effects of instrumentation, irrigation and dressing with calcium hydroxide on infection in pulpless teeth with periapical bone lesions. *Int Endod J.* 2002; 35(1): 13-21.
 117. Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod.* 2005; 31(12):863-6.
 118. Ortega F, Bonetti I, López B. Evaluación "in vitro" de la asociación del efecto antimicrobiano del ozono unido a vehículos y medicamentos de acción prolongada. *Acta Odontol Venez.* 2008; 46(2): 1-9.
 119. Bonetti I. Tratamento de conducto radicular de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes medicamentos de acción prolongada. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica. [Livre docência em Endodontia]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista; 2000.
 120. Leonardo M, da Silva L, Tanomaru Filho M, Bonifácio K, Ito I. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod.* 2000; 26(9): 391-4.

121. Trope M, Delano E, Ørstavik D. Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: single vs. multivisit treatment. J Endod. 1999; 25(5): 345-50.
122. Albado E, Saez Grabiél S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (Orégano). Rev Med Hered. 2001;12(1): 16-19.
123. Leonardo M, Silveira F, Silva L, Tanomaru Filho M, Utrilla L. Calcium hydroxide root conducto dressing. Histopathological evaluation of periapical repair at different time periods. Braz Dent J. 2002; 13(1): 17-22.
124. Chong B, Pitt Ford T. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J. 1992; 25(2): 97-106.
125. Estrela C, Pimenta F, Ito I, Bammann L. In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. J Endod. 1998; 24(1): 15-7.
126. Georgopoulou M, Kontakiotis E, Nakou M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root conducto. Endod Dent Traumatol. 1993; 9(6): 249-53.
127. Gomes B, Drucker D, Lilley J. Potencial antimicrobiano de alguns medicamentos intracanaís. En: 14ª Reunião anual da sociedade brasileira de pesquisa odontológica. Águas de São Pedro: Anais da 14ª Reunião anual da sociedade brasileira de pesquisa odontológica; 1997. p. 84.
128. Leonardo M, Araújo C, Mendes A. Contribuição para o emprego de pastas à base de hidróxido de cálcio na obturação de canais radiculares - Estudo de propriedades físicas, químicas e biológicas. Parte I. Rev Fac Farm Odontol. 1976; 10(1): 125-35.

129. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0,5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983; 55(3): 307-12.
130. Siqueira J, de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996; 22(12): 674-6.
131. Pitt Ford T, editor. Harty: Endodoncia en la práctica clínica. 4a ed. México D.F.: Mc Graw Hill Interamericana; 1999.
132. Carlos Bóveda Endodoncia [sede web]. Caracas: Bóveda C; febrero 2006 [acceso 4 de marzo de 2009]. De Fereira M. Medicación intraconducto empleada en la terapia endodóntica de dientes con necrosis pulpar en el postgrado de endodoncia de la Universidad Central de Venezuela en el período enero 2002 - abril 2005. Disponible en: http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odonto invitado_47.htm
133. Wadachi R, Araki K, Suda H. Effect of calcium hydroxide on the dissolution of soft tissue on the root canal wall. *J Endod.* 1998; 24(5): 326-30.
134. Alencar A, Leonardo M, Bezerra L, Silva R, Ito I. Determination of the P-monochlorophenol residue in the calcium hydroxide + P-monochlorophenol combination used as an intracanal dressing in pulpless teeth of dogs with induced chronic periapical lesion. *J Endod.* 1997; 23(8): 522-4.
135. Canalda C. Medicación intraconducto. En: Canalda C, Brau E, editores. *Endodoncia, técnicas clínicas y bases científicas.* Barcelona: Masson; 2001. p. 184-93.

136. Evans M, Craig J, Khemaleelakul S, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorexidine paste as and intracanal medication in bovine dentin. *J Endod* 2003; 29(5): 338-9.
137. Gomes B, Sato E, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Sousa- Filho F. Evaluation of time required for recontaminations of coronal sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorexidine. *Int Endod J*. 2003; 36(9): 604-9.
138. Stock C, Walker R, Gulabivala K, Goodman J. Atlas en color y texto de endodoncia. 2a ed. Madrid: Mosby Doyma; 1996.
139. Endoroot, Comunidad de endodoncia [Sede web]. Madrid: Endoroot.com; 2001-[actualizada el 9 de enero de 2008; acceso 10 de junio de 2009]. Disponible en: <http://www.endoroot.com/modules/news/article.php?storyid=73>
140. Carlos Bóveda Endodoncia [sede web]. Caracas: Bóveda C; enero 2004 [acceso 4 de marzo de 2009]. De Iriza M. Medicación intradentaria intermedia en tratamientos de conductos. Disponible en: http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odonto invitado_38.htm
141. Molander A, Reit C, Dahlén G. Microbiological evaluation of clindamicyn as a root canal dressing in teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1990; 23(2): 113-8.
142. Negroni M, editora. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2009.
143. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin

- metronidazole an minocycline in situ. *Int Endod J.* 1996; 29(2): 118-24.
144. Barbosa C, Gonçalves R, Siqueira J, De Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod.* 1997; 23(5): 297-300.
145. Araújo M, Araújo R, Campos E. Estudo in vitro e ex vivo da atividade bactericida da clorexidina 0.12 por cento e a 0.2 por cento e dos produtos farmacológicos Listerine e Duplak. *Rev odonto ciênc.* 2001; 16(33):187-200.
146. Baker P, Coburn R, Genco R, Evans R. Alkyl-bisguanidades an in vitro inhibitors of bacterial growth and dental plaque formation. *J Periodontol.* 1979; 14: 352-60.
147. Ferguson J, Hatton J, Gillespie M. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans* . *J Endod.* 2002; 28(2): 68-71.
148. Hidalgo E, Dominguez C. Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. *Toxicol In Vitro.* 2001; 15(4):271-76.
149. Onçag O, Cogulu D, Uzel A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: An in vivo study. *J Clin Pediatr Dent.* 2006; 30(3): 233-7.
150. Rodrigues V, Spolidorio D, Ito I, Tanomaru J, Tanomaru Filho M. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras empregadas em endodontia. *Rev Paul Odontol.* 2005; 27(1): 38-40.
151. Schäfer E, Bössmann K. Antimicrobial efficacy of chlorexidine and two

- calcium hydroxide formulations against *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2005; 31(1): 53-6.
152. Kalil M, Fidel R, Araújo H, Boller M, Silva L. Avaliação da citotoxicidade da solução aquosa de clorexidina a 0,5%. JBE J Bras Endod. 2004; 5(16): 33-7.
153. Lima K, Fava L, Siqueira-Jr J. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medicaments. J Endod. 2001; 27(10): 616-19.
154. Weber C, McClanahan S, Millar G, Diener-West M, Jonson J. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. J Endod. 2003; 29(9): 562-4.
155. Basrani B, Santos J, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus Q, Huang J, et al. Substantive antimicrobial activity in Chlorhexidine- treated human root dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94(2): 240-5.
156. Gomes B, Souza S, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. Int Endod J. 2003; 36(4): 267-75.
157. Vahdaty A, Pitt Ford T, Wilson R. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. Endod Dent Traumatol. 1993; 9(6): 243-8.
158. Barthel C, Zimmer S, Zilliges S, Schiller R, Göbel U, Roulet J. In situ antimicrobial effectiveness of chlorhexidine and calcium hydroxide: Gel and

- Paste versus gutta-percha points. *J Endod.* 2002; 28(6): 427-30.
159. Lang N, Brex M. Chlorhexidine digluconate-an agent for chemical plaque control and prevention of gingival inflammation. *J Periodontal Res.* 1986; 21(16): 74-89.
160. Heling I, Sommer M, Steinberg D, Friedman M, Sela M. Microbiological evaluation of the efficacy of chlorhexidine in a sustained device for dentine sterilization. *Int Endod J.* 1992; 25(1): 15-19.
161. Komorowski R, Grad H, Yu Wu X, Friedman S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentine. *J Endod.* 2000; 26(6): 315-7.
162. Lenet B, Komorowski R, Wu X, Huang J, Grad H, Lawrence H et al. Antimicrobial substantivity of bovine root dentine exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. *J Endod.* 2000; 26(11): 652-5.
163. Elworthy A, Greenman J, Doherty F, Newcombe R, Addy M. The substantivity of a number of oral hygiene products determined by the duration of effects on salivary bacteria. *J Periodontol.* 1996; 67(6): 572-6.
164. White R, Hays G, Janer L. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *J Endod.* 1997; 23(4): 229-31.
165. Al-Kahtani A, Shostad S, Schifferle R, Bhambhani S. In-Vitro evaluation of microleakage of an orthograde apical plug of mineral trioxide aggregate in permanent teeth with simulated immature apices. *J. Endod.* 2005; 31(2): 117-19.
166. Lin S, Zuckerman O, Weiss E, Mazor Y, Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow release device to disinfect dentinal tubules. *J Endod.* 2003; 29(6): 416-8.

167. Bonesvoll P, Gjermo P. A comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque inhibition effect in the human mouth after mouth rinse. Arch Oral Biol. 1978; 23:289-94.
168. Siqueira J, Uzeda M. Intracanal medicaments: Evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. J Endod. 1997; 23(3): 167-9.
169. Dahlén G, Haapasalo M. Microbiology of apical periodontitis. En: Ørstavik D, Pitt Ford T, editores. Essential endodontology, prevention and treatment of apical periodontitis. 2a ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. p. 106-30.
170. Bardales A, Yarlequé M, Rueda L. Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". En: I Congreso Internacional de Biología-XIII Congreso Nacional de Biología-VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Resúmenes de Trabajos de Investigación del I Congreso Internacional de Biología-XIII Congreso Nacional de Biología-VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas; 1999.
171. Primo V, Rovera M, Zanon S, Oliva M, Demo M, Daghero J, Sabini L. Determinación de la actividad antibacteriana y antiviral del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling. Rev Argent Microbiol. 2001; 33(2): 113-7.
172. Siani A, Sampaio A, Souza M, Henriques M, Ramos M. Óleos Essenciais: Potencial antiinflamatório. Biotecnolog Cienc Desenvolv. 2000; 16: 38-43.
173. Castro V. Inhibición del crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans* por

- papaína y sanitrend. [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Universidad de Chile. Santiago de Chile. 2005.
174. Bandoni A, editor. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Buenos Aires: CYTED; 2002.
175. Bruneton J, editor. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da. Edición. Zaragoza: Acribia S.A.; 2001.
176. Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother Res.* 2004; 18(6): 435-48.
177. Rivarola M. La muña: menta de los andes. *Gener@cción.* 2008; 6(70): 36-40.
178. Wikipedia, La enciclopedia libre [Sede web]. Florida: Wikimedia Foundation; 2008-[actualizada el 2 de junio de 2009; acceso 14 de julio de 2009]. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Minthostachys_mollis
179. Fuertes C, Munguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" de 3 regiones peruanas por GC-MS. *Ciencia e Investigación.* 2000; 4(1): 23-39.
180. Palacios J, editor. Plantas medicinales nativas del Perú. Lima: qfasesores; 1997.
181. Barboza G, Cantero J, Núñez C, editores. Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina). Pteridófitas y antófitas silvestres o naturalizadas. Córdoba: Museo Botánico Córdoba; 2006.
182. Pontiroli A. Labiatae. En: Cabrera A, editor. Flora de la Provincia de Jujuy. Buenos Aires: Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología

- Agropecuaria; 1993. p. 560.
183. Scandaliaris M, Fuentes E, Lovey R. Dos especies de Lamiáceas comercializadas en Córdoba (Argentina) bajo el nombre de "Peperina". *Multequina*. 2007; 16: 73-81.
 184. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*. 2003; 10(10): 813-29.
 185. Chica N, Sánchez J, Carascal K, Melgarejo M. Antimicrobial activity of *Minthostachys mollis* (*lamiaceae*) essential oil. *APS Caribbean Division*. 2007; 97(7) (Suppl).
 186. Gûiza D, Rincón L. Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* [Trabajo de grado para optar el título de microbiólogo industrial]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2007.
 187. Hieronymus J. *Plantae diaphoricae Florae Argentinae*. Buenos Aires: Library of The New York Botanical Garden; 1882.
 188. Carhuapoma M, Angulo P, editores. *Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores-Wari*. Lima: Proyecto IICA-GTZ *Orientación de la Investigación Agraria hacia el Desarrollo Alternativo*; 1999.
 189. Alonso J, Desmarchelier C, editores. *Plantas medicinales autóctonas de la Argentina. Bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud*. Buenos Aires: Fitociencia; 2006.

190. Baratta M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oils Research*. 1998; 16: 618-627.
191. Ultee A. Bactericidal activity of carvacol towards the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Microbiology*. 1998; 85: 211-218.
192. Michiels J, Missotten J, Fremaut D, De Smet S, Dierick N. In vitro dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. *Livestock Science*. 2007; 109(1-3): 157-160.
193. Nostro A, Roccaro A, Bisignano G, Marino A, Cannatelli M, Pizzimenti F, et al. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Med Microbiol*. 2007; 56: 519-523.
194. Klauer D. Manual técnico de cultivo ecológico de orégano. Arequipa: El taller; 2009.
195. Fonnegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2a ed. Antioquía: Universidad de Antioquía; 2007.
196. Rivas S, Díaz T, Prieto J, Loidi J, Pens A. La vegetación de la alta montaña cantábrica. Los picos de Europa. Madrid: Leonesas; 1984.
197. Batllori L. Plantas medicinales y drogas vegetales. Orégano. *Offarm* 1: 80; 1991.
198. Madueño M. Cultivo de plantas medicinales. Madrid: Publicaciones de extensión agraria; 1973.
199. Arteché A, Fernández J, Guenechea J, Vanaclocha B. Fitoterapia. Vademécum de prescripción. Barcelona: CITAPE. S.L.; 1998.

200. Longo R. Le Monografie Tedesche. Versione italiana. Tomo III. Milano: Studio Edizioni; 1995.
201. Mulet L. Flora tóxica de la Comunidad Valenciana. Valencia: Servicio de publicaciones. Diputación de Castellón; 1997.
202. Lang N, Lindhe J. Periodontología clínica e implantología odontológica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
203. García R, Palou E. Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismo de interés en alimentos. Temas selectos de Ingeniería de alimentos. Puebla: Universidad de Las Américas; 2008.
204. Pitchford P. Sanando con alimentos integrales: tradiciones asiáticas y nutrición moderna. California: North Atlantic books; 2007.
205. Borboa J, Rueda E, Acedo F, Ponce J, Cruz M, García J, *et al.* Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis subespecie michiganensis*. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2010; 12(3): 539-547.
206. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils. Food and chemical toxicology. 2008; 46: 446-475.
207. Oblitas E. Plantas medicinales en Bolivia: Farmacopea Callawaya. 2ª Edición. La Paz: Los amigos del libro; 1998.
208. Winward P, Avery M, Stephenson T, Jefferson B. Essential oils for disinfection of grey water. Water research. 2008; 42: 2260-2268.
209. Delaquis J, Stanich K, Girard B, Mazza G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology. 2002; 74: 101-109.

210. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) *Lebensm. Wiss. U.-Technol.* 2004; 37: 263-268.
211. Baldwin W, Dibán J, Ordinola R. Capacidad antimicrobiana de diferentes cementos endodónticos frente a *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. *Vis dent.* 2009; 12(2)(3): 535-538.
212. Arashiro C, Anzardo A. Efecto antibacteriano de tres cementos endodónticos frente a tres especies bacterianas. *Vis dent.* 2009; 12(1): 487-491.
213. Milos M, Mastelic J, Jerkovic I. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*). *Food Chem.* 2000; 71: 79-83.
214. Marino M, Bersani C, Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Inter. J. of Food Microb.* 2001; 67(3): 187–195.
215. Rusenova N., Parvanov P. Antimicrobial Activities of Twelve Essential Oils Against Microorganisms of Veterinary Importance. *Trakia Journal of Sciences (Bulgaria)* 2009; 7(1): 37-43.
216. Luque E. Efecto inhibitor de un colutorio elaborado a base de aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en comparación a tres colutorios de uso comercial, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 estudio in vitro. Lima 2013 [Tesis para optar el título de cirujano-dentista]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2013.

217. Prashar A, Hili P, Veness RG, Evans CS. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*. 2003; 63(5): 569–575.
218. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga VF, Jr., Grynberg NF, Echevarria A. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. *Quimica Nova*. 2002; 25(3): 429–438.
219. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Braz. J. Microb.* 2000; 31(4): 247– 256.

ANEXOS

ANEXO N° 1



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

Dr. Víctor Izaguirre Pasquel
Director (e) de la Escuela de Postgrado
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 MUÑA (*Minthostachys mollis*) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de FEDERICO MARTIN MALPARTIDA QUISPE para su utilización en la investigación "EFECTO INHIBIDOR DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS (CMI) DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) Y *ORIGANUM VULGARE* (ORÉGANO) EN COMPARACIÓN A DIFERENTES SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS FRENTE A *CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS*. ESTUDIO *IN VITRO*. LIMA 2014."

Atentamente,

La Molina, 11 de Agosto del 2014



Ing. Armando Noriega Mangini
Gerente General
Essential Oils Perú



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

Dr. Víctor Izaguirre Pasquel
Director (e) de la Escuela de Postgrado
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 OREGANO (*Origanum vulgare*) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de FEDERICO MARTIN MALPARTIDA QUISPE para su utilización en la investigación "EFECTO INHIBIDOR DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS (CMI) DE LOS ACEITES ESENCIALES DE MINTHSTACHYS MOLLIS (MUÑA) Y ORIGANUM VULGARE (ORÉGANO) EN COMPARACIÓN A DIFERENTES SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS FRENTE A CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS. ESTUDIO IN VITRO. LIMA 2014."

Atentamente,

La Molina, 11 de Agosto del 2014

 Ing. Armando Noriega Mangini
Gerente General

Ing. Armando Noriega Mangini
Gerente General
Essential Oils Perú

ANEXO N° 2



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - Camacho
La Molina - Lima
Tel: (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.

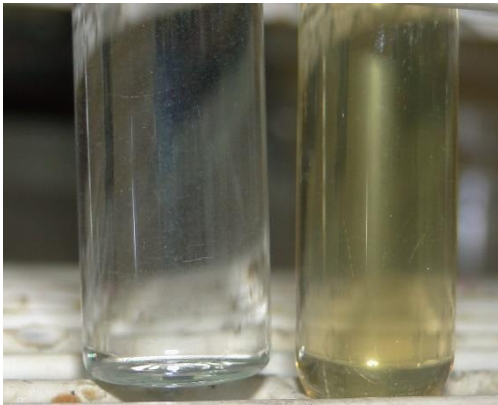
El tiempo de vida útil promedio es de 5 años. Sin embargo las características aromáticas se mantienen intactas por un tiempo aproximado de 1 año en la mayoría de los casos.

Observaciones:

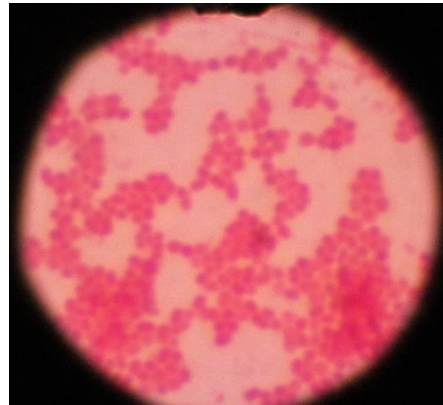
- ✓ Los AE cítricos son más propensos a la oxidación por lo que tienen un tiempo de vida menor. Para su mejor conservación se sugiere conservarlos a temperaturas entre los 4-10°C.
 - ✓ Los AE de anís, hinojo y otros de la familia *apiaceae*, tienden a solidificarse a bajas temperaturas, no implicando 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

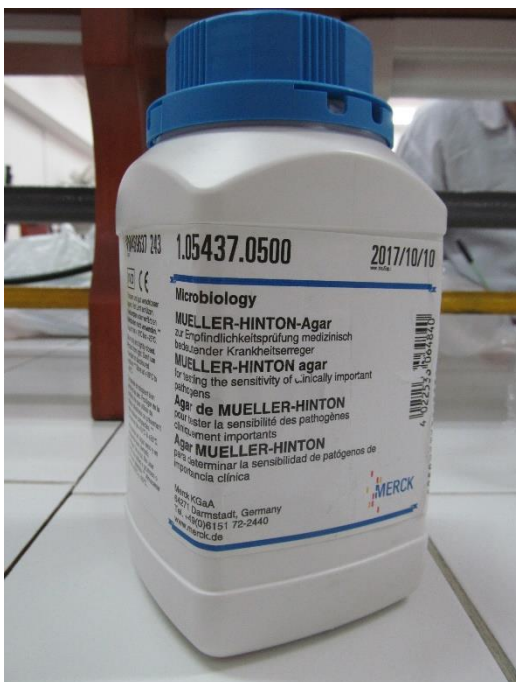
Fotografías



Reactivación y estandarización de la cepa ATCC 29212.



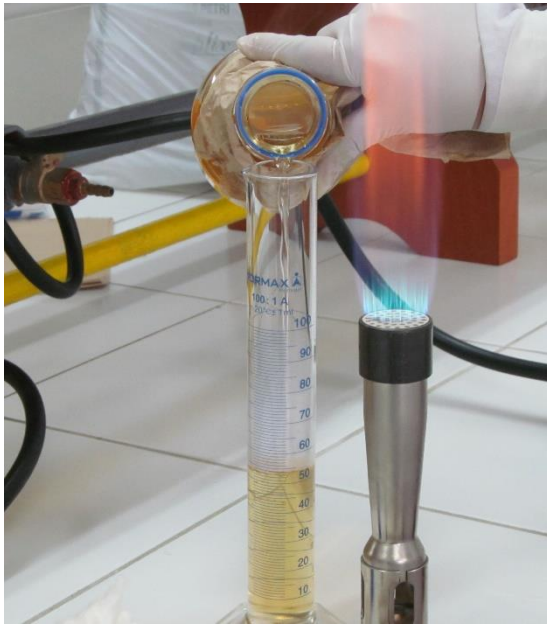
Identificación de *Enterococcus faecalis*.



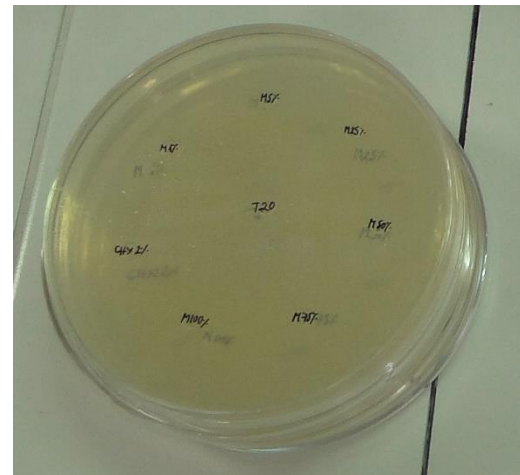
Agar Muller Hinton.



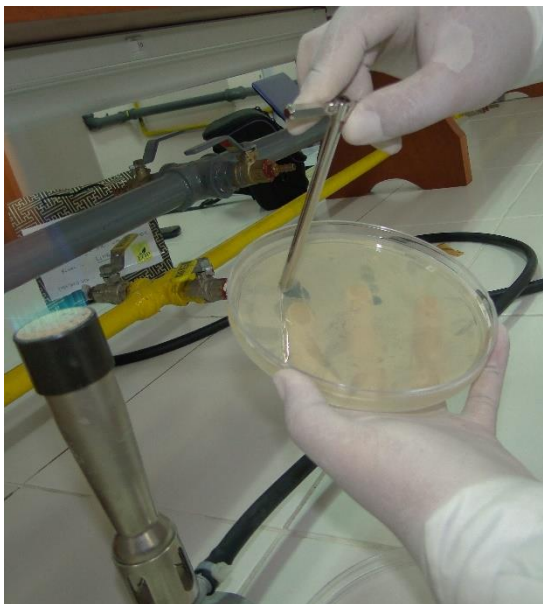
Preparación del Agar Mueller Hinton.



Preparación del Agar Mueller Hinton.



Rotulado de pozos en Agar Mueller Hinton.



Elaboración de pozos con sacabocado.



Toma del inóculo bacteriano (*Enterococcus faecalis*).



Sembrado del inóculo bacteriano.



Aceites esenciales y diluciones.



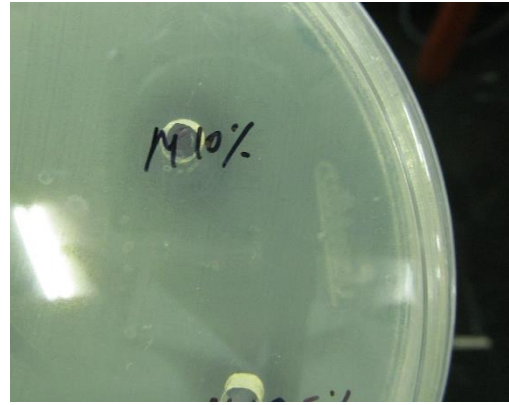
Toma de sustancia antimicrobiana.



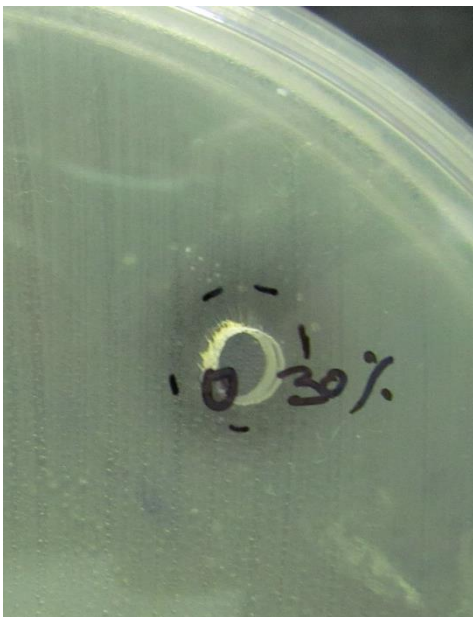
Colocación de sustancias antimicrobianas



Colocación de placas Petri en estufa a 37°C.



Halo de inhibición. CMI del aceite esencial de Muña.



Halo de inhibición. CMI del aceite esencial de Orégano.



Calibrador Vernier o Pie de Rey. Utilizado para cuantificar los halos de inhibición.

ANEXO N° 4

Ficha de Recolección de datos (Primera Etapa)

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de aceites esenciales

Halos de inhibición frente a E. faecalis

N°	Aceite Esencial de al 100%	Aceite Esencial deal%	Aceite Esencial de al%	Aceite Esencial de al%	Aceite Esencial de al%	Aceite Esencial deal%
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						

Ficha de Recolección de datos (Segunda Etapa)

Efectividad de aceites esenciales frente a *E. faecalis* (medidas de halos de inhibición)

Aceite Esencial: Muña ()

Orégano ()

Tiempo de exposición: 24 horas () 48 horas ()

N°	CMI Aceite Esencial (mm.)	Aceite esencial al 100% (mm)	Hipoclorito de sodio al 5% (mm)	Hidróxido de calcio (Calcifar-P®) (mm)	Clorhexidina 2% gel (mm)	Clorhexidina 2% solución (mm)	Twen 20
1							
2							
3							
4							
.							
.							
.							
.							
55							
56							

ANEXO N° 5

Normas de eliminación de residuos comunes y especiales de los laboratorios de la Universidad Privada Norbert Wiener



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, nitrobenceno, 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 lit 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 (venoclisis, 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 zona de residuos.



VICERRECTORADO
LABORATORIO Y MATERIAL DIDÁCTICO

ANEXO N° 6

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	PERIODO	PRODUCTO
1. Planeamiento		
Elaboración del anteproyecto	Del 02 de Mayo al 31 de mayo de 2014	Proyecto de Tesis
Modificaciones del anteproyecto	Del 01 de Junio al 13 de Junio de 2014	
Presentación del Proyecto de Tesis	Del 14 de Junio al 21 de Junio de 2014	
Aprobación del Proyecto de Tesis	Hasta el 23 de Junio de 2014	Informe Final de Tesis
2. Ejecución		
Preparación del material y equipos	Del 28 de Junio al 11 de Agosto de 2014	
Estandarización del método	15 de Agosto de 2014	
Calibración, unificación de criterios	18 de Agosto de 2014	
Selección de muestra	20 de Agosto de 2014	
Recolección de información	Del 22 al 23 de Agosto de 2014	
Control y supervisión	Del 24 al 26 de Agosto de 2014	
Presentación de información	Del 27 de Agosto al 08 de Setiembre de 2014	

Análisis de datos	Del 09 al 19 de Setiembre de 2014	Publicación
Conclusiones	Del 15 al 26 de Agosto de 2016	
3. Comunicación Preparación del Informe Final de Tesis	Del 05 al 12 de Setiembre de 2016	
Revisión y modificación del Informe Final de Tesis	Del 13 al 16 de Setiembre de 2016	
Entrega del Informe Final de Tesis	Del 26 al 30 de Setiembre de 2016	
Impresión	Del 28 de Febrero de 2017	
Publicación	Del 20 al 30 de Marzo de 2017	

ANEXO N° 7

Presupuesto

Bienes:

Nº	Especificación	Cantidad	Costo unitario	Costo total
1	Cepas <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	1 Frasco	500	500
2	Aceite esencial de Muña	2 Frascos	40	80
3	Aceite esencial de Orégano	2 Frascos	40	80
4	Set de Gram	1	50	50
5	Caldo tripticasa de soya	1	100	100
6	Placas Petri descartables (grandes)	110	5	550
7	Agar Mueller Hinton	1 Frasco	700	700
8	Puntas para micropipeta 20 ul.	1 bolsa	20	20
9	Hisopos largos	1 ciento (bolsa)	7	7
10	Algodón	2 libras	25	50
11	Lámina portaobjetos	10	1	10
12	Gluconato de clorhexidina al 2% (gel) (Concepsis V)	1 Tubo	300	300
13	Paramonoclorofenol alcanforado	1 Frasco	25	25
14	Frasco color caramelo (ámbar)	5 Unidades	5	25
15	Agar Tioglicolato	1 Frasco	650	650
16	Regla Pie de Rey digital	1 unidad	100	100
17	Guantes descartables	1 caja	15	15

18	Agujas descartables de 18 G	20	2	40
19	Mascarilla descartable	10	4	40
20	Papel Craft	15 pliegos	0,5	7,5
21	Tubos de ensayo	20	4	80
22	Escala de Mc Farland	1	400	400
23	Micropipeta	3	300	900
SUB- TOTAL				4729,5

Servicios:

Nº	Especificación	Cantidad	Costo unitario	Costo total
1	Laboratorio de Microbiología de la Universidad Norbert Wiener	1	300 x 4 horas x 6 días	7200
2	Microbiólogo(a) y 2 auxiliares	3	300 x 4 horas x 6 días	7200
SUB- TOTAL				14400

BIENES (4729,5) + SERVICIOS (14400) = TOTAL (19129,5)

ANEXO N° 8

Matriz de consistencia

TÍTULO: “EFECTO INHIBIDOR DE LAS CONCENTRACIONES MÍNIMAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA Y ORÉGANO EN COMPARACIÓN CON SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS USADAS EN LA TERAPIA PULPAR FRENTE A CEPAS DE *Enterococcus faecalis*. ESTUDIO *IN VITRO*. LIMA 2014”

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA	CONCLUSIONES
<p><u>PROBLEMA GENERAL</u></p> <p>¿Cuál es el efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>. Estudio <i>in vitro</i>. Lima 2014?</p>	<p><u>OBJETIVO GENERAL</u></p> <p>Evaluar el efecto inhibidor de las concentraciones mínimas del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p>	<p><u>HIPÓTESIS GENERAL</u></p> <p>La CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y <i>Origanum vulgare</i> (orégano) presentan mayor efecto inhibidor frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar.</p>	<p><u>INDEPENDIENTE</u></p> <p>Sustancia antimicrobiana</p> <p><u>DEPENDIENTE</u></p> <p>Efecto inhibidor</p> <p><u>INTERVINIENTE</u></p> <p>Tiempo de exposición</p>	<p><u>TIPO DE INVESTIGACIÓN</u></p> <p>Experimental, prospectivo, longitudinal, analítico.</p> <p><u>DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</u></p> <p>Experimental</p> <p><u>POBLACIÓN:</u></p> <p>Bacterias propias de periodontitis apical persistente.</p>	<p>✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y <i>Origanum vulgare</i> (orégano) presentan menor efecto inhibidor frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> en comparación con sustancias antimicrobianas usadas en la terapia pulpar, excepto con el Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®). Asimismo, se encontró que la Clorhexidina al</p>

<u>PROBLEMA ESPECÍFICOS:</u>	<u>OBJETIVOS ESPECÍFICOS:</u>	<u>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</u>		<u>MUESTRA:</u>	
<p>Primera Etapa:</p> <p>1.- ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>?.</p> <p>2.- ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>?.</p> <p>Segunda Etapa:</p> <p>3.- ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p>	<p>Primera Etapa:</p> <p>1.- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>2.- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>Segunda Etapa:</p> <p>3.- Registrar la medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p>	<p>Primera Etapa:</p> <p>1.- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> es al 10%</p> <p>2.- La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> es al 30%.</p> <p>Segunda Etapa:</p> <p>3.- La medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuye al cabo de 24 y 48 horas.</p>		<p>MUESTRA:</p> <p>Cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> en 56 placas petri para que exista validez estadística. Cabe resaltar que las sustancias antimicrobianas a comparar también fueron colocadas en las mismas 56 placas Petri según se explica en técnicas e instrumentos de recolección de datos.</p>	<p>2% (solución) fue la sustancia con mayor efecto inhibitor frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p> <p>✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> fue al 10%.</p> <p>✓ La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> fue al 30%.</p> <p>✓ La medida del halo de inhibición formado por la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a cepas de <i>Enterococcus</i></p>

<p>4.- ¿Cuál es el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente al cultivo bacteriano de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>5.- ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>6.- ¿En qué medida se dará el efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>7.- ¿Cuál es el efecto inhibitor del Hipoclorito</p>	<p>4.- Determinar el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>5.- Registrar la medida del halo de inhibición formado el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>6.- Cuantificar el efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>7.- Determinar el efecto inhibitor del Hipoclorito</p>	<p>4.- El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuye al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>5.- La medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuye al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>6.- El efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuye al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>7.- El efecto inhibitor del Hipoclorito de Sodio</p>			<p><i>faecalis</i> disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ La medida del halo de inhibición formado por el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ El efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.</p>
---	--	---	--	--	--

<p>de Sodio al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>8.- ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>9.- ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>10.- ¿Cuál es la medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p> <p>11.- ¿Cuál es el efecto inhibidor de la CMI del</p>	<p>de Sodio al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>8.- Registrar la medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>9.- Cuantificar el halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>10.- Cuantificar el halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>11.- Evaluar el efecto inhibidor de la CMI del</p>	<p>al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuye al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>8.- La medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas es nula.</p> <p>9.- La medida del halo de inhibición formado por el Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> se mantiene al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>10.- La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> se mantiene al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>11.- El efecto inhibidor de la CMI del aceite</p>			<p>✓ El efecto inhibidor del Hipoclorito de Sodio al 5% frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> disminuyó al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ La medida del halo de inhibición del Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas fue prácticamente nula.</p> <p>✓ La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (gel) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> se mantuvo al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ La medida del halo de inhibición formado por la Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i></p>
---	---	---	--	--	--

<p>aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 horas?.</p> <p>12.- ¿Cuál es el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en</p>	<p>aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 horas.</p> <p>12.- Evaluar el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en</p>	<p>esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) es mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 horas.</p> <p>12.- El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) es</p>			<p>se mantuvo al cabo de 24 y 48 horas.</p> <p>✓ El efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) fue menor que el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Mientras que el efecto inhibitor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) fue menor que el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Ambos, frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 horas.</p>
---	---	--	--	--	--

<p>comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 48 horas?.</p> <p>13.- ¿Cuál es el efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña), CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a</p>	<p>comparación al Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 48 horas.</p> <p>13.- Comparar el efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña), CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano), Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a</p>	<p>mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel) y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 48 horas.</p> <p>13.- El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña), CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al cabo de 24 y 48 horas es mayor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%, Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®), Clorhexidina al 2% (gel)</p>			<p>✓ El efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) fue menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Mientras que el efecto inhibidor de la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) fue menor que el Hipoclorito de Sodio al 5%, Clorhexidina 2% (gel) y Clorhexidina 2% (solución). Ambos, frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 48 horas.</p> <p>✓ El efecto inhibidor de la clorhexidina al 2% (solución) al cabo de 24 y 48 horas fue mayor que la Clorhexidina al 2% (gel), Hipoclorito de Sodio al 5%, <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 100%,</p>
---	--	--	--	--	---

<p>cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas?.</p>	<p>cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> al cabo de 24 y 48 horas.</p>	<p>y Clorhexidina al 2% (solución) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p>			<p>aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 100%, CMI del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> (muña), CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) e Hidróxido de Calcio (Calcifar-P®) frente a cepas de <i>Enterococcus faecalis</i>.</p>
---	--	--	--	--	---