

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

E.A.P. DE ODONTOLOGÍA

**Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus
mutans y de flora mixta salival por acción de aceite
esencial de la Matricaria chamomilla manzanilla**

TESIS

para optar el título de Cirujano Dentista

AUTOR

Dany Alejandro Cosco Robles

ASESORA

Elba Estefanía Martínez Cadillo

Lima – Perú

2010

ASESOR:

Blg^a Elba Estefanía Martínez Cadillo

JURADO DE SUSTENTACIÓN:

Presidente: Mg. C.D. Carlos Humberto Campodónico Reategui

Miembro: Mg. C.D. Carmen Inocencia Quintana del Solar

Miembro Asesor: Blg^a Elba Estefanía Martínez Cadillo

DEDICATORIA

*A Dios por el gran amor que me demuestra
en cada día de mi existir,
por ser mi Padre, maestro y amigo.*

*A mis padres Alejandro y Elida
por su amor, confianza y apoyo
en todo momento y lugar.*

*A toda mi familia a quien amo mucho, en especial
a mis hermanas Katy, Mary y Cindy.*

AGRADECIMIENTOS

A la Blg^a Elba Estefanía Martínez Cadillo por su ejemplo profesional y humano, su asesoría y ayuda constante en la realización del presente trabajo.

A Jeinmy, por estar dispuesta a darme siempre su ayuda desinteresada, por su amor, consejos y ayuda en la ejecución de este trabajo.

Al Mg. C.D. Carlos Campodónico Reategui y al Mg. C.D. Carmen Inocencia Quintana del Solar por su ayuda, motivación y amistad.

A mi Alma Mater “Universidad Nacional Mayor de San Marcos” quien la llevo en mi corazón a todo lugar y en todo momento.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	8
II. MARCO TEÓRICO	10
2.1 Antecedentes	10
2.2 Bases Teóricas	17
2.2.1 Matricaria chamomilla(manzanilla)	17
2.2.1.1 Características	17
2.2.1.2 Hábitat y Distribución	19
2.2.1.3 Usos	19
2.2.1.4 Composición	19
2.2.1.5 Principios Activos y Propiedades	21
2.2.1.6 Extracción	29
2.2.1.7 Aceites Esenciales	35
2.2.2 Microorganismos de la Cavidad Oral	39
2.2.2.1 Generalidades	39
2.2.2.2 Desarrollo de la Flora Bucal	39
2.2.2.3 Factores que Alteran el Desarrollo de la Flora Bucal	42
2.2.2.4 Flora Microbiana en la Cavidad Oral	46
2.2.2.5 <i>Streptococcus</i> del grupo <i>mutans</i>	50
2.3 Planteamiento del problema	56
2.4 Justificación	57
2.5 Objetivos de la investigación	58
2.5.1 Objetivo general	58
2.5.2 Objetivos específicos	58
III. MATERIALES Y METODOS	59
3.1 Tipo de estudio	59
3.2 Población y muestra	59
3.2.1 Población	59
3.2.2 Muestra	59
3.3 Operacionalización de variables	60

3.4	Diseño Metodológico	62
3.4.1	Procedimientos y Técnicas	64
3.4.2	Recolección de datos	68
3.4.3	Procesamiento de resultados	65
IV.	RESULTADOS	70
V.	DISCUSION	79
VI.	CONCLUSIONES	82
VII.	RECOMENDACIONES	84
VIII.	RESUMEN	85
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	87
X.	ANEXO	90

I. INTRODUCCION

Las enfermedades de mayor prevalencia en la cavidad oral son las caries, gingivitis y periodontitis; estas si no se tratan adecuadamente, pueden ocasionar perdida de la unidad dentaria afectada, teniendo como consecuencia alteraciones: estéticas, digestivas, maloclusión dentaria, entre otras. Las Caries y Enfermedad Periodontal, tienen su origen en la existencia de una placa dentobacteriana previa o biopelícula de la placa, definida según la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias y que por su actividad bioquímica y metabólica ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de la caries dental. El *Streptococcus mutans*, se considera como la especie más frecuentemente aislada en la placa dentobacteriana. Por consiguiente, el hecho de reconocer a *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de éste, en la cavidad oral; siendo uno de los mecanismos para su control el uso de antimicrobianos.

La medicina natural, a partir de las plantas y sus propiedades antimicrobianas, últimamente ha recibido mucha atención de los científicos, comprobándose las propiedades de sus componentes que van confirmando que permiten combatir a los agentes patógenos. Además, porque es importante conocer más sobre plantas medicinales como métodos alternativos en el consultorio dental, pues con su ayuda, no se deberán utilizar fármacos que a largo plazo se pueden volver perjudiciales para el organismo.

En los últimos años se ha incrementado notoriamente los estudios de sustancias naturales entre ellas la manzanilla, la cual se ha demostrado su efectividad en el tratamiento de diferentes afecciones, tales como digestiva, carminativa, sedante, tónica, vasodilatadora y antiespasmódica entre otros.

En concordancia con estas consideraciones; el objetivo de la investigación fue determinar el efecto inhibitorio del crecimiento sobre microorganismos de la flora mixta salival y cepa patrón (American type culture ATCC) de *Streptococcus mutans*, de soluciones de manzanilla.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES :

- **Romero M y col (2008)** Realizaron un estudio descriptivo-exploratorio, longitudinal no experimental en la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo Venezuela, demostraron el efecto antiséptico y antiinfeccioso de la *Matricaria recutita* dado por la presencia de derivados terpénicos como: matricina, camazuleno, β -bisabolol y los óxidos α y β del b-bisabolol. El principal mecanismo de acción antibacteriano es la disrupción de la membrana celular bacteriana, el cual es posible mediante tres vías: 1.- aumentando su permeabilidad a pequeños iones, 2.-afectando la estabilidad estructural y 3.desestabilizando el empaquetamiento de la bicapalipídica, produciendo la muerte del *Streptococcus mutans*.¹
- **Carpio A (2008)** Realizó un estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral. En la facultad de odontología de la UPCH, encontró resultados positivos para 24 extractos de 27 de estas plantas. Los extractos con mayor efecto antimicrobiano corresponden a las especies *Momordica charantia* L., *Piper dumosum* Rudge, *Byrsonima poeppigiana* A. Juss, *Anacardium occidentale* L., *Psidium guajava* L., *Marcia paivae* O. Berg *Couroupita guianensis* Aubl., *Vismia angusta* Miq., y cuatro aceites esenciales correspondientes a las especies *Cymbopogon citratos* (D. C.) Staf, *Mentha pulegium* L, y *Minthostachys mollis* (Kunth) Grises. ²

- **Sadr M y Col (2006)** Realizaron un estudio sobre el efecto de la manzanilla alemana (*Matricaria recutita* L.) y extracto de árbol de té (*Melaleuca alternifolia* L.), usado como sustancias irrigadoras en la remoción del barro dentinario. Demostró La eficacia de la manzanilla para eliminar la capa de frotis siendo superior a NaOCl solo, pero menos que NaOCl en combinación con EDTA .3
- **Modesto A y Col (2003)** Realizaron un estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebe, el objetivo del estudio fue evaluar y comparar el efecto de los antibióticos utilizados en soluciones de higiene oral en la microflora de los lactantes. Después de recoger la saliva y placa dental de 20 niños, se llevó a cabo el método de difusión en agar. Los resultados obtenidos y analizados por ANOVA y el test de Tukey, se encontró que la soluciones de control, bicarbonato de sodio y la infusión de *Matricaria chamomilla* no mostraron efecto antimicrobiano, independiente de la concentración. La solución de H₂O₂ (3 por ciento) y NaF (0,02 por ciento) tuvo un efecto significativo (p <0,01), y la solución de H₂O₂ mostró una mayor actividad (p <0,01) que el NaF, independientemente del origen del inóculo.4
- **Lima E y Col (2003)** Realizaron un estudio in vitro de actividad antibacteriana de los aceites esenciales obtenidos de las siguientes plantas medicinales: *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Citrus Limonium* (limón), *Cymbopogom citratus* (Capim-santo), *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Eugenia caryophyllus*

(Clavo) ,*E. uniflora* (Surinam cerezo), *Lippia alba* (bálsamo), *Matricaria chamomilla* (manzanilla), *Pneumus boldus* (Boldo), *Ruta graveolens* (rue) y *Zingiber officinalis* (jengibre) en cepas de bacterias Gram negativas. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor en el agua. Las pruebas de las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales se han llevado a cabo por la técnica de difusión en medio sólido. Los resultados obtenidos fueron cinco de los nueve aceites esenciales probados mostró una inhibición del crecimiento de una o más cepas de bacterias Gram negativas. Sólo los aceites esenciales de *R. graveolens* y *Z. officinalis* no mostró acción inhibidora sobre cualquier cepa prueba. Sin embargo, el aceite esencial de *C. citratus* recibido destaco entre los productos probados, mostró una concentración mínima inhibitoria de un 8 por ciento de las cepas analizadas. Concluyendo que los aceites esenciales de plantas medicinales se presentan como agentes potencialmente eficaces para inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas, y se destaca la acción del aceite esencial de *C. citratus*. 5

- **Borba A y Col (2008)** Realizaron un estudio de las especies vegetales utilizadas por la comunidad de la Santa Cruz en el barrio de la ciudad de Chapada dos Guimarães, sus indicaciones y las formas de utilización en relación con la salud bucodental. Realizo entrevistas con 40 residentes, a través de un enfoque cualitativo. 65 especies fueron recogidos, catalogados y mantenidos para su posterior identificación en UFMT / Herbario Central. Obtuvo como resultado que las especies más usadas fueron; manzanilla

(*Matricaria chamomilla* L.) como sedante y antiinflamatorio en la erupción del diente, el azafrán (*Crocussativus* L.) y árnica para estomatitis (*Brickelia brasiliensis*)y (Spreng Robinson) para el dolor de muelas: siendo La hoja la parte más utilizada de la planta, que se obtiene por recolección; y el té fue la forma más común de uso.⁶

- **Barreto L y Col (2005)** Realizaron un estudio del potencial antimicrobiano *in vitro* de 7 dentífricos conteniendo fitoterápicos sobre bacterias orales recuperadas de la saliva y cepas patrón de *S. mutans*, *S. sanguis* y *L. casei*. Fueron obtenidas soluciones concentradas de los dentífricos evaluados y de los controles; mezclándose 3 gramos de cada uno con 10 mL de agua deionizada estéril, seguido de centrifugación; los sobrenadantes resultantes fueron diluidos en proporciones de 1:2 hasta 1:32. Fue realizado un test de difusión en ágar, colocando cepas patrón y la saliva total estimulada de 10 pacientes saludables. Discos empapados con las suspensiones de los dentífricos fueron dispuestos en las placas, las cuales fueron incubadas en anaerobiosis por 48 horas, siendo los halos de inhibición medidos en milímetros. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y teniendo en consideración el control positivo se constató que, solamente las soluciones puras de los dentífricos presentaron capacidad antimicrobiana contra cepas patrón, equivalente a la del dentífrico con triclosan, excepto el Gessy Cristal[®]. Además, los dentífricos diluidos a 1:2 presentaron acción antimicrobiana contra las bacterias orales recuperadas de la saliva, excepto el Parodontax[®].⁷

- **Filoché S y Col (2004)** Realizaron un estudio comparativo de los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales por sí solo y en combinación con clorhexidina y digluconato contra biofilm de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Incluidos los aceites esenciales de canela, árbol de té (*Melaleuca alternifolia*), Manuka (*Leptospermum scoparium*), *Leptospermum morrisonii*, árnica, eucalipto, toronja y el aceite esencial de menta; fueron además analizados el enjuague bucal Listerine ® y dos de sus componentes, timol y mentol y el aceite de manzanilla; Canela exhibió la mayor potencia de los antimicrobianos. Manuka, *L. morrisonii*, aceites de árbol de té y timol mostraron potencia antimicrobiana pero en menor medida. El efecto de la combinación del aceite esencial-clorhexidina fue mayor en contra de ambos biofilm de *S. mutans* y *Lactobacillus*. La cantidad de clorhexidina necesarias para lograr un crecimiento equivalente de inhibición en contra de la biopelícula se redujo de 4 a 10 veces en combinación con la canela, Manuka, *L. morrisonii*, timol, y Listerine ®. Llegando a la conclusión de que puede haber un papel para los aceites esenciales en el desarrollo de nuevos tratamientos anticaries.⁸
- **Sainz de Net y Col (2004)** Realizaron un estudio de flora bacteriana en pacientes tratados ortodóncicamente, aplicando enjuagues bucales de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”; obtuvo como resultado que la *Matricaria chamomilla* ayuda a la no formación de la placa dentobacteriana que se forma alrededor de los brackets en pacientes con tratamiento ortodóncico. El enjuague evita la formación de las bacterias al mismo tiempo que la

formación de ácidos que desmineralizan el diente, dejando pigmentación blanquecina, antiestética.⁹

- **Vieira y col (1999)** Realizaron un estudio en la Clínica de Bebes departamento de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad de Río de Janeiro ; fueron seleccionados 40 bebes, de los cuales se recolectaron saliva no estimulada y el biofilm dental, siendo evaluados los efectos de soluciones de dentífricos concentrados y diluidos (1:2 hasta 1:128) utilizados en el higiene oral de bebes, verificándose que la saliva y el agua deionizada (soluciones de control) y las soluciones de bicarbonato de sodio e infusión de *Matricaria chamomilla*, así como los dentífricos conteniendo xilitol, lactoperoxidase, glicoseoxidase y lactoferrina combinados con extractos de *Calendula officinalis* no presentan cualquier efecto antimicrobiano, independientemente de la concentración y de la metodología utilizada .¹⁰
- **Zapata y col (1998)** Realizaron un estudio la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala sobre el efecto de la manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) sobre el proceso de cicatrización de tejidos blandos , post extracción; concluyendo en su estudio que la realización de buches con infusión de manzanilla una y dos veces al dia da igual proceso de cicatrización de tejidos blandos post extracción de una forma eficaz; además los resultados demostraron que no existe ningún tipo de reacción colateral.¹¹

- **Mirón y col (1997)** Realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de la Universidad San Carlos de Guatemala; evaluó el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogénicos, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* in vitro; demostró que la concentración al 5% estimula el crecimiento del *Streptococcus mutans* e inhibe el crecimiento del *Lactobacillus acidophilus*, la concentración al 10% obtuvo mayor efecto inhibitorio para los dos microorganismos estudiados, la concentración al 20% tuvo menor efecto inhibitorio que la concentración al 10%.¹²

2.2 BASES TEORICAS

2.2.1 MATRICARIA CHAMOMILLA (MANZANILLA)

2.2.1.1 Clasificación Botánica

Phylum: *Euphyta*

División: *Angiospermae*

Clase: *Dicotyledones*

Orden: *Synandreae*

Familia: *Asteraceae (Compositae)*

Género: *Matricaria*

Especies: *Matricaria chamomilla* o *Matricaria recutita*

2.2.1.2 Características

Existen tres especies diferentes de plantas herbáceas denominadas genéricamente como manzanilla, todas ellas pertenecientes a la familia de las asteráceas y con similares virtudes:

1. *Matricaria chamomilla* o *Matricaria recutita* también llamada manzanilla alemana, manzanilla dulce o cimarrona o manzanilla común, pertenece a la familia de las *Asteraceae (Compositae)*; una planta anual, nativa de las regiones templadas de Europa. 13

2. *Anthemis nobilis* o *Matricaria nobilis* o *Chamaemelum nobile* también llamada manzanilla romana, manzanilla amarga, manzanilla inglesa pertenece a la familia de las *Asteraceae (Compositae)*, una planta perenne, nativa de las regiones meridionales de Europa. 13

3. La manzanilla o camomila de campo o bastarda (*Anthemis arvensis*), una planta anual que crece de forma silvestre y tiene un sabor más amargo que las anteriores.

En el presente estudio se evaluó el aceite esencial de la *Matricaria chamomilla*.¹³

La etimología del nombre "chamomilla" derivaría del latín "*khamaimelon*" formado por "chamai = pequeño, enano" y de "mélon = manzana" por lo tanto "pequeña manzana" por el perfume que recuerdan algunas variedades de manzanas. Esta reconstrucción parece bastante fiel también considerando el hecho que en algunas lenguas, por ejemplo en español, la manzanilla se llama "manzanilla" es decir "pequeña manzana".¹³

La etimología del nombre "matricaria" no está claro podría derivar del latino "mater = madre" o de "matrix = útero" porque en el pasado les fue dada a las mujeres que parieron porque se sustentó que tuviera una acción benéfica sobre la musculatura.¹³

La *Matricaria chamomilla* es una planta herbácea, de tallo cilíndrico, erguido, ramoso, de hasta 50 cm de altura. Presenta hojas alternas, bipinnatisectas, con los folíolos. En posición terminal presenta en verano una inflorescencia en forma de capítulo paniculado. Las flores radiales son unos 20, con la lígula blanca, mientras que los del disco son numerosos, hermafroditas; el receptáculo es hueco y carece de escamas, lo que permite distinguirla fácilmente de las demás variedades.^{13,14}

2.2.1.2 Hábitat y distribución

Es nativa de la región de los Balcanes, desde donde se difundió en Europa. Está naturalizada en varias regiones del Nuevo Mundo. Y se cultiva para su uso industrial. Crece con facilidad en suelo bien drenado, con bastante sol; resiste las heladas, la escasez de nutrientes y la acidez del suelo. 13; fue introducida por los españoles en Perú en 1928 como insecticida. 15, 16,17

2.2.1.3 Uso

El tallo tierno y las sumidades floridas se usan secos o frescos en infusión, aromática y ligeramente amarga. Se la confunde muchas veces con la manzanilla común, *Chamaemelum nobile*, y no es claro a cual se refieren los autores al mencionar sus propiedades medicinales, pero se la considera digestiva, carminativa, sedante, tónica, vasodilatadora y antiespasmódica. El aceite esencial se emplea en aromaterapia, y la infusión de las flores se aplica al cabello para incrementar su color dorado, en especial en niños. 14, 15,16

2.2.1.4 Composición

Aceite esencial (0,3%-1,5%): Es el componente más importante que se obtiene de las cabezuelas de la planta y constituyen el grupo lipofílico de la droga. De acuerdo con la Farmacopea Argentina, la droga no debe contener más de 10% de otras partes de la planta, ni más de 2% de materia orgánica extraña. La Farmacopea Británica exige un contenido de aceite esencial entre 0,25-0,70%. La Farmacopea Brasileira al igual que la Española, Alemana y

Europea, exige un tenor de aceite esencial no menor al 0,4%. Más del 50% del total de la esencia se compone de la siguiente manera: 17

Azulenos (26-46%): Principalmente camazuleno (6-15%) y en menor medida guajazuleno. Se trata de un aceite volátil que le brinda el color azulado a la esencia y que aparece por acción del calor durante el proceso de extracción. Por ello no están presentes en las infusiones tradicionales. El camazuleno no está preformado en la planta sino que deriva (por saponificación, deshidratación y descarboxilación) de un proazuleno incoloro e hidrosoluble denominado matricina, el cual es una lactona sesquiterpénica del grupo de los guayanólidos. 17

Sesquiterpenos: a -bisabolol (10-25%) y derivados (bisabolóxidos A, B y C, bisabonlonóxido A). También se identificó el antecotúlido (trazas). 17

Lactonas sesquiterpénicas: matricina, matricarina y desacetilmatricarina. La matricina sería también precursora del camazuleno. 17

Carburos terpénicos: farneseno, cadineno, cis-espiroéter y trans-espiroéter. 17

Flavonoides (1-3%): Constituyen junto a los mucílagos el grupo hidrofílico de la droga. Fueron identificadas numerosas flavonas y flavonoles metoxilados, entre ellos apigenina (0,25-42%) y quercetina con sus correspondientes glucósidos (7 - glucosil - apigenina y 7-glucosil quercetina). También luteolina, patuletina, lisorhamnetol, apiína, rutina y otros. 17

Cumarinas: dioxycumarina, umbeliferona y herniarina

Otros: ácido valeriánico, taninos, ácido ascórbico, ácidos grasos, mucílagos urónicos (10%), ácido salicílico, esteroides derivados del estigmasterol, ácidos fenólicos, ácido angélico, mucopolisacáridos, principio amargo (ácido antémico), xiloglucuranos, sales minerales (8-10%), triacontano y fitosterina (resinas). 13, 14, 15,16

2.2.1.5 Principios activos y propiedades

Los principios activos contenidos en sus flores son varios y pueden ser de naturaleza liposoluble o hidrosoluble. Los liposolubles están concentrados en los aceites esenciales y se emplean en compuestos de uso externo. Los hidrófilos, liberados en las infusiones, tienen sobre todo efecto antiespasmódico. 17

En la infusión sólo se libera un 10 a 15% del contenido total de su aceite esencial. El aceite esencial contenido en sus flores oscila entre 0.4 -1 % del peso seco. Compuesto principalmente por farneseno, spathulenol, (pro) camazufen, (-)-alfa bisabolol, (-)-alfa bisabololoxide y (-)-alfa bisabolonoxide. 17

La proporción de procamazulen o matricin en las flores es alta, pero durante el proceso de destilación, por arrastre con vapor de agua, es transformado en camazulen. La esencia de manzanilla recién destilada es de color azul, esto se debe a la presencia de sesquiterpenos conocidos como azuleno. En parte es el responsable del efecto antiinflamatorio. 17

El contenido de azuleno en el aceite varía entre 1 y 18%. Los aceites con alto contenido son producidos por determinadas variedades cultivadas. 17

La ausencia de matricin en la planta está regido por un gen dominante presente en las poblaciones de manzanilla silvestre del Sureste Europeo y algunos sectores reducidos de Asia. 17

Otras de las sustancias existentes en su aceite esencial es un grupo derivado de los sesquiterpenos, los bisaboloides. En la manzanilla se encuentra el (-)-alfa bisabolol como componente natural. Por medio de procesos oxidativos el (-)-alfa bisabolol pasa, dentro de la planta, a formas oxidadas, que son alcoholes secundarios denominados óxido de bisabolol, de éstos en la manzanilla se han detectado tres tipos. 17

El óxido de bisabolol, en un paso siguiente, puede ser oxidado a óxido de bisabolon. La oxidación está regida por un gen dominante. 17

En base al contenido de las distintas formas de bisaboloides y su relación de concentraciones ha sido postulada la existencia de distintos tipos químicos de manzanilla. El contenido de bisaboloides en el aceite esencial puede variar entre 0 y 50% según los tipos y variedades. 17

El gen que inhibe la producción de matricin no está ligado naturalmente a ninguno de los distintos tipos productores de bisaboloides. El tipo camazulen-libre-bisabolonoxide se ha encontrado en Europa al Sureste, como nativo. El tipo camazulen-bisabololoxide en Europa Central, y sólo un tipo en camazulen-

bisabolol han sido encontrado en España. Este tipo mencionado finalmente es recesivo múltiple (aa bb nn). 17

Los grupos acetilénicos, conforman un 20-30%. Las sustancias solubles en agua están constituidas por flavonoiglicósidos. Junto a éstos se han encontrado distintos compuestos terpénicos, pectinas y varios oligosacáridos..

13, 17

Como se decía anteriormente, el valor medicinal de una planta reside en una sustancia (principio activo). Estos principios activos se clasifican según su composición química y son los siguientes: alcaloides, glucósidos, aceites esenciales, mucílagos, ácidos orgánicos, minerales y vitaminas. 13,16, 17

Alcaloides

Las plantas con alcaloides, junto con las plantas con glucósidos, son las más numerosas y, de uso difundido en medicina. Tienen muchas veces efectos espectaculares. Este es el caso de la morfina alcaloide de la "adormidera" (*Papaver somniferum*), la quinina que se obtiene de varias especies de "quina", los alcaloides de cornezuelo del centeno, etc.

Los alcaloides son sustancias orgánicas (compuestos de carbono, oxígeno e hidrógeno) nitrogenadas. Alcanzan su máxima concentración alrededor de la floración. No se inactivan con el secado de la planta y se pueden aislar con disolventes químicos y, algunos - los menos - se pueden aislar con agua. 13

Las plantas con alcaloides actúan sobre el sistema nervioso central y periférico, algunos son estimulantes y otros depresores. Pueden producir desde anestesia leve hasta la narcosis. También actúan sobre los vasos sanguíneos modificando su contractibilidad. Por último, algunas plantas tropicales tienen alcaloides con propiedades antisépticas (la quinina).

Otras plantas con alcaloides son: "tabaco", "cicuta", "chamico", "efedra", "natri", "fumaria", "maqui", "palque o duraznillo negro", "galega", etc. 13

Glicósidos

Son plantas que tienen un compuesto químico formado por un azúcar (glucosa por ejemplo) ligada a una parte no azúcar (aglucona o genina). Esta genina debe separarse para ser activa. Se separa por fermentos que tiene la misma planta y se activa en presencia de agua. Estas plantas se dividen según las características de la genina.

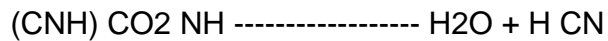
Lo común es que cada familia tenga un tipo de este compuesto no glucídico (genina), por ejemplo, la familia de las crucíferas tienen genina. 13

Glicósidos sulfurados

En este caso se trata de una genina azufrada. Tienen propiedades antibióticas. Requieren de un tiempo de maceración de diez minutos en agua tibia, así la genina es aislada de la parte azúcar y se hace activa. Ejemplo de estas plantas son: "la espuela de galán", "ajo", "cebolla", "nabo" y "rábano". 13

Glicósidos cianógenos

La genina tiene nitrógeno como ácido cianhídrico.



Este proceso se produce especialmente en las semillas de las rosáceas, caprifoliáceas y lináceas.

Tienen propiedades anestésicas, antiespasmódicas e hipotensoras, mejoran la respiración y la digestión. De este grupo son: el "cerezo", el "guindo" y el "almendro". 13

Glicósidos fenólicos

En la aglicona un grupo OH se encuentra unido a un grupo bencénico. Es común que se encuentre en la savia de los brotes jóvenes y en la corteza de algunos árboles (sauce y álamo). Se trata de dos compuestos principales: la arbutina y la salicina. Este último, como se sabe tiene propiedades febrífugas y antipiréticas y actúa a nivel central y vascular. De este principio se obtuvo la base para producir en forma sintética el ácido acetilsalicílico. 13

Para producir la separación de la aglicona del grupo glucídico se requiere de una maceración de quince días en agua fría. A este grupo pertenecen el "álamo", el "sauce" el "peral" y la "reina de los prados". 13

Glicósidos flavonoides

La aglicona es un colorante (flavona= amarillo) que en la antigüedad era usado como tintura. Su acción terapéutica está en sinergia con la vitamina C, luego se identifica esta sustancia, denominada rutósido o vitamina P. Son solubles en agua, actúan sobre el corazón y disminuyen la fragilidad capilar. 13

De éste tipo de plantas son el "mastuerzo", la "hierba de la plata", el "girasol", la "ruda" y el "sauco".13

Glicósidos cumarínicos

Son ésteres de ácidos compuestos, ácidos fenoles, y por lo general tienen olor a heno. Están presentes en las gramíneas y en las umbelíferas. Poseen cualidades antibacterianas. Son tóxicos para los animales por un efecto anti-vitamina K. De este grupo son la "avena" y el "trébol", el "apio" y la "bardana". 13

Glicósidos ranunculósidos

La familia de las ranunculáceas, además de proporcionar alcaloides, cardiotónicos, saponinas y lactonas volátiles, proporciona un heterósido que es la unión de la ranunculina con la glucosa. Se conserva sólo en las preparaciones alcoholadas o en las plantas frescas. Irritan la piel y el aparato digestivo. Se utilizan muy poco por ser tóxicas. 13

Glicósidos antracénósidos

La aglicona es un fenol utilizado como colorante textil. No se metaboliza en el cuerpo humano y se elimina por vía biliar a los intestinos. Actúa como purgante a nivel del intestino grueso. Se extrae con álcalis y requieren de ocho a doce horas para activarse. No es aconsejable hacer uso de ellos en embarazadas y en personas con hemorroides, pues aumentan el flujo en el intestino. De este grupo son la "frángula", la "cuscuta", el "ruibarbo" y el "sen".¹³

Resinas

La resina es el producto oxidado de la esencia. Se puede obtener artificialmente, pero existen algunas plantas que realizan en forma natural este proceso.

Al enfriar la esencia se obtiene un producto llamado alcanfor que tiene propiedades medicinales distintas de la esencia. Por este hecho, las plantas con esencias tienen tres posibilidades de uso: como droga (té o agua), como esencia, al aislarla, o como alcanfor. Por ejemplo se puede consumir la menta como agua de menta, se puede usar la esencia de menta, y también como mentol que es el alcanfor de la menta. ¹³

Las esencias también pueden estar unidas a glúcidos, por ejemplo, el ajo. En general, se trata de plantas con abundantes propiedades medicinales, y

consumidas en exceso tienen efectos tóxicos irritativos. La asociación alcohol-esencia es especialmente irritante.

Las plantas con esencias tienen propiedades de tónico digestivo, desinfectante intestinal espasmolítica, como es el caso del "ajo" y el "tomillo"¹³

Al ser de excreción por la vía respiratoria, el "tomillo", la "menta" y el "eucalipto" son útiles para afecciones del aparato respiratorio. La "chinita" y la "manzanilla" por vía general y local son antihistamínicas. Otras propiedades que comparten varias de estas plantas son las diuréticas, emenagogas y antirreumáticas. Pertenecen a este grupo de plantas la "milenrama", el "apio", el "cilantro", el "cáñamo", el "eucalipto", el "hinojo", el "laurel", la "lavanda" el "toronjil de olor", la "menta", la "albahaca", el "orégano", el "anís", el "pino", el "romero", la "salvia", el "tomillo", el "tilo" y la "valeriana". ¹³

Glúcidos

Los mucílagos son azúcares polimerizados, son sintetizados por la planta con fines energéticos y plásticos, para el crecimiento, la reproducción y la reserva. Además estos azúcares permiten acumular agua. Los almidones son almacenados en la semilla y las pectinas en las paredes celulares. ¹³

Estos glúcidos no se disuelven en agua sino que la absorben y se hinchan. De esta forma cuando se aplican sobre los tejidos producen efectos antiinflamatorios y de protección local. En la piel actúan como emolientes, como es el caso del "llantén" y de la "espuela de galán". En los intestinos

disminuyen la peristalsis y protegen la mucosa, en este caso a dosis bajas actúan como antidiarreico, pero a altas dosis por ósmosis, son laxantes. 13

Desgraciadamente se absorben poco, pero a pesar de ello, algunos llegan casi hasta el tracto respiratorio y también tienen poder descongestionante: "llantén", "tusílogo", "borraja", etc. En estas mismas plantas se han identificado sustancias con propiedades antibióticas. Este hallazgo es un ejemplo de complementariedad, pues la presencia de estos azúcares complejos es un excelente caldo de cultivo para los gérmenes. Sin embargo, para evitar la descomposición la planta elabora sustancias con propiedades antisépticas asegurando así al conservación. Por esta razón, estas plantas además tienen efectos antisépticos leves. Las plantas de este grupo más conocidas son: "sanguinaria", "borraja", "membrillero", "avena", "llantén", "vira-vira", "algarrobo", etc. 13

Existen grupos de plantas que tienen otros principios activos. Por ejemplo plantas con ácidos orgánicos (málico, tartárico y oxálico), que tienen propiedades leves diuréticas y laxantes. Plantas con sustancias minerales y vitaminas y por último, algunas con propiedades antibióticas, distintas de las ya vistas o de los hongos. Pero son grupos pequeños o mejor conocidos en el ámbito de la dietética y la alimentación. 13

2.2.1.6 Extracción

El aislamiento y la purificación de los compuestos orgánicos son aspectos decisivos para cualquier investigación experimental en Química

Orgánica ya se refiera a la determinación de estructuras o al estudio de una reacción orgánica. Se comprende que los procedimientos empleados en el aislamiento y en la purificación sean a menudo similares dado que el aislamiento es en esencia una purificación. 13

El proceso de extracción implica el tratamiento de la sustancia bruta con un disolvente apropiado que en caso ideal disuelva sólo el constituyente deseado, permaneciendo sin disolver las demás sustancias. En la práctica se obtiene una mezcla de compuestos solubles en el disolvente empleado y otras arrastradas por co-solubilidad. Este extracto separado del residuo sólido (p.ej.: restos de planta) es filtrado y el disolvente evaporado a presión reducida en un evaporador rotatorio. Al residuo semi-sólido o aceitoso se lo conoce como extracto crudo. La obtención de una sustancia pura a partir de él requiere de purificaciones posteriores, como veremos más adelante. 13

Se deben considerar las características generales del metabolito de interés antes de comenzar con el proceso de extracción, por ejemplo, los glicósidos son termolábiles, sensible al pH, polares y no volátiles consecuentemente el solvente y el proceso a emplear se adecuarán a estas características, para obtener el metabolito sin riesgos de descomposición o formación de artefactos y en alto rendimiento. Aunque la tendencia es aplicar una técnica estándar para obtener el extracto crudo, es conveniente tener en mente que la gran diversidad de compuestos de origen natural no permite que un sólo proceso de extracción se adecue a la obtención de todos ellos, sino que existen procesos individuales de acuerdo al tipo de compuesto. Por

ejemplo hay esquemas generales para la obtención de alcaloides; sin embargo la diferencia de núcleos químicos, grupos funcionales y por ende polaridad de los mismos, hace que algunos sean solubles en solventes acuosos y otros en solventes orgánicos. En cada caso siempre es interesante investigar los procesos ya publicados en la literatura para ese grupo de sustancias. 13

Selección del solvente

Generalmente se estudian compuestos de polaridad media y rara vez metabolitos solubles en agua. Se debe tener mucha precaución con la selección del disolvente de extracción, éste debe disolver los metabolitos de interés, ser fácil de eliminar, no reaccionar con la muestra, no debe ser muy tóxico, ni fácilmente inflamable. Deben ser destilados antes de ser usados ya que algunos pueden contener plastificantes derivados de los envases y tapas de almacenamiento. El ftalato de diisioctilo es uno de los plastificantes que con mayor frecuencia se encuentra impurificando el cloroformo y metanol, éste es un compuesto muy activo en numerosos ensayos biológicos y puede estar contaminando a compuestos que se destinen a ensayos de bioactividad induciendo a resultados erróneos. 13

Las impurezas diclorometano (CH_2Cl_2) y clorobromometano (CH_2ClBr) contenidas en el cloroformo pueden reaccionar con algunos compuestos tales como los alcaloides brucina, estricnina y efedrina produciendo sales cuaternarias de diferente actividad, la presencia de trazas de ácido clorhídrico (HCl) puede producir descomposiciones, deshidrataciones o isomerizaciones

de ciertos compuestos. Se ha comprobado que el metanol y el etanol en algunas extracciones donde se aplica calor producen derivados metílicos o etílicos no deseados. Se piensa que los solventes polares tienen mayor poder de penetración en los tejidos y paredes celulares y que en consecuencia tienen mayor poder de disolución de compuestos mientras que los solventes menos polares "lavan" principalmente las partes extracelulares. 13

El agua no se utiliza con frecuencia para obtener un extracto crudo sino que se extrae el material con una mezcla acuosa de metanol (80% aproximadamente) y al extracto acuoso resultante, luego de evaporado el metanol, se lo particiona con acetato de etilo y se trabaja con lo obtenido en este último solvente. Un inconveniente que presenta esta técnica es la formación de emulsiones, éstas se pueden eliminar posteriormente por centrifugación o agregado de cloruro de sodio (NaCl). 13

La destilación por arrastre con vapor de agua es ampliamente utilizada para obtener terpenos volátiles o aceites esenciales, sin embargo se ha observado que una caída de pH, a veces hasta 2, se produce cuando se rompen las vacuolas y se producen reacciones no deseadas en compuestos sensibles de este grupo. 13

El éter etílico rara vez se emplea para extraer por su volatilidad, inflamabilidad, toxicidad y tendencia a formar peróxidos. También se utilizan soluciones ácidas o alcalinas para la extracción selectiva de algunos

compuestos, sin embargo se debe tener precaución con el pH de las mezclas para prevenir hidrólisis o reordenamiento de compuestos sensibles. 13

Procesos de Extracción

Los procesos de extracción más simples empleados se dividen de acuerdo al disolvente utilizado en:

- a) extracción con agua: infusión, destilación por arrastre con vapor de agua y decocción,
- b) extracción con solventes orgánicos: maceración, lixiviación (o percolación), extracción por aparato de Soxhlet y por fluido supercrítico.

Es de hacer notar que los procesos de maceración y lixiviación también se pueden realizar con solventes inorgánicos, tales como agua o una solución acidulada, sin embargo en el caso de una maceración por tiempos prolongados con disolventes de este tipo podría inducir a la formación de hongos o hidrólisis naturales.

La selección de uno de ellos dependerá de las características particulares del material a procesar o metabolitos de interés: 13

Métodos de extracción de aceites esenciales

El método a utilizarse para la obtención de los aceites esenciales estará sujeto a la morfología de la especie vegetal, variedad de la especie y porcentaje de rendimiento. Entre los métodos de extracción se consideran a los

siguientes: destilación con vapor de agua, columna de destilación discontinua, hidrodestilación con arrastre de vapor de agua a presión y temperatura controlada, extracción por fluidos supercríticos, extracción por expresión y extracción con solventes orgánicos^{16, 17}.

Rendimiento de aceite esencial

Se realiza con el volumen de destilado del aceite esencial obtenido en la probeta florentino. Por el método gravimétrico volumétrico se determina el Porcentaje de Rendimiento de Aceite Esencial (%RAE) con la siguiente expresión:

$$\%RAE = \text{Vol. AE (mL)} / \text{Pmuestra (g)} \times 100$$

Donde:

Vol. AE: Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

P muestra: Peso de la muestra a destilar en gramos.

El rendimiento de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” fue de 0,03 por ciento v/p

2.2.1.7 Aceites Esenciales

Son mezclas de sustancias orgánicas químicamente constituidas por terpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos que se localizan en determinados órganos de la planta como flores, hojas, frutos; y se les obtienen

por destilación dependiendo del método y la condición del vegetal, destacándose entre ellos el de arrastre con vapor de agua. Son líquidos solubles en solventes orgánicos e insolubles en agua. 18, 19, 20,21.

Terpenos

Los constituyentes que determinan la fragancia de las plantas se pueden aislar en forma de mezclas complejas denominadas: aceites esenciales, aceites volátiles, aceite etéreo o esencias debido a que se evaporan por exposición al aire y a temperatura ambiente. Estos aceites se pueden aislar de flores, frutos u otras partes vegetales. 14

1. Extracción y purificación.

Los aceites volátiles suelen obtenerse por destilación de las partes de la planta que contienen la esencia y el método general depende de la condición del material vegetal. Los métodos de extracción empleados en la industria, principalmente perfumera, y en el laboratorio son los que se explican a continuación: 14

Destilación con agua

Se utiliza cuando los aceites a extraer se alteran por ebullición. La esencia de trementina se obtiene de esta forma para lo cual se introducen en la cámara de destilación astillas de la madera, el exudado de la planta, las agujas del pino, junto con el agua y se calienta hasta que el material volátil (agua y aceite esencial) destilan y luego se condensan en la cámara refrigerante. 14

Destilación con agua y vapor de agua

Se emplea cuando los aceites esenciales contenidos en la droga seca o fresca se alteran por ebullición. Si el material es seco (canela, clavo de olor) se muele previamente, se cubre con una capa de agua para humectarlo y se pasa el vapor generado en una cámara independiente a través de la mezcla macerada. Se evita de esta manera la alteración de la esencia por ebullición directa. Nuevamente el destilado así obtenido es condensado en una cámara refrigerante. 14

Destilación por arrastre con vapor de agua

Se selecciona este proceso cuando se trata de drogas vegetales frescas (menta, hierbabuena). Se cosecha la parte de interés del vegetal y se coloca en la cámara extractora. No es necesario en este caso hacer una extracción previa porque el material no ha perdido la humedad natural. En el balón se coloca agua que se calienta hasta ebullición, el vapor atraviesa por la cámara arrastrando las esencias, un refrigerante condensa el agua y la esencia que se recoge en las ramas colectoras. Siendo el aceite esencial poco soluble en agua éste se separa formando una capa oleosa sobre el agua a su vez que el agua contiene una porción disuelta de la esencia y se conoce como "agua aromática". Utilizando un aparato de destilación continua por arrastre de vapor de agua al extraerse entre 100 a 150 gr. de planta fresca se obtiene un rendimiento de 0,5 a 1 ml de esencia. Cuando éste es muy bajo se agrega éter etílico a las ramas colectoras para retener la esencia y simplificar la

separación. Durante la destilación ciertos componentes de las esencias tienden a hidrolizarse, mientras que otros se descomponen a elevada temperatura. Es por eso que la destilación por vapor directo es ideal dado que permite la máxima difusión posible del vapor de agua a través de las membranas vegetales, reduciendo al mínimo la hidrólisis y la descomposición. 14

Extracción por expresión y método de la escudilla

Algunos aceites volátiles que no se pueden obtener por destilación porque son termosensibles, se extraen por expresión (esencia de bergamota y limón) o bien por otros procesos mecánicos. Un método para obtener las esencias cítricas consiste en hacer rodar el fruto sobre bandejas revestidas de púas de longitud variable apropiada para penetrar la epidermis del fruto y así romper las glándulas oleíferas. Los glóbulos de aceites caen en la bandeja y después se recogen. Esto es conocido como método de la escudilla. 14

"Enfleurage" o "enflorado"

Consiste en extender una capa fina de aceites fijos o grasas especiales inodoras y blandas sobre láminas de vidrio, el material a extraer (p.ej.: pétalos de rosas) se aplica sobre la grasa y se deja algunas horas, luego se retiran y se reemplazan por otros nuevos. 14

Cuando la grasa se satura se extrae con etanol, que disuelve sólo la esencia.

Los anteriores son solamente algunos de los procesos que se pueden utilizar para obtener terpenos, aunque también se debe mencionar que la

extracción con disolventes como éter de petróleo o benceno también se practican, pero la separación de la esencia requerirá de una destilación posterior a la obtención del extracto. 14

Los aceites esenciales se caracterizan por su olor, densidad, índice de refracción y rotación óptica. Para estudios de tipo cualitativo se recurre usualmente a la cromatografía gaseosa. Siendo las esencias una mezcla natural de terpenos, su composición química es variada por lo que no existe una reacción de identificación general para los mismos, aunque se pueden emplear las reacciones de reconocimiento de grupos funcionales tales como las de alcoholes, aldehídos, cetona, fenoles, etc. 14

2.2.2 MICROORGANISMOS DE LA CAVIDAD ORAL

2.2.2.1 Generalidades:

La boca alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable que todavía no ha sido investigado en su totalidad y está lejos de ser comprendido en toda su magnitud. Hasta hace muy poco, la boca se consideraba como un hábitat simple para los microorganismos pero en la actualidad se reconoce que los dientes, el surco gingival, la lengua, otras superficies mucosas y la saliva, todos forman hábitats o sitios diferentes donde los microorganismos se multiplican. Cada zona o hábitat contiene su propia población característica, a menudo, con muchas especies microbianas distintas, las cuales pueden complementarse o competir con otras en la misma

población, por tanto, la flora bucal es una entidad dinámica afectada por numerosos cambios durante la vida del huésped .22

2.2.2.2 Desarrollo de la flora bucal:

Por lo general, la boca del feto á término es estéril, aunque al nacimiento puede adquirir microorganismos transitorios a partir de la vagina. La boca del niño recién nacido adquiere microorganismos con rapidez, de la madre y también del ambiente.

Pueden aislarse varias especies de estreptococos y estafilococos, junto con coliformes, lactobacilos, especies Bacilos, especie Neisseria y levaduras. La selectividad de la boca como un entorno se demuestra aún en este momento, ya que la mayor parte de los organismos introducidos no logra establecerse. El más común, que se aísla de la boca de los recién nacidos, es el *Streptococcus salivarius* y junto con el *staphylococcus albus*, la especie *Neisseria* y la *Veillonella* forman el conglomerado inicial. En ocasiones, *Candida albicans* se multiplica con rapidez en la boca y el pH bajo que se produce impide el crecimiento normal de otros comensales. Una proliferación excesiva de levaduras produce que se conoce como "afta bucal". 22

Infancia y niñez:

El lactante se pone en contacto con una variedad siempre creciente de microorganismos, algunos de los cuales se establecerán como parte de la flora común del individuo. Los microorganismos comensales de otros sitios del

cuerpo y los del ambiente, pueden existir también en la cavidad bucal y algunos se quedarán ahí. La erupción de los dientes temporales proporciona una superficie diferente para la adherencia microbiana y esto se caracteriza por la aparición del *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans* como habitantes regulares de la cavidad bucal. Con el aumento en el número de dientes y los cambios en la alimentación se modificarán las proporciones globales de los microorganismos. Unos cuantos anaerobios llegan a establecerse pero como el surco gingival no es profundo, su número permanece pequeño. Habitualmente se encuentran actinomicetos, lactobacilos y *Rothia*. 22

Adolescencia:

Quizá el incremento mayor en el número de microorganismos en la boca se produce cuando hacen erupción los dientes permanentes. Estos tienen fisuras profundas en su superficie lo que hace que sean difíciles de desalojar. Los espacios interproximales son mucho mayores que en la dentición temporal pues los dientes tienen un "cuello" más pronunciado en la unión amelocementaria. El surco gingival es más profundo que en los dientes temporales y permite un incremento mayor en los microorganismos anaerobios. La especie *Bacteroides* queda fijada en cantidad abundante, así como las especies *Leptotrichia* y *Fusobacterium* y las espiroquetas. Las lesiones de la caries dental crearán un ambiente nuevo en el cual surgirán algunos microorganismos, en especial, estreptococos. En términos ecológicos

la flora del final de la adolescencia y el principio de la edad adulta, antes de la pérdida de los dientes, es el clímax del conglomerado microbiano. 22

Edad adulta:

Se considera que la complejidad de la flora bucal del adulto es quizá su característica principal. Puede haber cantidades variables de placa dental y el grado de enfermedad periodontal crónica estará en relación al número y tipos de microorganismos encontrados. Las lesiones cariosas y las restauraciones poco satisfactorias, propiciarán ambientes para acumulaciones locales de bacterias. La mayoría de los estudios de la flora bucal del adulto, muestra que existen variaciones considerables entre los individuos, en el número total de bacterias y en las proporciones de muchas de las especies; de hecho puede haber variación en un mismo individuo si se toman muestras en diferentes momentos. 22

De acuerdo con las tendencias observadas en el adolescente hay un incremento en la especie *Bacteroides* y las espiroquetas con el avance de la enfermedad periodontal y la madurez de la placa dental. La placa superficial contiene numerosos estreptococos, principalmente *Streptococcus mutans* y *S. sanguis*. También se aíslan con regularidad actinomicetos y otros filamentos grampositivos y gramnegativos de posición taxonómica incierta. Conforme los dientes se pierden, el número de sitios disponibles para la colonización microbiana disminuye; se reduce la cantidad de bacterias y varias especies disminuyen en cantidades desproporcionadas. Los individuos edéntulos albergan pocas espiroquetas y bacteroides pero aumenta el número, de

levaduras. Normalmente las levaduras se localizan en el dorso de la lengua y en el surco bucal superior. Las dentaduras postizas proporcionan un medio protegido en el cual las levaduras pueden multiplicarse y cubrir el paladar duro y la superficie acrílica de la prótesis dental. 22

Factores que alteran el desarrollo de la flora bucal:

Para que un microorganismo se establezca en la boca, debe

- 1) introducirse.
- 2) ser retenido.
- 3) ser capaz de multiplicarse en las condiciones existentes en la boca.

Introducción:

Aunque desde el nacimiento se introducen en la boca una extensa variedad de microorganismos, sólo ciertas especies son capaces de establecerse en ella. Muchos de estos organismos tienden a ubicarse en sitios particulares como labios, dorso de la lengua, paladar duro, otros tejidos blandos, surco gingival o dientes. 22

Retención:

La retención de los microorganismos, por lo general, está confinada a un sitio particular en la boca, probablemente como consecuencia de la interacción, a menudo compleja de los mecanismos de retención y desprendimiento. 22

Adherencia:

Algunas bacterias tienen la habilidad de adherirse a los tejidos blandos; *Streptococcus salivarius* puede adherirse a la mucosa del dorso de la lengua y también a otros tejidos blandos. Otros, en particular *Streptococcus mutans* y *sanguis*, se adhieren al esmalte debido a la producción de polisacárido

extracelular por la bacteria. Es probable que algunos actinomicetos bucales se adhieran por medio de un mecanismo hialurónico mediado por ácidos. Otras bacterias pueden pegarse simplemente a la matriz extracelular producida por otros. Las bacterias que se adhieren débilmente como la especie *Veillonella* se alojan en defectos del esmalte, fisuras oclusales y fóselas donde se protegen de las fuerzas de desprendimiento. 22

- Sitios protegidos:

Además de lo anterior, la matriz adherente de la placa dental proporcionará un ambiente protegido para las bacterias que no poseen mecanismo alguno de adherencia. No obstante, el sitio protegido de mayor tamaño es el surco gingival donde especies como *Bacteroides melaninogenicus* y las espiroquetas, pueden sobrevivir.22

- Fuerzas de desprendimiento:

Estas incluyen el flujo salival, el movimiento de la lengua y de los tejidos blandos y la acción abrasiva de los alimentos. La circulación del líquido del surco gingival y la fagocitosis en el surco también sirven para eliminar bacterias. 22

Multiplicación:

Para permanecer como parte de la flora bucal, un microorganismo debe ser capaz de multiplicarse en el sitio particular en que puede ser retenido. Este fenómeno depende de cierto número de factores. 22

- Disponibilidad de sustratos:

Para que las bacterias puedan proliferar, deben ser capaces de metabolizar los sustratos disponibles de la dieta o en los productos metabólicos de otros microorganismos que están en el mismo sitio o en uno próximo. El consumo abundante de carbohidratos en la alimentación tiene probablemente los efectos más importantes en el número creciente de bacterias bucales, en particular estreptococos. pH: El metabolismo de los organismos depende con frecuencia del pH y las bacterias inhibidas por el pH bajo no pueden sobrevivir en las condiciones ácidas de la placa dental o bajo la base de una dentadura postiza. *Bacteroides melaninogenicus* y la especie *Veillonella* no toleran un pH menor de 5.5 aproximadamente, pero la especie *Lactobacillus* y *Candida albicans* pueden tolerar proporciones muy bajas de pH. 22

- Oxidación o reducción en el medio circundante:

El potencial de oxidación-reducción (.Eh) del sitio es con frecuencia importante para determinar la naturaleza de la flora en ese lugar. Los organismos anaerobios como bacteroides, fusobacterias, espiroquetas y algunos actinomicetos sólo se desarrollarán en ambientes reductores. Los requerimientos para la reducción son variados; actinomicetos, la especie *Capnocytophaga* y la especie *Campylobacter* toleran un ambiente con menor reducción que el exigido por la especie *Bacteroides*, las fusobacterias y en especial las espiroquetas. Un potencial bajo de oxidación-reducción sólo puede lograrse con facilidad en el surco gingival y en la capa más profunda de la

placa dental. De aquí se infiere la explicación del porqué las bacterias anaerobias están confinadas a esos sitios. 22

- Interacciones microbianas:

La complejidad de las comunidades de microorganismos es resultado de cierto número de interacciones microbianas. Algunas son nutricionales como el proveer ácido paraaminobenzoico el *Streptococcus sanguis* para el *Streptococcus mutans* en ambiente reductor; el aporte de vitamina K por varios microorganismos para *Bacteroides melaninogenicus*, que a su vez produce formato para el *Campylobacter spulorum*. Las espiroquetas dependen de varios factores producidos por Otras tantas bacterias, lo que quizá indica por qué estos microorganismos sólo pueden establecerse en los surcos gingivales después de que el resto de la flora normal se ha desarrollado. Algunas interacciones son más nocivas que benéficas para una especie secundaria; por ejemplo, la producción de peróxido de hidrógeno por *Streptococcus sanguis* inhibe a otros muchos estreptococos y anaerobios. Las sustancias inhibidoras denominadas bacteriocinas, que actúan sobre diferentes cepas de la misma especie o de especies relacionadas, se han observado entre los estreptococos bucales y la especie *Bacteroides*. La inhibición de un microorganismo por otro, puede dar como resultado un sitio vacante adyacente que puede ser colonizado por el primer microorganismo que logre proliferar. La competencia por ocupar todos los sitios disponibles en la boca confiere a la flora normal su naturaleza dinámica pero también beneficia al huésped al ayudarlo a impedir el establecimiento de un patógeno cualquiera que intente introducirse. 22

2.2.2.4 FLORA MICROBIANA EN LA CAVIDAD ORAL:

Labios:

En los labios hay una transición de piel a mucosa bucal y existen también cambios en la población bacteriana. Predominan el *Staphylococcus albus* y los micrococos cutáneos con cantidades abundantes de estreptococos típicos de la boca. Si las comisuras de la boca se humedecen con la saliva, puede desarrollarse una quelitis angular de cuyo raspado es posible cultivar *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* .23

Mejilla:

Los resultados de los estudios varían uno de otro. Pero la bacteria predominante en la parte interior de la mejilla es el *Streptococcus miliar*: le siguen en frecuencia *Streptococcus sanguis* y *salivarius*. Es posible aislar levaduras de los portadores y otros microorganismos presentes en la saliva deberán ser lavados de la superficie de la mejilla, pueden además, ser retenidos por algún tiempo, por ejemplo *Haemophilus influenzae* y la especie *Neisseria* . 23

Paladar:

El paladar duro presenta una flora estreptocócica semejante a la de la mejilla. Los hemofilos se encuentran con regularidad y los lactobacilos son comunes. Los escasos anaerobios encontrados sobre membranas expuestas es casi seguro que no proliferan. Las levaduras y los lactobacilos aumentarán en forma muy importante en algunas personas que utilizan dentaduras postizas

y la flora puede alterarse mucho cuando el paladar es protegido de la acción de la lengua y la saliva por la base de una prótesis. El paladar blando albergará bacterias de las vías respiratorias como Haemophilus, Corynebacterium, Neisseria y Branhamella. Los portadores de estreptococos B- hemolíticos con frecuencia tendrán los microorganismos en la úvula y en los pliegues palatogloso y palatofaríngeo. 23

Lengua:

La superficie dorsal queratinizada de la lengua es un sitio ideal para la retención de microorganismos. Aunque varía el número de Streptococcus salivarius, es el microorganismo predominante y representa 20-50% de la flora cultivable total. Streptococcus mitis también es común y la especie Haemophilus ha sido aislada con regularidad. El dorso de la lengua es colonizado a menudo, con cantidades pequeñas de Candida albicans. El Micrococcus mucilaginosus es un microorganismo raro que semeja un estafilococo pero produce una sustancia mucosa extracelular que puede explicar su retención sobre la lengua. El microorganismo representa 3-4% de la flora cultivable en la mayoría de los individuos y se aísla únicamente del dorso de la lengua. 23

Surco gingival:

La población bacteriana del surco gingival es quizá la más numerosa en toda la boca, con 1000-1011 microorganismos por gramo de peso húmedo de detritus gingivales. Se han hecho innumerables estudios de esta estructura

muy relacionados con trabajos acerca de la placa dental, supra o subgingival. El surco gingival tiene una relativa protección de las fuerzas que desalojan a las bacterias; no obstante, el líquido crevicular en el surco proporciona un medio rico en nutrientes que permite que proliferen algunos de los microorganismos más delicados. El número exacto y las proporciones de los diversos microorganismos presentes en el surco gingival varían con las diferentes muestras y técnicas de cultivo. 23

Dientes:

Todos los dientes tienen microorganismos adheridos, usualmente en depósitos denominados placa dental. Las fuerzas para desalojar bacterias, tales como los alimentos, la saliva y los tejidos blandos, tienden a remover esta placa de las superficies lisas del esmalte, o bien, de áreas linguales palatinas y bucales. Estos depósitos bacterianos se forman inicialmente como sigue: En las fisuras y fóselas oclusales., En defectos del esmalte, En los espacios interproximales, Cerca del borde gingival.

La cuenta viable de la placa dental sólo representa una proporción de la cuenta total. La variación en la composición de la placa es amplia, pero los estreptococos bucales, los bacilos, filamentos grampositivos y algunos anaerobios gramnegativos siempre están presentes. 23

Saliva:

Los microorganismos que forman lo que se denomina flora de la saliva son todos los que se han desprendido de los sitios diversos de la cavidad bucal

en donde se han asentado poblaciones bacterianas (piezas dentarias, lengua, mucosa de los carrillos y membranas mucosas de la faringe;.14 La saliva del ser humano tiene aproximadamente 6000 millones (6×10^9) de bacterias por mililitro, entre las cuales están streptococos, peptostreptococos, Veillonella, Corynebacterium. Neisseria, Nocardia, Fusobacterium. Bacteroides, lactobacilos, Actinomyces, espiroquetas, levaduras, protozoarios y otras. Aunque se han realizado muchas investigaciones relacionadas con la flora bucal utilizando la saliva como substitutivo de la placa dentaria, las muestras de saliva no deben usarse para decidir los tipos y cantidades de bacterias de cada territorio de la cavidad bucal. 23

Las investigaciones realizadas para conocer la posible fuente de bacterias en la saliva indican que *S. salivarius* comprende 47% de los estreptococos facultativos presentes en la saliva, 21 a 55% de los estreptococos facultativos de la lengua y 10% de los estreptococos facultativos de la mucosa de los carrillos. Esa bacteria constituye menos de 1 % de los estreptococos facultativos en la placa y en los surcos gingivales. No se considera que la placa dentaria sea una fuente de *S. salivarius* que se recupera de la saliva. Aunque se supone que *S. Sanguis* es el estreptococo dominante de la placa dentaria recién formada en las piezas dentarias, constituye sólo una insignificante porción de la flora de otros sitios de la cavidad bucal. Por tanto, la placa dentaria no es el contribuyente más importante de la flora de la saliva. Para saber si el material de los surcos gingivales puede ser la fuente de las bacterias de la saliva. el estudio de *B. milaninogenicus* muestra que este microorganismo representa 5% o menos,

del total de bacterias cultivables obtenidas de surcos gingivales; esto significa menos de 1 % de los aislamientos de la placa, carrillo y lengua, y también menos de 1 %; de las bacterias de la saliva. Esos datos indican que los surcos gingivales no son la fuente más importante de las bacterias de la saliva. Por tanto, el origen de las bacterias de la saliva parece ser la lengua. 23

2.2.2.5. Streptococcus del grupo mutans

En 1924, Clarke aisló ciertos microorganismos a partir de caries de dentina a los que llamó estreptococos mutantes, debido a que con la coloración Gram se observaban de forma más ovalada que redondeada, que es la forma típica de los estreptococos, por lo que él consideró que estas bacterias eran mutantes a éste género.²³

Su principal hábitat es la superficie dentaria del hombre, pero también pueden ser identificados en las fauces. Su presencia en placa bacteriana se ve favorecida por el alto nivel de sacarosa de la dieta.²³

Desde el punto de vista estructural, no difieren del modelo general de todos los estreptococos, salvo en la ausencia de cápsula, polisacárido C, complejos fibrilares y las fimbrias que cuando existen, no son muy prominentes. Por el contrario, en la pared destacan proteínas dotadas de diversas funciones, y polisacáridos, distintos del C. Estos polisacáridos muestran distintas especificidades antigénicas, lo que permite distinguir los serotipos a, b, c, d, e, f, g y h.²³

Los Streptococcus del grupo mutans son acidogénicos, por lo cual sobreviven y se desarrollan a un pH bajo, y acidúricos o capaces de seguir

produciendo ácido en un pH bajo. Estas especies bacterianas consiguen alcanzar rápidamente el pH crítico necesario para iniciar el proceso de desmineralización. El potencial acidogénico acidúrico es importante en su virulencia. Este microorganismo produce ácido láctico a partir de la sacarosa y otros hidratos de carbono con mayor rapidez que otras bacterias bucales. El ácido láctico es fundamental en la virulencia, debido a que es el ácido más potente que interviene en la desmineralización del diente.²³

a) Clasificación

Los S. del grupo mutans son genéticamente heterogéneos y pueden ser divididos en distintos tipos. Esto ha sido posible por medio del estudio de estructuras antigénicas que permiten reconocer hasta 8 serotipos, designados por letras que van de la a **a** la **h**. Esta subdivisión puede ser confirmada por otras investigaciones, tales como el análisis de la pared celular, electroforesis en gel de poliacrilamida o proteínas a partir de células completas, exámenes de las bases de ADN (porcentaje de guanina-citosina) y estudios de hibridación del ADN. ²³

En estos serotipos es posible detectar ciertas diferencias fisiológicas, como fermentación e hidrolización de azúcares. Esto permite suponer que algunos de estos serotipos pueden ser considerados en otras subespecies o especies.

El *Streptococcus mutans* puede ser asimilado por los serotipos c, e, f mientras los restantes han sido ubicados en las siguientes especies:

Streptococcus cricetus (serotipo a)

Streptococcus rattus (serotipo b)

Streptococcus sobrinus (serotipos *d* y *g*)

Streptococcus ferus (serotipo *c*)

Streptococcus macacae (serotipo *h*)

Streptococcus downei (serotipo *h*)

Se sabe que estas distintas especies o serotipos varían en diferentes partes del mundo. El serotipo *c* es común en Europa y América del Norte, mientras que el serotipo *b* es frecuente en África del Norte. La razón de estas variaciones se desconoce. Además, no todos los serotipos son igualmente efectivos en la producción de caries dental en animales de laboratorio. ²³

En el grupo del estreptococo *mutans*, la especie más prevalente en el mundo es la descrita originariamente como *S.mutans* (serotipos *c*, *e* y *f*). Estos microorganismos se encuentran en un nivel del 90% en los portadores de *S.* del grupo *mutans*. ²³

La especie *S. sobrinus* (serotipos *d* y *g*) aparece con menor frecuencia (entre el 7-35%) en esta población. Las otras especies que comprenden el grupo *mutans*, *S.rattus*, *S.cricetus*, *S.ferus* y *S.macacae*, muy rara vez han sido aisladas en seres humanos.²³

Los *S. mutans* pueden sintetizar polímeros extracelulares solubles (dextranos y fructanos) e insolubles (mutanos) a partir de la sacarosa. Los polímeros insolubles desempeñan un papel fundamental en la adhesión del *S. mutans* a la superficie dentaria.²³

b) Metabolismo de la Sacarosa

El sustrato más importante para estos microorganismos, con respecto a su papel como agente etiológico de la caries, es la sacarosa. De su

metabolización deriva la producción de ácidos y la síntesis de polisacáridos extra e intracelulares.²⁴

En presencia de sacarosa el *S. mutans* produce un glucano extracelular, polímero de la glucosa, que le permite establecerse sobre las superficies dentarias y formar una placa adhesiva sumamente cariogénica. El *S. mutans* es acidogénico y acidúrico, y éste es el aspecto más importante de su probable potencial cariogénico.²⁴

Sólo una pequeña parte de la sacarosa es derivada para la formación de polisacáridos extra e intracelulares; la mayor parte de ella se emplea como fuente energética para el desarrollo de estos estreptococos.²³

c) Cultivo

Son anaerobios facultativos. La temperatura óptima de desarrollo es de $36 + 1^{\circ}$ C. Aunque pueden multiplicarse al aire, una práctica aconsejable consiste en incubar las placas inoculadas 24 horas en anaerobiosis y, posteriormente, otras 24 horas en aerobiosis; esto favorece la formación de agua oxigenada, que es un importante carácter diferencial y, en parte, la síntesis de polisacáridos extracelulares que, en algunos casos, pueden facilitar el reconocimiento de las colonias.²⁴

En agar sangre carnero son a y g₋ hemolíticos, con excepción de algunas cepas de *S. mutans* que son b hemolíticas. Como medio poco selectivo puede utilizarse MSA (mitis salivarius agar) que contiene un 5 por 100 de sacarosa y como sustancias inhibidoras, telurito potásico, azul tripán y cristal violeta.

Como medio más selectivo, el usado habitualmente es MSB (mitis salivarius -bacitracina), que es MSA al que se le añade 0,2 U/ml de bacitracina y 15 gramos más de sacarosa por 100. Este medio está considerado, por algunos autores como un inhibidor del serotipo a (*S.cricetus*); pese a que esta especie es poco frecuente en la cavidad oral humana.²⁴

Se han desarrollado otros medios de cultivo que no tienen este hipotético inconveniente, como es el caso del agar TYCSB (con tripticasa, extracto de levadura, cisteína, sacarosa y bacitracina).²⁴

Las colonias en MSA y MSB miden entre 0.5 – 1.0 mm aparecen elevadas, convexas, onduladas, opacas de color azul oscuro, con márgenes irregulares, superficie granular, más o menos adheridas y con una burbuja de color brillante rodeándolas cuando producen polisacáridos extracelulares.²⁴

Sin embargo, tanto en estos medios como en el Agar TYCSB, el aspecto de las colonias puede variar mucho no sólo entre las especies, sino también entre cepas de la misma especie, este hecho a menudo dificulta su reconocimiento.²⁴

d. Colonización Inicial por *Streptococcus mutans*

En 1980, Berkowitz et al manifestaron que la contaminación de la boca del infante por *S.mutans* ocurre con mayor efectividad después de los 12 meses de edad.⁵ Años después, Caufield et al en 1993 informaron que esto ocurre en mayor medida a una edad promedio de 26 meses. Otros autores como Mohan et al, en 1998 encontraron una mayor colonización de *S. mutans* a partir de los 14 meses de vida; mientras que, Mattos - Granner y col, en el 2001 encontraron en la población brasileña una mayor prevalencia de *S.*

mutans en el 70.8% de niños entre 12 y 19 meses de edad, demostrando también que es un factor de riesgo y que de acuerdo con los hábitos, costumbres y grado de contaminación cariogénica de la familia, el riesgo será mayor o menor. Sin embargo, estudios clínicos más recientes han demostrado que los *S. mutans* pueden colonizar la boca de los infantes predestados. Los surcos de la lengua parecen ser el nicho ecológico más importante. Tanner y col 23 utilizando pruebas de ADN reportaron que los *S. mutans* fueron encontrados en 55% de las muestras de placa bacteriana y en el 70% de las muestras de saliva tomadas por medio de un raspado de lengua, en niños entre los 6 y 18 meses. Estos estudios señalan que los *S. mutans* no necesitan una superficie dura en la cavidad oral para su colonización.²⁴

e. Asociación entre Caries dental y *Streptococcus mutans*

La caries dental ha sido definida como un estado dinámico de desmineralización - remineralización que se produce como resultado del metabolismo bacteriano sobre la superficie dentaria y que con el avance del tiempo determina la pérdida de mineral y eventualmente, la aparición de una cavidad.²⁴

Numerosos estudios han demostrado que el *S. mutans* está relacionado con la placa cariogénica. En la saliva hay un aumento significativo de estos microorganismos antes de la formación de la caries dental. Debido a su relación con la caries dental, la evaluación de la concentración de *S. mutans* en placa y saliva puede ayudar al diagnóstico de la actividad de caries. ²⁴

Se observa en varios estudios que la prevalencia de caries dental va en aumento con la edad. En los niños menores de 12 meses está por debajo del

10%; asimismo, alrededor de los 36 meses está en el 50%.¹⁰ Cuanto más precoz ocurre la colonización por *S. mutans* mayor es la posibilidad de desarrollo cariogénico. Grindefjord et al⁸ en 1995, halló que el riesgo para desarrollar caries dental es 4.3 veces mayor en los infantes colonizados por *S. mutans* en el primer año de vida. ²⁴

En un estudio longitudinal Kohler ; Andreen en 1994, expresaron que todos los niños colonizados por *S. mutans* antes de los dos años de edad, tenían lesiones de caries a los 7 años de edad . ²⁴

2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se reconoce al *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de ésta bacteria en la cavidad oral. En tal sentido, el uso de antimicrobianos y antisépticos, principalmente de uso tópico o local, se ha hecho conjuntamente con las técnicas de cepillado para lograr la eliminación de la placa dentobacteriana. Actualmente, las plantas medicinales recuperan parte del protagonismo que tuvieron en los primeros tratamientos médicos, ocurriendo un nuevo auge de las aplicaciones terapéuticas de las plantas. Un ejemplo de esto, es el aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla" el cual tiene múltiples beneficios médicos bien conocidos : digestiva, carminativa, sedante, tónica, vasodilatadora y antiespasmódica entre otros (1), pero su posible uso como bacteriostático de la principal bacteria implicada en la formación de placa dentobacteriana, no reúne mayores referencias.

Formulación del Problema

¿Cuál es la actividad inhibitoria del crecimiento de flora mixta salival, cepas aisladas del grupo mutans de la flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla" a diferentes concentraciones?

2.4 JUSTIFICACIÓN

La medicina natural aunque ha sido utilizada como tratamiento médico general desde hace muchos años, es muy poco conocida como posible aporte al ámbito Odontológico. Al respecto, existen investigaciones para estudiar el comportamiento de ciertos compuestos de origen vegetal sobre flora mixta salival y bacterias de *Streptococcus mutans*, entre las que se pueden señalar las realizadas con aceite esencial de *Camellia sinensis* "Te verde" y extracto etanólico de Propóleo, Con el aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* "manzanilla" ocurre algo similar, sus múltiples beneficios médicos son bien conocidos se le han atribuido propiedades antiinflamatorias y antisépticas pero su posible uso como bacteriostático de la principal bacteria implicada en la formación de placa dentobacteriana, no reúne mayores referencias; he allí donde se pretende consolidar este aporte a la investigación y por ende al medio Odontológico. Dada la escasez de investigaciones científicas en el área temática, fortalece el valor del trabajo propuesto. De esta manera, la presente investigación podrá brindar una alternativa de elección en la inhibición de placa dentobacteriana y por consiguiente una alternativa en la prevención y tratamiento de las patologías mas frecuentes de la cavidad bucal.

2.5 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.5.1 Objetivo General

Determinar la actividad inhibitoria del crecimiento de flora mixta salival, cepas aisladas del grupo *mutans* de la flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175™ del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* “manzanilla” a diferentes concentraciones.

2.5.2 Objetivos Específicos.

- Medir el halo de inhibición de crecimiento bacteriano "in vitro" de la flora mixta salival. en los discos a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* “Manzanilla”.
- Medir el halo de inhibición de crecimiento bacteriano "in vitro" de cepas aisladas del grupo *mutans* de la flora mixta salival en los discos a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* “Manzanilla”.
- Medir el halo de inhibición de crecimiento bacteriano "in vitro" de la cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175™ en los discos a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “Manzanilla”.
- Comparar los resultados obtenidos de la determinación del efecto inhibitorio del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en sus diferentes concentraciones sobre los cultivos microbianos de *flora mixta salival*, *cepa aislada de grupo mutans de flora mixta salival* y *cepa patrón de Streptococcus mutans* ATCC®25175™.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación se realizó con un diseño de tipo cuasi experimental, in vitro, prospectivo y transversal.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población estuvo conformada por pacientes de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La técnica de muestreo fue no probabilística por conveniencia y estuvo conformada por 15 pacientes de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. En los cuales se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- * Niños de ambos géneros entre 3 a 6 años de edad
- * Niños con dentición decidua completa con presencia de caries
- * Niños con dentición mixta con presencia de caries
- * Niños que tuvieron un índice de CPO de cero a tres.
- * Niños con aparente buen estado de salud general

Unidad muestral:

- * Saliva de niños.
- * Cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175™.

Unidad de análisis:

- * Cultivos bacterianos de *Flora mixta salival*.
- * Cultivos *Streptococcus mutans*.

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Independiente:

Concentración del aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* “manzanilla”

Variable Dependiente:

Inhibición del crecimiento bacteriano del aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* “manzanilla”

Variables de control:

Control positivo: Clorhexidina 0.12%

Variable Independiente	Definición	Indicadores	Escala	Categorías
Concentración del aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	porcentaje del aceite esencial de <i>Matricaria Chamomilla</i> “manzanilla”	Porcentajes de disolución del aceite esencial <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	Nominal	25%
				50%
				100%

Variable dependiente	Definición	Indicadores	Escala	Categorías
Inhibición de crecimiento bacteriano del aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	Es la inhibición en el crecimiento de las bacterias debido a la presencia del aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	Tamaño del halo de inhibición formado alrededor del disco embebido con el aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”	Razón	0 – 25 mm

Variable interviniente	Definición	Indicadores	Escala	Categorías
Bacterias Orales	Bacterias que desarrollan en el ecosistema de la cavidad bucal	Crecimiento bacteriano	Flora mixta salival Cepa aislada del grupo <i>mutans</i> Cepa patrón de <i>streptococcus mutans</i>	cualitativa nominal

3.4 DISEÑO METODOLOGICO

▪ Recursos Ambientales:

Para el presente trabajo de investigación se contó con las siguientes

Facilidades:

- * Apoyo de la Unidad de Postgrado de la Facultad de Farmacia Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- * Apoyo del Laboratorio de Farmacotécnica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- * Apoyo de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- * Apoyo para la realización del trabajo por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

▪ Recursos Materiales:

Materiales de diagnóstico odontológico.

- espejos bucales.
- exploradores.
- pinzas.

Materiales y equipos microbiológicos:

- Jeringa hipodérmica de 5 ml
- Alcohol 70%
- Clorhexidina 0.12%
- Agua destilada.
- Suero fisiológico.

- Tubos de ensayo con tapa hermética.
- Caja aislante de temperatura para el transporte de las muestras.
- Placas Petri.
- Agar tripticasa soya (TSA)
- Agar mitis salivarius (AMS)+ bacitracina
- Autoclave.
- Pipetas automáticas.
- Estufa de incubación.
- Regla milimetrada.

Otros:

- Fichas de recolección de datos y lápices.
- Computadora.
- Programa estadístico SPSS.
- Impresiones.
- Anillados y empastados.

▪ **Recursos Humanos:**

- Químico-Farmacéutico.
- Microbiólogo.
- Operador de estadística.
- Digitador.

3.4.1 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS:

Obtención del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”:

La obtención del aceite esencial se efectuó con el método por arrastre de vapor de agua. Esta técnica resulta una de las más simples y económicas para obtener el aceite esencial de este tipo de planta y en general para cualquier otro.

Las ventajas de este método son su simplicidad, bajo costo y el hecho de poder maniobrar grandes volúmenes de materia prima.

Este método se fundamenta en que los aceites esenciales son arrastrados por la corriente de vapor de agua que se genera en la fuente de vapor, luego esta mezcla (vapor de agua y aceite) es condensada mediante su paso por un refrigerante de vidrio, para luego separar el aceite del agua por simple diferencia de densidades.

Se recolectaron 10 kg de flores frescas de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”. Los cuales fueron conservados a temperatura ambiente sin desecar, exponer al sol o lavarlos hasta el momento de la extracción del aceite esencial.

Se procedió a colocar 5kg de flores con 2 litros de agua, y esta mezcla depositada en un balón de fondo plano, para luego ser sometidas al proceso de hidrodestilación por arrastre en vapor de agua, durante 4 horas. Obteniéndose aproximadamente 3 ml del aceite esencial por cada destilación aproximadamente.

Obtención de la muestra salival:

La muestra se obtuvo directamente de la cavidad bucal por aspiración, con una jeringa hipodérmica de 5 ml obteniéndose una muestra de 2 ml de saliva por persona, tratando de obtenerla en un solo intento, para evitar la contaminación.

Prueba de la Acción antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” frente flora mixta salival.

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar con un hisopo 200ul. de la muestra salival en 5 placas que contienen agar TSA.

Con pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa 1 disco con 10 ul de clorhexidina 0.12%, 1 disco de papel de filtro con 10 ul de agua destilada y 3 discos de papel de filtro con 10 ul del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en las concentraciones 25%, 50% y 100%

Las 5 placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis y llevadas a incubar a 37° C por un periodo de 48 a 72 horas.

Se procedió a la lectura de las medidas de los halos de inhibición, con la ayuda del pie de rey o calibrador.

Aislamiento de *Streptococcus* del grupo *mutans*:

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar las muestras de saliva en Agar Mitis Salivarius más bacitracina, las placas fueron llevadas a incubar en condiciones de anaerobiosis utilizando el método de la vela por un periodo de 48 a 72 horas.

Transcurrido el tiempo se escogió las colonias con las siguientes características: pequeña 0.5mm, convexa, zoogleica de color azul oscuro.

Se realizó la coloración Gram y se procedió a observar la morfología bacteriana al microscopio óptico.

Estandarización de la cepa aislada de *Streptococcus* del grupo *mutans*:

La estandarización de la cepa fue según escala de Mc Farland 0.5, para lo cual se utilizó un inóculo de colonias aisladas de *Streptococcus* del grupo *mutans* según las características mencionadas, en 2 ml de suero fisiológico hasta obtener la misma turbidez de la escala de Mc Farland 0.5.

Prueba de la Acción antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” frente a cepa aislada de *Streptococcus* del grupo *mutans*:

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar con un hisopo el inóculo bacteriano en 5 placas con agar TSA.

Con pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa 1 disco con 10 ul de clorhexidina 0.12%, 1 disco de papel de filtro con 10 ul de agua destilada y 3 discos de papel de filtro con 10 ul del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en las concentraciones 25%, 50% y 100%

Las 5 placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis y llevadas a incubar a 37° C por un periodo de 48 a 72 horas.

Se procedió a la lectura de las medidas de los halos de inhibición, con la ayuda del pie de rey o calibrador.

Cepas bacterianas para el estudio:

Se trabajó con cepas estándar ATCC (American Type Culture Collection) *Streptococcus mutans* ATCC®25175™

Crecimiento de cepas bacterianas estándares:

Streptococcus mutans: crece a 37°C en Agar sangre (5 % de sangre de carnero)

Reconstitución de las cepas estándar *Streptococcus mutans* ATCC®25175™:

Para viabilizar esta cepa bacteriana se utilizó un frasco con caldo de Tioglicolato. Se llevó a la incubadora a 37°C por el lapso de 24 a 48 horas. Al cabo de las 48 horas se realizó un repicaje con este inóculo en una placa con agar sangre, llevándose nuevamente a incubar por 24 horas.

Estandarización de la cepa patrón *Streptococcus mutans*:

La estandarización de la cepa fue según escala de Mc Farland 0.5, para lo cual se utilizó un inóculo de colonias de *Streptococcus mutans* en 2 ml de suero fisiológico hasta obtener la misma turbidez que el patrón de Mc Farland 0.5.

Prueba de la Acción antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” frente a cepa patrón de *Streptococcus mutans*:

Bajo condiciones estériles se procedió a sembrar con un hisopo el inóculo bacteriano en 5 placas que contienen agar TSA.

Con pinzas estériles se procedió a colocar en cada placa 1 disco con 10 ul de clorhexidina 0.12%, 1 disco de papel de filtro con 10 ul de agua destilada y 3 discos de papel de filtro con 10 ul del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en las concentraciones 25%, 50% y 100%.

Las 5 placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis y llevadas a incubar a 37° C por un periodo de 48 a 72 horas.

Se procedió a la lectura de las medidas de los halos de inhibición, con la ayuda del pie de rey o calibrador.

3.4.2 RECOLECCIÓN DE DATOS:

El presente trabajo utilizó un instrumento (ver anexos N 02 y 03) que fue llenado por el investigador. El instrumento tuvo la siguiente característica:

Tuvo la función de recolectar y registrar los datos sobre la medida individual de los halos en mm, formados en cada uno los discos embebidos con el aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” presentes en las placas sembradas.

A las 48 horas de haber realizado la siembra se procedió a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección, tomando en cuenta:

1. Identificación de la muestra.
2. Identificación de la concentración utilizada
3. Medida en milímetros del halo de inhibición formado.

3.4.3 PROCESAMIENTO DE RESULTADOS

Los datos obtenidos de la ficha de recolección de datos fueron procesados por un computador PENTIUM IV, mediante el programa estadístico Spss 15.0 versión en español y la base de datos Excel. Los resultados que se obtengan serán presentados en cuadros y gráficos de acuerdo con los objetivos señalados.

IV. RESULTADOS

CUADRO N°1. Actividad inhibitoria sobre flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

SOLUCIONES	Halos de inhibición de crecimiento sobre flora mixta salival														Total n	media
	7mm		8mm		9mm		10mm		15mm		18mm		20mm			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
concentración 25%	2	40.0%	3	60.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	7.6
concentración a 50%	3	60.0%	2	40.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	7.4
concentración a 100%	0	.0%	1	20.0%	1	20.0%	3	60.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	9.4
CH	0	0%	0	0%	0	.0%	0	.0%	1	20.0%	3	60.0%	1	20.0%	5	17.8

En los halos de inhibición para la concentración del 25% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 8mm con una media de 7.6, para la concentración del 50% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 7mm con una media de 7.4, para la concentración del 100% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 10mm con una media de 9.4; mientras que para el grupo control clorhexidina 0.12%(CH) se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 18mm con una media de 17.8

CUADRO N°2. Medidas estadísticas de la actividad inhibitoria sobre flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

Flora mixta salival	<i>Estadísticas descriptivas</i>							Anova	Prueba de tukey			
	Media	Mediana	Moda	SD	Mínimo	Máximo	Rango		[]25%	[]50%	[]100%	CH
Concentración 25%	7.6	8.0	8	.54	7	8	1	0.000*			**	**
Concertación a 50%	7.4	7.0	7	.54	7	8	1				**	**
Concentración a 100%	9.4	10.0	10	.89	8	10	2		**	**		**
CH	17.8	18.0	1.8	1.8	15.00	20.00	5		**	**	**	

*ANOVA $P=0.000 < 0.05$ existen diferencias significativo

** $P < 0.05$ existe diferencias significativas, prueba de Tukey

En el Cuadro n°2 Se presenta la susceptibilidad del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” a diferentes concentraciones sobre flora mixta salival. Se observa que la concentración al 100% obtiene un valor mínimo de 8 y el máximo de 10 precedido por la clorhexidina 0.12% con un valor mínimo de 15 y el máximo de 20. Se realizó la prueba estadística Anova con las 3 concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y el grupo control (control positivo: clorhexidina 0.12%) la cual dio como resultado $P=0.000 < 0.05$ (estadísticamente significativo). La prueba de Tukey dio como resultado $P < 0.05$ (estadísticamente significativo) en el cual se observa que la clorhexidina 0.12%(CH) es mayor significativamente $P < 0.05$, que las [] 25%, [] 50% y [] 100%; asimismo la [] 100% es mayor significativamente $P < 0.05$ que la [] 25% y [] 50%.

FIGURA N°1. Actividad inhibitoria sobre flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

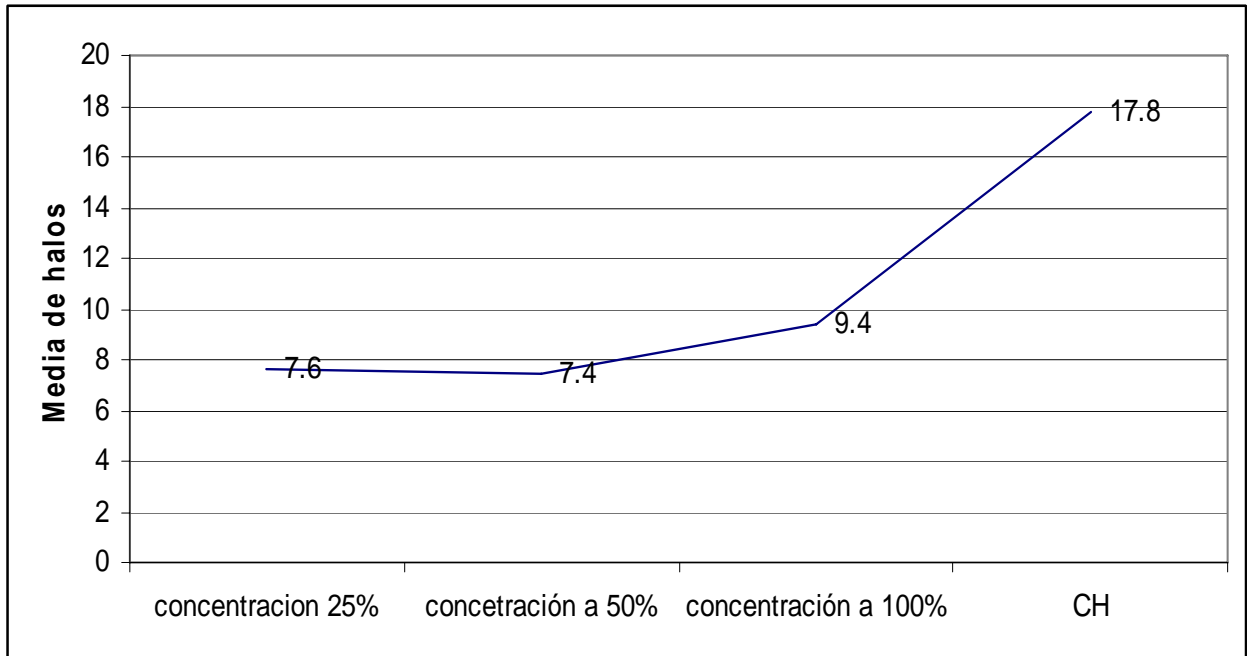


Figura n°1. Ilustra las medias de los halos de inhibición expuestas y agrupadas en las tres distintas concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y el grupo control clorhexidina 0.12% (CH), se observa que las medias de los halos de inhibición formados para las concentraciones del 25% y 50% no muestran diferencias estadísticamente significativas entre ellas; la concentración del 100% muestra diferencias estadísticamente significativas con respecto a las concentraciones del 25% y 50%; el grupo control CH muestra diferencias estadísticamente significativas con respecto a los 3 concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

CUADRO N°3. Actividad inhibitoria sobre cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

SOLUCIONES	Halos de inhibición de crecimiento sobre cepa aislada del grupo <i>mutans</i>																				Total N	Media		
	8mm		9mm		10mm		11mm		12mm		14mm		16mm		17mm		19mm		20mm				21mm	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%			n	%
concentración 25%	0	.0%	1	20%	2	40%	1	20%	1	20%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	10.4
concentración a 50%	2	40%	0	0%	0	.0%	1	20%	2	40%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	10.2
concentración a 100%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	1	20%	2	40%	2	40%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	16.0
CH	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	1	20%	2	40%	2	40%	5	20.2

En los halos de inhibición para la concentración del 25% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 10mm con una media de 10.4, para la concentración del 50% se observa que los mayores porcentajes se igualan para los halos de 8mm y 12mm con una media de 10.2, para la concentración del 100% se observa que los mayores porcentajes se igualan para los halos de 16mm y 17mm con una media de 16.0; mientras que para el grupo control clorhexidina 0.12%(CH) se observa que los mayores porcentajes se igualan para los halos de 20mm y 21mm con una media de 20.2.

CUADRO N°4. Medidas estadísticas de la actividad inhibitoria sobre cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

Cepa aislada del grupo mutans	<i>Estadísticas descriptivas</i>							Anova	Prueba de tukey			
	Media	Mediana	Moda	SD	Mínimo	Máximo	Rango		[] 25%	[] 50%	[] 100%	CH
Concentración 25%	10.40	10	10.00	1.14	9	12.00	3	0.000*			**	**
Concertación a 50%	10.20	11	8.00 ^a	2.05	8	12.00	4				**	**
Concentración a 100%	16.00	16	16.00 ^a	1.22	14	17.00	3		**	**		**
CH	20	20	20.00 ^a	.84	19	25	6		**	**	**	

*ANOVA $P=0.000 < 0.05$ existen diferencias significativo

** $P < 0.05$ existe diferencias significativas, prueba de Tukey

Cuadro n°4. Se presenta la susceptibilidad del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” a diferentes concentraciones sobre cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival. Se observa que la concentración al 100% obtiene un valor mínimo de 14 y el máximo de 17 precedido por la clorhexidina 0.12% con un valor mínimo de 19 y el máximo de 25. Se realizó la prueba estadística Anova con las 3 concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y el grupo control (control positivo: clorhexidina 0.12%) la cual dio como resultado $P=0.000 < 0.05$ (estadísticamente significativo). La prueba de Tukey dio como resultado $P < 0.05$ (estadísticamente significativo) en el cual se observa que la clorhexidina 0.12% (CH) es mayor significativamente $P < 0.05$, que la [] 25%, [] 50% y [] 100% asimismo la [] 100% es mayor significativamente $P < 0.05$ que la [] 25% y [] 50%.

FIGURA N°2. Actividad inhibitoria sobre cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

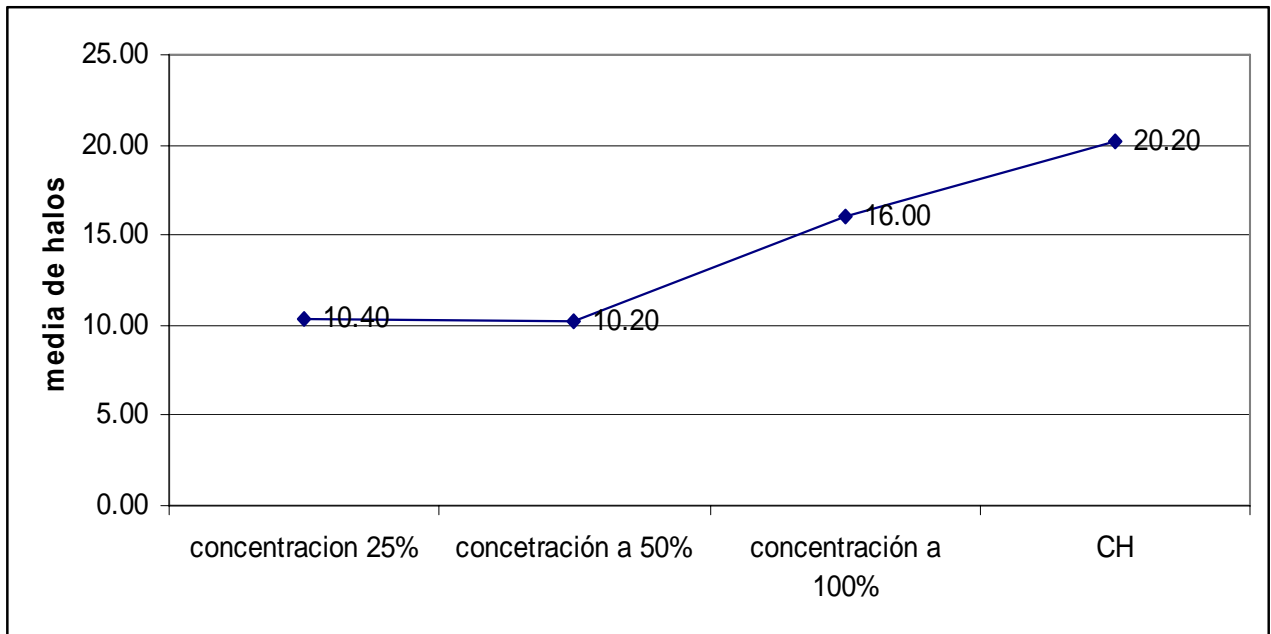


Figura n°2. Ilustra las medias de los halos de inhibición expuestas y agrupadas en las tres distintas concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y el grupo control clorhexidina 0.12% (CH), se observa que las medias de los halos de inhibición formados para las concentraciones del 25% y 50% no muestran diferencias estadísticamente significativas entre ellas; la concentración del 100% muestra diferencias estadísticamente significativas con respecto a las concentraciones del 25% y 50%, el grupo control CH muestra diferencias estadísticamente significativas con respecto a los 3 concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

CUADRO N°5. Actividad inhibitoria sobre cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175tm según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

SOLUCIONES	Halos de inhibición de crecimiento sobre cepa patrón <i>Streptococcus mutans</i> ATCC®25175 tm																Total	media
	7mm		10mm		12mm		15mm		18mm		20mm		21mm		25mm		n	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
concentración 25%	1	20%	2	40.0%	2	40.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	5	10.2
concentración a 50%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	1	20.0%	3	60.0%	1	20%	0	.0%	0	.0%	5	17.8
concentración a 100%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	3	60%	0	.0%	2	40%	5	22
CH	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	0	.0%	1	20%	4	80%	5	24.2

En los halos de inhibición para la concentración del 25% se observa que los mayores porcentajes se igualan para los halos de 10mm y 12mm con una media de 10.2, para la concentración del 50% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 18mm con una media de 17.8, para la concentración del 100% se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 20mm con una media de 22; mientras que para el grupo control clorhexidina 0.12%(CH) se observa que los mayores porcentajes se ubican para los halos de 25mm con una media de 24.2

CUADRO N°6. Medidas estadísticas de la actividad inhibitoria sobre cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175tm según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

Cepa patrón <i>streptococcus mutans</i>	Estadísticas descriptivas							Anova	Prueba de tukey			
	Media	Mediana	Moda	SD	Mínimo	Máximo	Rango		[] 25%	[] 50%	[] 100%	CH
Concentración 25%	10	10	10.00 ^a	2.05	7.00	12.00	5.00	0.000*		**	**	**
Concertación a 50%	18	18	18.00	1.79	15.00	20.00	5.00		**		**	**
Concentración a 100%	22	20	20.00	2.74	20.00	25.00	5.00		**	**		
CH	24.2	25	2	1.78	21	25	4		**	**		

*ANOVA $P=0.000 < 0.05$ existen diferencias significativo

** $P < 0.05$ existe diferencias significativas, prueba de Tukey

Cuadro n°6 Se presenta la susceptibilidad del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” a diferentes concentraciones sobre cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM. Se observa que la concentración al 100% obtiene un valor mínimo de 20 precedido por la clorhexidina 0.12% con un valor mínimo de 21; coincidiendo en el valor máximo de 25. Se realizó la prueba estadística Anova con las 3 concentraciones del aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* “manzanilla” y el grupo control (control positivo: clorhexidina 0.12%) la cual dio como resultado $P=0.000 < 0.05$ (estadísticamente significativo). La prueba de Tukey dio como resultado $P < 0.05$ (estadísticamente significativo) en el cual se observa que la clorhexidina 0.12% (CH) es mayor significativamente $P < 0.05$, que la [] 25%, [] 50% asimismo la [] 100% es mayor significativamente $P < 0.05$ que la [] 25% y [] 50%.

FIGURA N°3. Actividad inhibitoria sobre cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175tm según la concentración del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

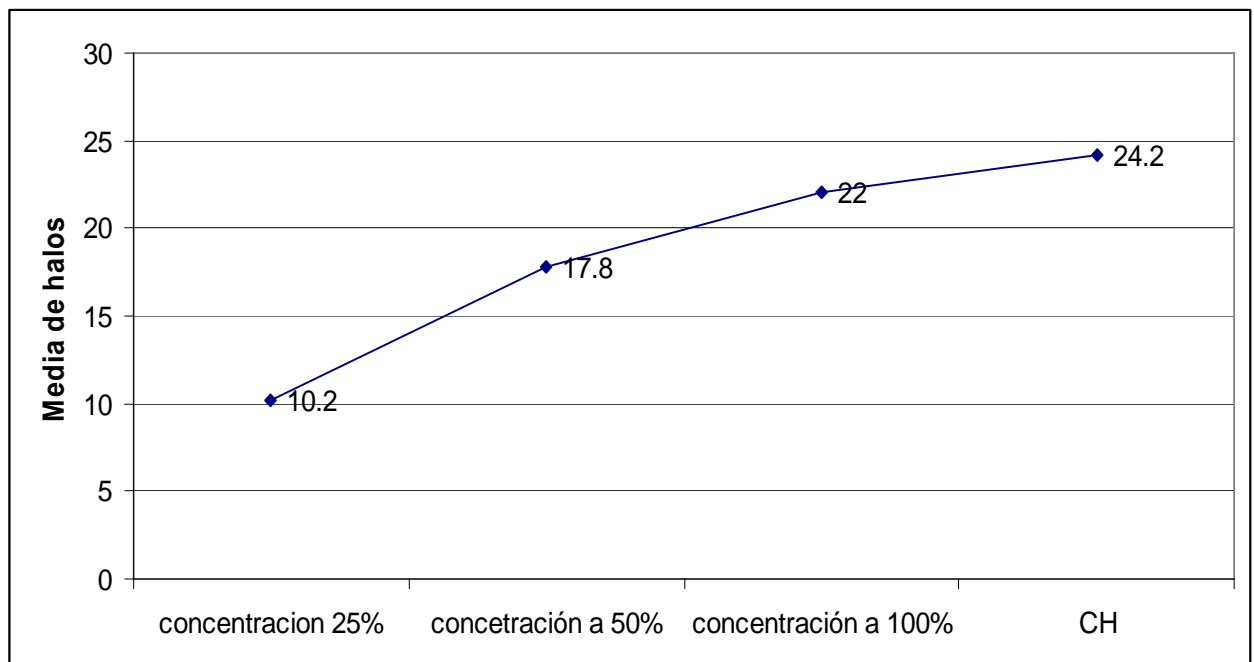


Figura n°3. Ilustra las medias de los halos de inhibición expuestas y agrupadas en las tres distintas concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y el grupo control clorhexidina 0.12% (CH), se observa que las medias de los halos de inhibición formados van en relación directamente proporcional a las concentraciones del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”; es decir que a mayor concentración del aceite en estudio, mayor es la media del halo de inhibición. El grupo control CH no mostró diferencias estadísticamente significativa con respecto a la concentración 100%.

V. DISCUSIÓN

- En la presente investigación se buscó determinar si el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” ejercía efecto inhibitorio sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM, lo cual quedó demostrado, la existencia de un efecto de inhibición del desarrollo bacteriano con el aceite estudiado, según los resultados obtenidos; además se encontró diferencias significativa con respecto al tamaño del halo de inhibición en las distintas concentraciones utilizadas.
- Los resultados demostraron que existen diferencias significativas con respecto al tamaño de los halos de inhibición formados ante la presencia de la clorhexidina 0.12% y de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”(p<0.00)
- En su estudio Romero H Melissa y col ⁽¹⁾ demostraron el efecto inhibitorio y antibacteriano de la *Matricaria recutita* dado por la presencia de derivados terpénicos como: matricina, camazuleno, β-bisabolol y los óxidos α y β del b-bisabolol; nuestro estudio coincide en el efecto inhibitorio del *Streptococcus mutans* a diferentes concentraciones del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”.
- Edeltrudes de Oliveira y Col ⁽⁵⁾ demostraron la inhibición en el crecimiento de una o más cepas de bacterias grampositivas; Las pruebas de las propiedades antibacterianas del aceite esencial se llevo a cabo por la técnica de difusión en

medio sólido TSA, observándose coincidencia con nuestro estudio en el efecto inhibitorio del *Streptococcus mutans* a diferentes concentraciones del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”.

- S. K. Filoche y Col ⁽⁸⁾ demostraron el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales por si solos y en combinación con clorhexidina; El efecto de la combinación del aceite esencial-clorhexidina fue mayor en contra de biofilm *S. mutans* y *Lactobacillus*. en concordancia con nuestro trabajo que se estudio por si solo, observándose el efecto inhibitorio del *Streptococcus mutans* a diferentes concentraciones del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla”.
- En sus estudios Modesto Adriana y Col ⁽³⁾, Vieira y col ⁽¹⁰⁾ demostraron que la infusión de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” no mostró efecto antimicrobiano, independiente de la concentración. A diferencia de los estudios realizados por Teresita Sainz de Net y Col ⁽⁹⁾ y las realizadas por Miròn Càrcamo⁽¹²⁾ los cuales demostraron el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla; en corcondancia con nuestro estudio en el que demostramos inhibición del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre flora mixta salival.
- Para la presente investigación utilizamos como control negativo al agua destilada, la cual no formo halo inhibitorio en ninguno de los ensayos, manteniéndose como constante de 0 mm. Asimismo el alcohol 70% usado para las disoluciones del aceite no formo halo inhibitorio, manteniéndose como constante de 0mm; lo cual nos sirve a manera de control de calidad, garantizando la siembra bacteriana y que la

formación de los halos inhibitorios alrededor de los discos embebidos con el aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” fueron formados por esta sustancia.

- Con el presente estudio se determinó la sensibilidad de bacterias implicadas en el área estomatológica frente al aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, presentando halos de inhibición de mayor diámetro la cepa patrón *Streptococcus mutans ATCC®25175™* mientras que los halos de inhibición de menor diámetro fueron los de flora mixta salival.

VI. CONCLUSIONES

- Existe un efecto inhibitorio positivo a las concentraciones de 25%, 50% y 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en cultivos de flora mixta salival, cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans*.
- Las concentraciones al 25% y 50% del aceite de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” no mostraron diferencias significativas entre ellas, sobre los tres grupos de estudio evaluados.
- Las concentraciones al 100% del aceite de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto a las concentraciones de 25% y 50% sobre los tres grupos de estudio evaluados.
- El grupo control de clorhexidina 0.12% mostró diferencia estadísticamente significativa con respecto a las concentraciones al 25% y 50%, sobre los 3 grupos de estudio evaluados; mientras que con la concentración al 100% solo mostró diferencia estadísticamente significativa en los grupos de flora mixta salival y cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival.

- La concentración al 100% no mostró diferencia estadísticamente significativo con respecto al grupo control de clorhexidina 0.12%.sobre el grupo cepa patrón *Streptococcus mutans ATCC@25175TM* .
- La cepa patrón de *Streptococcus mutans ATCC@2517^{5TM}* fue mas sensible al aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, con una media de 22mm de diámetro en sus halos de inhibición para la concentración al 100%.
- El grupo menos sensible a las concentraciones *Matricaria chamomilla* “manzanilla” fue la flora mixta salival con una media de 9mm de diámetro en sus halos de inhibición para la concentración al 100%.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios posteriores para identificar el principio activo que ejerce efecto antimicrobiano en el aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”.
- Se recomienda continuar con las investigaciones con mayor cantidad de ensayos, así como con otras bacterias patógenas orales.
- Se recomienda hacer estudios sobre la posibilidad de una acción sinérgica entre el o los compuestos del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y los distintos fármacos antimicrobianos.
- Se recomienda realizar trabajos comparativos entre las distintas especies *Matricaria*.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) en relación a bacterias patógenas orales.

VIII. RESUMEN

Se reconoce al *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de ésta bacteria en la cavidad oral. Actualmente se sabe que las plantas medicinales tienen múltiples beneficios médicos bien conocidos, pero su posible uso como bacteriostático de la principal bacteria implicada en la formación de placa dentobacteriana, no reúne mayores referencias. **Objetivos:** El propósito de este trabajo fue determinar el efecto inhibitorio de la *Matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans ATCC®25175™*. **Material y Método:** Se usaron concentraciones diferentes del aceite esencial *Matricaria chamomilla* “manzanilla” y un grupo control clorhexidina 0.12%(CH) y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos filtros embebidos con cada una de las concentraciones sobre flora mixta salival, cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans ATCC®25175™*. **Resultados:** las concentraciones de 25%, 50% y 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” mostraron efecto inhibitorio positivo en cultivos de flora mixta salival, cepa aislada del grupo *mutans* de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans*, el grupo control clorhexidina 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio sobre las tres concentraciones en los grupos de estudios evaluados con excepción de la concentración del 100% el cual no mostró diferencia estadísticamente significativa con el grupo control clorhexidina 0.12% sobre cepa patrón de *Streptococcus mutans ATCC®25175™*.

PALABRAS CLAVES: *Streptococcus mutans*, Aceite esencial, terpenos, efecto inhibitorio.

ABSTRACT

Streptococcus mutans is recognized as the most important organism in the initiation of caries, which leads to design preventive measures directed towards the elimination or reduction of this bacterium in the oral cavity. We now know that medicinal plants have multiple health benefits well known, but their use as the main bacteriostatic bacterium involved in plaque formation and gets no further referente. **Objectives:** The purpose of this study was to determine the inhibitory effect of *Matricaria chamomilla* "chamomile" mixed flora on salivary mutans strain isolated from the group of mixed bacteria strain pattern salivary mutans ATCC ® streptococcus 25175TM. **Methods:** We used different concentrations of *Matricaria chamomilla* essential oil "chamomile" and a control group 0.12% chlorhexidine (CH) and measured the inhibition halos formed around filter disks soaked with each of concentrations of mixed salivary flora strain isolated from the mixed flora group of salivary mutans and mutans strain pattern ATCC ® streptococcus 25175TM. **Results:** The concentrations of 25%, 50% and 100% of essential oil of *Matricaria chamomilla* "chamomile" showed inhibitory effect positive mixed flora in cultured salivary mutans strain isolated from the group of mixed flora and salivary mutans strain streptococcus pattern, the clorhexidina0.12% control group showed greater inhibitory effect on the three levels in the study groups evaluated except the 100% concentration which showed no statistically significant difference with the control group on clorhexidina0.12% *streptococcus pattern mutans* strain ATCC ® 25175TM.

KEY WORDS: *Streptococcus mutans*, essential oil, terpenes, inhibitory effect

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Romero M. Estudio del efecto antiséptico y antiinfeccioso de la *Matricaria recutita* “manzanilla”, Revista latinoamericana de ortodoncia y Odontopediatria Venezuela 2008 6(24) jun. disponible en:
www.ortodoncia.ws/publicaciones/2009/art1.asp
2. Carpio A. Estudio preliminar de actividad antimicrobiana de extractos de plantas contra bacterias de la cavidad oral. PE1.1;TL-UPCH, QV770DP6,C28.2008.Lima
3. Sadr M.The effect of *German chamomile (Matricaria recutita)* extract and tea tree (*Melaleuca alternifolia L*) oil used as irrigants on removal of smear layer: a scanning electron microscopy study. International Endodontic Journal,2006 39,190.Disponible en:
<http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/iej/2006/00000039/00000003/art000>
4. Modesto A. Estudio sobre la actividad antimicrobiana de soluciones utilizadas en la higiene bucal del bebe. JBP,bras. Odontopediatria.odontol.bebe:2003. 6(29); 18-23, ener-febrer.Brasil.
5. Lima O. Estudio in vitro de actividad antibacteriana de los aceites esenciales obtenidos de plantas medicinales en cepas de bacterias Gram negativas. Rev. Bras.Cien.Saude; 2003. 7(3):251-258,set-dic. Brasil
6. Borba A. Odontología alternativa con plantas medicinales en Chapada dos Guimaraes- Mato Grosso. Rev. Sul-bras. Odontol; 2008. 5(1) abril. Brasil
7. Liza V. Estudio del potencial antimicrobiano *in vitro* de 7 dentífricos conteniendo fitoteràpicos sobre bacterias orales recuperadas de la saliva y cepas patrón de S.

- mutans*, *S. sanguis* y *L. casei*. Av Odontoestomatol; 2005. 21(4); 195-205. jul – ago Madrid. disponible en:
- http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=s021312852005000400004&script=sci_arttext
8. Filoche, Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. Oral Microbiology and Immunology, 2004. 20(4) ,221. Disponible en: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1399-302X.2005.00216.x>
 9. Sainz de Net T. Estudio de flora bacteriana en pacientes tratados ortodóncicamente, aplicando enjuagues bucales de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”2004. 22(10) ,250. disponible en: <http://www.odontologia-online.com/casos/part/JRC/JRC01/jrc01.htm>
 10. Vieira.1999. Atividade antimicrobiana de antissépticos orais e dentifrícios para bebês: um estudo sobre células sésseis e planctônicas [tese]. Rio de Janeiro (RJ): Univ. Fed. do Rio de Janeiro 1999.4 (12) ,215.Brasil.
 11. Zapata. Estudio sobre el efecto de la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) en el proceso de cicatrización de tejidos blandos, post extracción, Tesis, para optar al Título de Cirujano Dentista, Facultad de Odontología, Universidad San Carlos de Guatemala, 1998.
 12. Miròn C: Estudió sobre el efecto inhibitorio de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de microorganismos cariogenicos; Tesis, Para optar al titulo de Cirujano Dentista, Facultad de Odontología, Universidad San Carlos de Guatemala, 1997.
 13. Pio Petrocchi, las plantas aromáticas, *Matricaria chamomilla* o *Matricaria recutita*, Revista de la natura y ambiente, 2009.5(12),212-215.Disponible en: http://www.elicriso.it/es/plantas_aromaticas/manzanilla_comun/#classificazione

14. Curzi V: La Manzanilla *chamomilla*, Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM, 1995. 1(200).14-21.
15. Jaroslav. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catalogo de los géneros, editorial salesiana –lima –Perú, 1991:265-268.
16. Brack. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú centro de estudios regionales andinos “Bartolomé de las casas” Cuzco, 2001:300-301.
17. Servicio de medicinas pro-vida. Guía de plantas de uso medicinal. 1ra ed. Ed.- Servicio de Medicinas Pro-Vida. Lima - Perú; 1997:3-81.
18. Lovati S, Castellani F. Alimentos y Plantas Medicinales. 1ra ed. Ed. NORMA S.A. Colombia; 1994:7-146.
19. Bandoni, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento Industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Bs. As.2000: 110-220.
20. Lahlou M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. J. Phytother Res; 2004.18:435-448.
21. Dominguez, X. Métodos de Investigación Fotoquímica. 3era edición. Edit. Limusa, S.A. México. 1985:229-238.
22. Negroni M. Microbiología estomatológica. Ed. Médica Panamericana: Buenos Aires 1999: 200-207
23. Moromi H. Manual de prácticas de microbiología general y estomatológica. Lima, Perú 2002: 92-101
24. LIÉBANA J. Microbiología Oral. España: 1º edición. Editorial Interamericana Mc. Graw Hill: 1995: 227- 32, 447-62.

ANEXO

ANEXO 1

COMPOSICION QUÌMICA Y COMPUESTOS FOTOQUIMICOS DEL ACEITE ESENCIAL MATRICARIA CHAMOMILLA “MANZANILLA”

Composición química del aceite esencial	
Componentes	%
Mirceno	0,26
1,8-Cineol	0,57
Linalol	0,08
Terpineol	0,31
Borneol	0,20
Pulegona	1,01
Ch-Azuleno	1,05
Cariofileno	1,06
Farneseno	15,42
C10H16	3,32
Oxido de Bisabolol	46,11
Farnesol	1,93

Fuente: prensaromatica@arnet.com.ar

COMPUESTOS FITOQUÍMICOS		
Alpha-bisabolol	Acido caprico	Kaempferol
Colina	Acido caprilico	Acido linoléico
EO	Caryophyllenopoxido	Luteolin
Acido-Galacturonico	Taninos catechin	Glucosidos luteolin
Glucosa	Chamazulene	Matricarin
2,4- ácido dihidroxybenzoico	Esteres chamomilla	Matricin
2,5- ácido dihidroxybenzoico	Chamomillol	Niacina
3,4- ácido dihidroxcinamico	Acido-chlorogenico	O-ácido cuomerico
3-carene	Crisoeriol	P-ácido cuomerico
3-hidroxy-2-metilidene-ácido butírico agelato	Crisoeriol	Acido palmítico
4-hidroxy-3-ácido metoxy benzoico	Crisoeriol-7-glucosido	Patuletin
4-ácido metoxy benzoico	Crisosplenol	Acido pectico
6-3- dimetoxyquercetin	Crisosplentin	Perillyl alcohol
6,7 dimetoxyquercetin	Cis-cariophyllene	Polyacetileno
6-hidroxy-luteolin-7-glucosido	Cis-en-yn-dicycloeter	Quercetagetin 3,5,6,7,3',4'
6-methoxykaempferol	Etil benzoato	Quercetin
Alpha-óxido bisabolol-a	Etil decanoato	Quercetin-3-galactosido
Alpha-óxido bisabolol-b	Etil palmitito	Quercetin-7-glucosido
Alpha-óxido bisabolol-c	Etil-fenil-acetato	Quercetrina
Apha-neoxido bisabolol-a	Eupaletin	Quecimeritrin
Alpha-murolene	Farnesene	Rhamnosa
Ap igenin glucosidos	Farnesol	Rutin
Acido ascórbico	Furfural	Acido salicilico
Axillarin	Galactosa	Acido sinapico
Azulene	Acido galico	Spathulenol
Betacario-phyllene	Acido gentistico	Spinacetin
Beta-damascenona	Geraniol	Tanin
Bisabolene	Herniarin	Tiamina
Borneol	Hiperosido	Triaconta
Bornyl-acetato	Acido isoferulico	Umbeliferona
Acido-caféico	Isorhamnetin	Xantoxylina
Calamene	Jaceidin	Xylosa
Fuente: rain-tree.com		

ANEXO 2
DISTRIBUCIÓN PROPORCIONAL APROXIMADA DE BACTERIAS EN
VARIAS SUPERFICIES BUCALES Y EN LA SALIVA.

Bacteria	Surco Gingival	Placa de la corona	Dorso Lingual	Mucosa Bucal	Saliva
<i>Streptococcus salivarius</i>	< 0.5	< 0.5	20	11	20
<i>Streptococcus mitis</i>	8	15	8	60	20
<i>Streptococcus sanguis</i>	8	15	4	11	8
<i>Streptococcus mutans</i>	0-50	< 1	< 1	< 1	< 1
<i>Enterococos</i>	0-10	< 0.1	< 0.01	< 0.1	< 0.1
<i>Filamentos grampositivos</i>	335	42	20	---	---
<i>lactobacillus</i>	<1	< 0.005	< 0.1	< 0.1	< 1
<i>veillonella</i>	10	2	12	1	10
<i>Neisseria</i>	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
<i>Bacteroides oralis</i>	5	5	4	---	---
<i>Bacteroides melaminogenicus</i>	6	< 1	< 1	< 1	< 1
<i>Vibrio sputorum</i>	5	1	< 0.5	< 0.5	---
<i>espiroquetas</i>	2	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
<i>Fusobacterium cepas</i>	3	4	1	---	< 1

ANEXO 3

TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDIDA DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN SOBRE FLORA MIXTA SALIVAL

Concentración del aceite esencial <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”			
Flora mixta salival	[] 25%	[] 50%	[] 100%
Muestra # 01			
Muestra # 01			
Muestra # 02			
Muestra # 02			
Muestra # 03			
Muestra # 03			
Muestra # 04			
Muestra # 04			
Muestra # 05			
Muestra # 05			

ANEXO 4
TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDIDA DE LOS HALOS
DE INHIBICIÓN SOBRE CEPA PATRON *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC®2517^{5TM}

	Concentración del aceite esencial <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”		
Cepas patrón <i>Streptococcus mutans</i>	[] 25%	[] 50%	[] 100%
Muestra # 01			
Muestra # 01			
Muestra # 02			
Muestra # 02			
Muestra # 03			
Muestra # 03			
Muestra # 04			
Muestra # 04			
Muestra # 05			
Muestra # 05			

ANEXO 5
TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA MEDIDA DE LOS HALOS
DE INHIBICIÓN SOBRE CEPA AISLADA *STREPTOCOCCUS* DEL GRUPO *MUTANS*

	Concentración del aceite esencial <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”		
Cepa aislada de saliva del grupo <i>mutans</i>	[] 25%	[] 50%	[] 100%
Muestra # 01			
Muestra # 01			
Muestra # 02			
Muestra # 02			
Muestra # 03			
Muestra # 03			
Muestra # 04			
Muestra # 04			
Muestra # 05			
Muestra # 05			

ANEXO 6

***Matricaria chamomilla* “manzanilla”**



Obtención del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”:



Aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”:



Materiales y equipos microbiológicos



Estandarización de la cepa aislada de *Streptococcus* del grupo *mutans* y Cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175™

Escala de Mc Farland 0.5

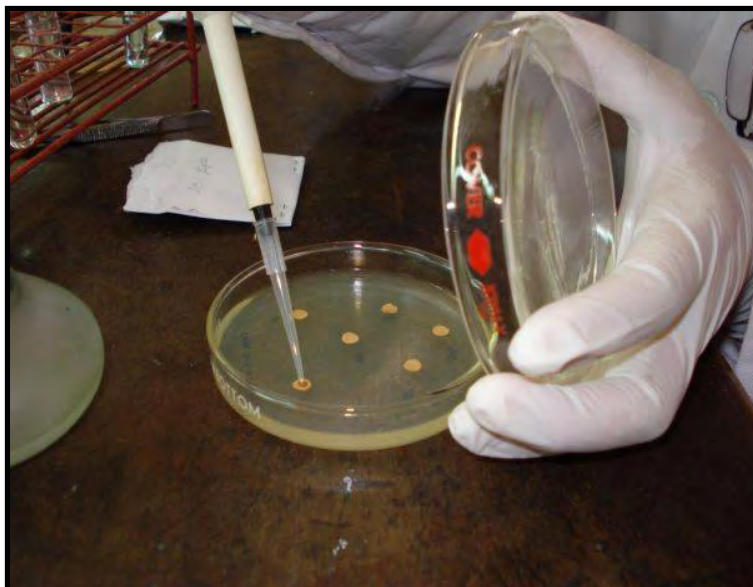


Prueba de la Acción antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”

- **SEMBRADO**



- **ENFRENTAMIENTO**



- **MEDIO ANAEROBIOSIS**

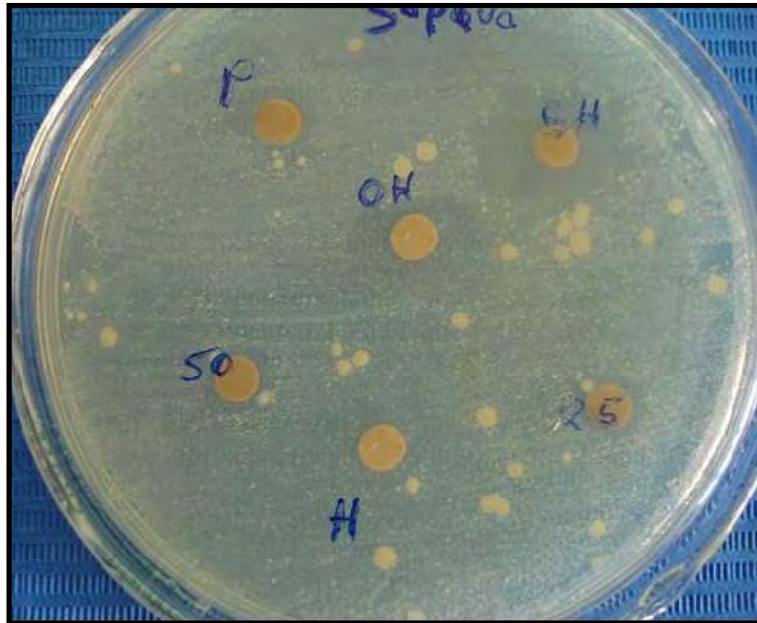


- **INCUBACION**

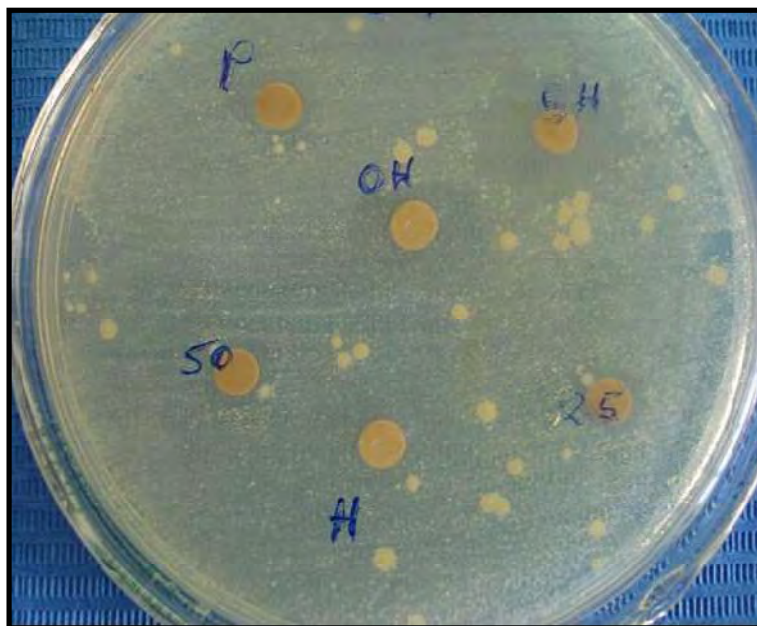


- Lectura de las medidas de los halos de inhibición en:

MUESTRA SALIVAL

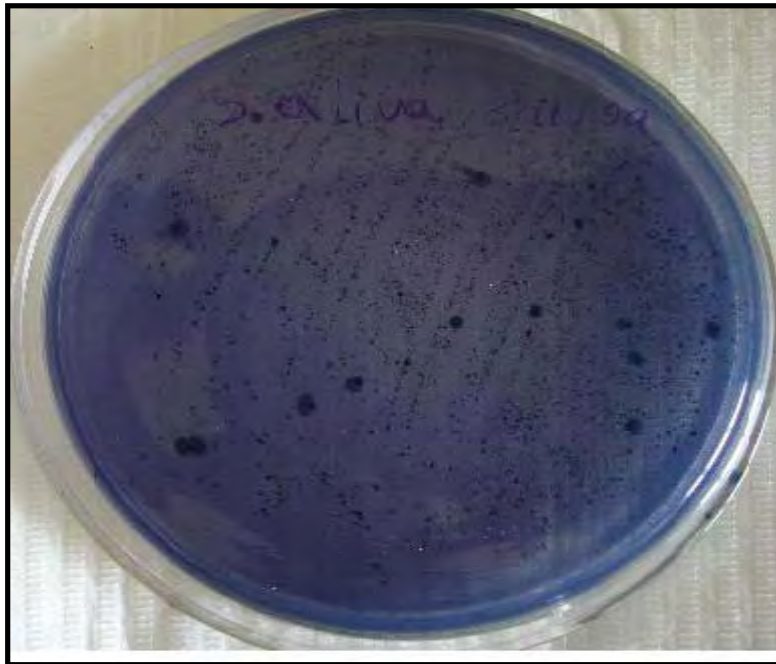


MUESTRA SALIVAL

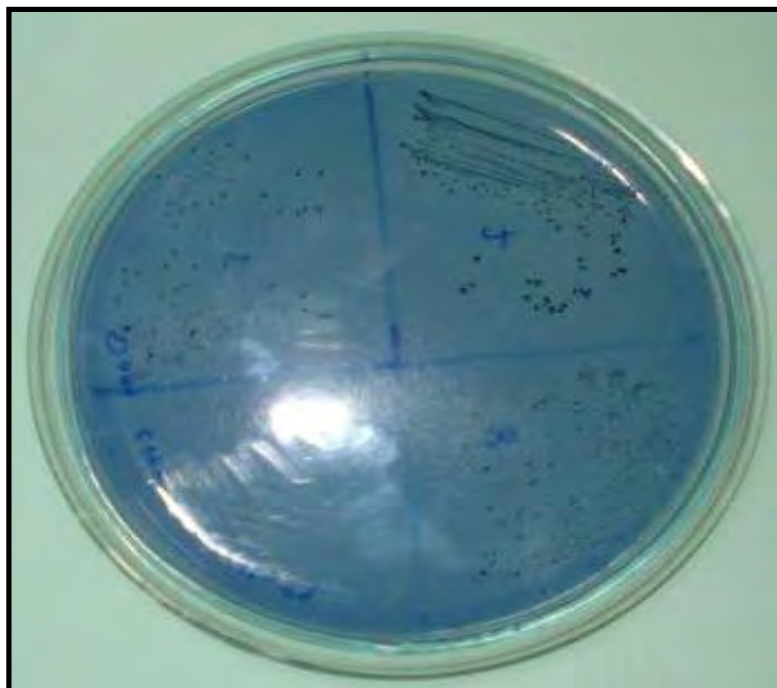


Cepa aislada de *Streptococcus* del grupo *mutans*

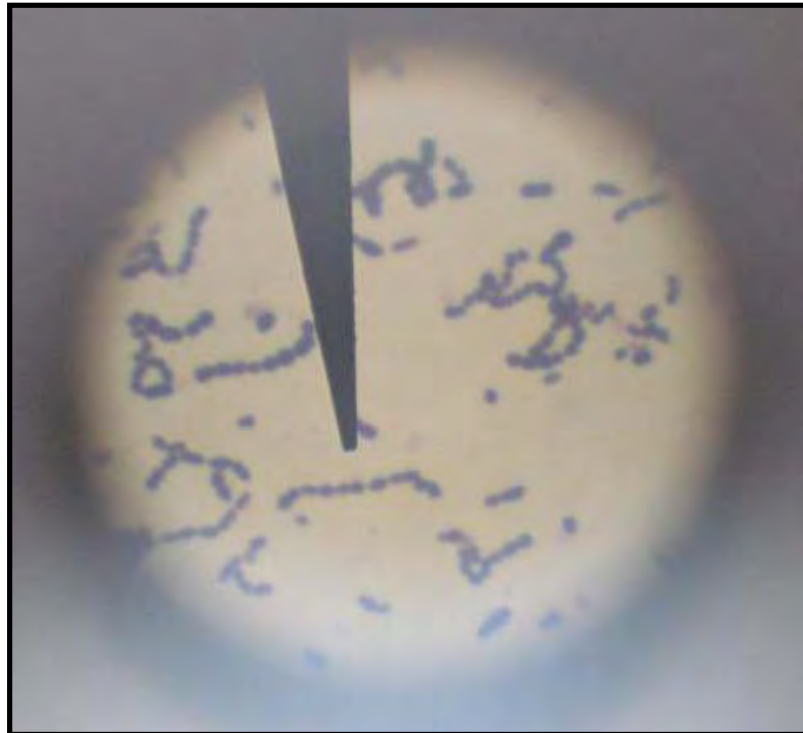
AGAR *MITIS SALIVARIUS* MAS BACITRACINA



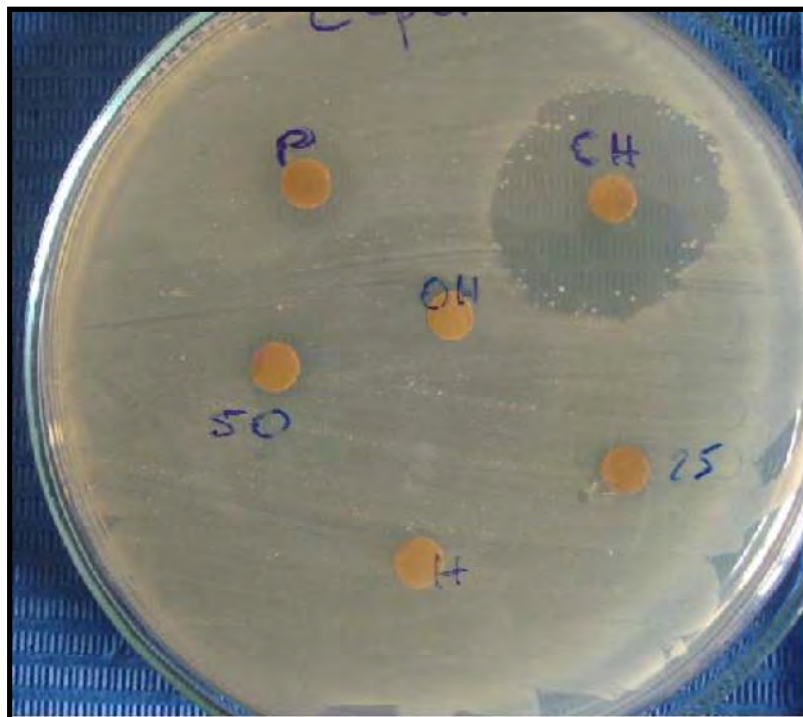
**CEPAS AISLADAS EN AGAR *MITIS SALIVARIUS*
MAS BACITRACINA**



- **OBSERVACION AL MICROSCOPIO OPTICO**



- **Lectura de las medidas de los halos de inhibición en:**
Cepa aislada de *Streptococcus* del grupo *mutans*



- Lectura de las medidas de los halos de inhibición

Cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175™

